TM
2008/02/28

รายงานการวิจัย

เรื่อง

อนุพันธ์ของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

DERIVATIVE OF ARSENIC COMPOUNDS IN FERMENTED SEAFOOD PRODUCTS

จัดทำโดย

หัวหน้าโครงการ รองศาตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผู้ร่วมโครงการ ดร. ปารมี เพ็งปรีชา
ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยทุนอุดหนุนการวิจัยจาก เงินงบประมาณแผ่นดิน
ประจำปีงบประมาณ 2549

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัย อนุพันธ์ของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สภาวิจัยที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านทุนอุดหนุนการวิจัย จากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2549 ทีมงานจากศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยาที่ให้คำปรึกษาและแนะนำเกี่ยวกับเครื่อง HG-AAS รวมถึง Dr. Jorg Feldmann แห่ง Analytical and Environmental Chemistry Department, Aberdeen University, UK ที่ให้ความอนุเคราะห์เรื่องการวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC-ICP-MS

เลขหมู่
เลขทะเบียน 014134
วัน, เดือน, ปี 14 พ.ค. 52

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ วิจัย : อนุพันธ์ของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล (DERIVATIVE OF ARSENIC COMPOUNDS IN FERMENTED SEAFOOD PRODUCTS) : ชื่อหัวหน้าโครงการ : รองศาตราจารย์ ดร. สมใจ เพ็งปรีชา, ชื่อผู้ร่วมโครงการ : ดร. ปารมี เพ็งปรีชา, เดือนและปีที่ทำวิจัยเสร็จ : กุมภาพันธ์ 2549 ; 75 หน้า.

บทคัดย่อ

การศึกษาอนุพันธ์ของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้เทคนิค HG-AAS พบว่าสามารถตรวจวัดสารหนูได้ในช่วง 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีค่า LOD เท่ากับ 1.79 ไมโครกรัมต่อลิตร การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้ด้วย CRM DORM-2 (Dogfish muscle) พบสารหนูรวม 17.9±0.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีความถูกต้อง 99.4 % และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ เท่ากับ 5.23 % เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลชนิดต่าง ๆ พบปริมาณสารหนูรวมอยู่ในช่วง 0.3-7.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยในน้ำปลาเท่ากับ 1.1-2.2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ไตปลาเท่ากับ 3.0-7.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) น้ำบูดูเท่ากับ 0.9-4.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และกะปิกุ้งเท่ากับ 2.7-6.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ระดับของสารหนูอนินทรีย์ในอาหารทะเลจากแหล่งอุตสาหกรรมมีปริมาณค่อนข้างสูง โดยตรวจพบในช่วง 0.4-0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และพบปริมาณสารหนูอินทรีย์อยู่ในช่วง 0.7-7.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) หรือ 79.7-97.2 % ของสารหนูรวม ในการหาสารประกอบของสารหนูด้วย HPLC-ICP-MS ในตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเล พบว่าประกอบด้วย arsenobetaine, trimethy arsenicacid, dimethylarsinic acid, monomethylarsinic acid และ aresosugar โดยสารประกอบส่วนใหญ่เป็น arsenobetaine

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PROJECT TITLE : DERIVATIVE OF ARSENIC COMPOUNDS IN FERMENTED SEAFOOD PRODUCTS, NAME OF THE INVESTIGATOR : ASSOC. PROF. DR. SOMCHAI PENGPRECHA, NAME OF THE ASSOCIATION INVESTIGATOR : DR. PARAMEE PENGPRECHA, YEAR : FEBRUARY, 2007 : 75 pp.

Abstract

The Derivative of Arsenic compounds in fermented seafood products were studied by HG-AAS technique. The arsenic could be detected in the range of 0-50 μg/L with LOD of 1.79 μg/L. The accuracy of the method was carried out by the analysis of the certified reference material DORM-2 (Dogfish muscle) and was found to be : 17.9±0.9 mg/kg, accuracy 99.4 % and RSD 5.23 %. The fermented seafood products from various sources were analyzed, the concentration of total arsenic was found from 0.3-7.8 mg/kg dry wt. The fish source contaminated with arsenic 1.1-2.2 mg/kg dry wt, Taipla 3.0-7.8 mg/kg dry wt, Budu 0.9-4.3 mg/kg dry wt and Shrimp paste 2.7-6.5 mg/kg dry wt, respectively. Level of inorganic arsenic in fermented seafood products from industrial regions was slightly high of 0.4-0.7 mg/kg dry wt. The organic arsenic was found in the range of 0.7-7.5 mg/kg dry wt or 79.7-97.2 % of total arsenic concentration. The arsenic compounds by HPLC-ICP-MS in fermented seafood product were found to be arsenobetaine, trimethy arsenicacid, dimethylarsinic acid, monomethylarsinic acid and aresosugar which arsenobetaine was the main constituent of arsenic compounds in fermented seafood products.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญเรื่อง

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ข
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญเรื่อง	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูปภาพ	ฌ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 สมมติฐานของการวิจัย	3
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 แนวคิดและทฤษฎี	5
2.1.1 สารหนู (Arsenic)	5
2.1.1.1 ประวัติความเป็นมา	5
2.1.1.2 คุณสมบัติของสารหนูทางกายภาพและทางเคมี (Physical and chemical properties)	5
2.1.1.3 ประเภทของสารหนู	6
2.1.1.4 การนำสารหนูมาใช้ประโยชน์	7
2.1.1.5 ความเป็นพิษของสารหนู	8
2.1.2 แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม	10
2.1.2.1 กระบวนการทางธรรมชาติ	10
2.1.2.2 กิจกรรมของมนุษย์	11
2.1.2.3 สารประกอบของสารหนูในสิ่งแวดล้อม	13
2.1.2.4 สารหนูในสิ่งแวดล้อมทางทะเล	13
2.1.2.5 เมตาบอลิซึมของสารหนูโดยสิ่งมีชีวิต (Metabolism by living organisms)	16

หน้า

2.1.2.6 ข้อกำหนดของปริมาณสารหนูในอาหารทะเล..... 19
2.1.2.7 การศึกษาการเปลี่ยนรูปของสารหนูในอาหารทะเล..... 20
2.1.2.8 แนวโน้มของอาหารหมักกับเศรษฐกิจไทย..... 21
2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 24
บทที่ 3 ขั้นตอนและวิธีดำเนินการศึกษา..... 25
3.1ขั้นตอนการศึกษา..... 25
3.2 สารเคมี..... 25
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย..... 26
3.3.1 อุปกรณ์..... 26
3.3.2 เครื่องมือวิจัย..... 26
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย..... 27
3.4.1 การเตรียมการทดลอง..... 27
3.4.1.1 การเตรียมสารละลาย..... 27
3.4.2 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารหนูโดยใช้ HG-AAS..... 29
3.4.2.1 การศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณสารหนูที่เหมาะสม (Calibration range)..... 29
3.4.2.2 การหา Limit of Detection (LOD)..... 29
3.4.2.3 การหาค่าความแม่นยำ (Precision) ในรูปของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD)..... 29
3.4.3 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์..... 30
3.4.4 การศึกษาปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 30
3.4.4.1 การกำหนดสถานที่เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 30
3.4.4.2 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 30
3.4.4.3 การวิเคราะห์หาสารหนูรวมในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 31
3.4.4.4 การวิเคราะห์หาสารหนูอนินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 31
3.4.4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารหนูในกระบวนการผลิตอาหารหมัก..... 32
3.4.4.6 การคำนวณหาปริมาณสารหนู..... 33

หน้า

3.4.5 การหาสารประกอบของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล..... 33
3.4.5.1 การสกัดตัวอย่าง..... 33
3.4.5.2 ทำการวิเคราะห์ ด้วยเครื่อง HPLC-ICP-MS..... 33
บทที่ 4 ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล..... 35
4.1 ผลการศึกษาลักษณะทั่วไปของอาหารหมัก pH และปริมาณน้ำในอาหารหมัก..... 36
4.2 ผลศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยใช้ HG-AAS..... 37
4.2.1 ช่วงการตรวจวัดปริมาณสารหนูที่เหมาะสมโดยใช้ HG-AAS..... 37
4.2.2 Limit of Detection (LOD)..... 38
4.2.3 ความแม่นยำ และความถูกต้องของสารหนูรวม..... 39
4.2.4 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีการสกัดเพื่อแยกสารหนูอินทรีย์กับ
สารหนูอนินทรีย์..... 40
4.2.5 ผลการวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ ของการสกัดสารหนู..... 41
4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวมในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจาก
สัตว์ทะเล โดยใช้ HG-AAS..... 43
4.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์
อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้เทคนิคการสกัด และตรวจประมาณสารหนูด้วย
HG-AAS..... 47
4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประมาณสารหนูโดยกระบวนการหมัก
ระยะต่าง ๆ ในน้ำปลา และไตปลา..... 51
4.5.1 กระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในน้ำปลา..... 51
4.5.2 กระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในไตปลา..... 53
4.6 ผลการศึกษาสารประกอบของสารหนูในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้เทคนิค
การแยกด้วย HPLC-ICP-MS..... 55
บทที่ 5 สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ..... 59
5.1 สรุปผลการศึกษา..... 59
5.2 ข้อเสนอแนะ..... 62
เอกสารอ้างอิง..... 63
ภาคผนวก..... 67
ภาคผนวก ก ตัวอย่างโครมาโทรแกรม..... 68
ประวัตินักวิจัยและคณะ..... 70

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 การนำสารหนูมาใช้ประโยชน์ 7

ตารางที่ 2.2 Lethal Dose 50 of some arsenic compounds (LD50: dose which is fatal to one- half a population of experimental animals) 9

ตารางที่ 2.3 ปริมาณความเข้มข้นของสารหนูในน้ำทิ้งจากกิจกรรมประเภทต่าง ๆ 12

ตารางที่ 2.4 ปริมาณสารหนูที่ออกสู่บรรยากาศจากกิจกรรมประเภทต่าง ๆ 12

ตารางที่ 2.5 ความเข้มข้นของสารประกอบสารหนูที่พบในสิ่งมีชีวิตในทะเล 14

ตารางที่ 2.6 ปริมาณและมูลค่าการบริโภคและการส่งออกของน้ำปลาภายในประเทศและต่างประเทศ 22

ตารางที่ 3.1 สภาวะการใช้เครื่อง HG-AAS 32

ตารางที่ 3.2 สภาวะของเครื่อง ICP-MS 34

ตารางที่ 3.1 คอลัมน์ Anion และ cation exchange และตัวทำละลายเคลื่อนที่ 34

ตารางที่ 4.1 การวิเคราะห์ลักษณะของอาหารหมัก การหา% น้ำ และ pH ของอาหารหมัก 36

ตารางที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารหนูกับค่าการดูดกลืนแสง (Peak area) 36

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ค่า Limit of Detection (LOD) 39

ตารางที่ 4.4 ค่าความแม่นยำและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารหนู 39

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบวิธีที่ใช้ในการตรวจวัดสารหนูอินทรีย์เทียบกับวิธีที่ได้มีการรายงานไว้ โดยใช้ DORM-2 (Dogfish muscle) 40

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์สารหนูอนินทรีย์ 41

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล (น้ำหนักเปียก) 43

ตารางที่ 4.8 ปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล (น้ำหนักแห้ง) 44

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงของสารหนูในกระบวนการผลิตน้ำปลา ก่อนกรองและหลังกรอง 52

ตารางที่ 4.10 ผลการแยกสารประกอบของสารหนู โดยใช้ Column ต่างชนิด 55

ตารางที่ 4.11 คำย่อที่ใช้ใน ตารางที่ 4.10 56

ตารางที่ 4.12 ชนิดของสารประกอบของสารหนูที่วิเคราะห์พบ 57

ตารางที่ 4.13 ปริมาณของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างน้ำปลาระยะต่าง ๆ 58

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 วัฏจักรของสารหนู 10

รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมทางทะเล 16

รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนสารหนูเป็นสารประกอบ Methylarsenic โดยจุลินทรีย์ 17

รูปที่ 2.4 A possible pathway for the biogenesis of arsenobetaine from trimethylated arsenosugars (arsoniosugars) 18

รูปที่ 2.5 ตลาดส่งออกหลักของน้ำปลาไทย 23

รูปที่ 4.1 สมการเส้นตรง ของความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารหนูกับค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสง (Peak area) จากตารางที่ 4.3 38

รูปที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวมในตัวอย่างน้ำปลา กะปี น้ำบูดู และไตปลา (n = 3) 45

รูปที่ 4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์และสารหนูอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำปลา กะปี น้ำบูดู และ ไตปลา 48

รูปที่ 4.4 ผลการเปลี่ยนแปลงของสารหนูรวม ในกระบวนการผลิตน้ำปลาจากตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่ออกจากตัวปลา 51

รูปที่ 4.5 ผลการหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในกระบวนการหมักน้ำปลาส่วนใส 53

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของสารหนูอนินทรีย์ ในกระบวนการผลิตไตปลา 54

รูปที่ ก-1 โครมาโทรแกรม HPLC-ICP-MS ของไตปลา เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Arsenobetaine และ Spike Arsenobetaine 69

รูปที่ ก-2 โครมาโทรแกรม HPLC-ICP-MS ของน้ำบูดู เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Arsenobetaine 69

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

HG-AAS	= Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry
HPLC	= High Performan Liquid Chromatography
ICP-MS	= Inductive Coupled Plasma-Mass Spectrometry
As(3+)	= Arsenite
As(5+)	= Arsenate
MMA	= Monomethylarsonic acid
DMA	= Dimethylarsinic acid
TMAO	= Trimethylarsine oxide
TMA^+	= Tetramethylarsonium ion
As-sug	= Arsenosugar
AsC	= Arsenocholine
AsB	= Arsenobetaine

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

อาหารทะเลเป็นที่นิยมของคนทั่วไป และเป็นแหล่งอาหารหลักในบางประเทศ อาหารทะเลมีหลากหลาย ประกอบด้วย ปลา กุ้ง หอย ปู ปลาหมึก และสาหร่าย เป็นต้น ทะเลยังเป็นแหล่งรองรับสิ่งต่างๆที่มาจากพื้นดิน แหล่งน้ำต่าง ๆ ที่ไหลผ่านมาจากหลายพื้นที่ ซึ่งมีความเป็นไปได้อย่างสูงที่แร่ธาตุ และสารประกอบต่างๆที่ปนเปื้อนจะถูกชะลงสู่ทะเล สารหนูเป็นสารหนึ่งที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม ได้มีงานวิจัยหาสารหนูใน สัตว์และพืชทะเล พบว่ามีปริมาณสารหนูสูงเกินกว่ามาตรฐานที่ยอมรับได้ (มากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) เช่น ในปลาทะเลบางชนิดพบสูงถึง 63 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ปลาหมึก 34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) กุ้ง 102 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และสาหร่ายโนริ 15 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Montoro et al., 2001)

มนุษย์รู้จักสารหนูในแง่ที่ เป็นสารพิษที่ใช้ในการกำจัดแมลงและวัชพืช ซึ่งภายหลังได้ถูกระงับใช้ในหลายประเทศ Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) แห่งสหรัฐอเมริกา ได้จัดลำดับสารหนูให้เป็นสารที่เป็นอันตรายลำดับที่หนึ่ง ตั้งแต่ ค.ศ. 1997 จนถึงปัจจุบัน มนุษย์มีโอกาสสัมผัสสารหนูได้บ่อยครั้งในชีวิตประจำวัน ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากอาหารและน้ำดื่ม สารหนูเป็นสารก่อมะเร็ง มีผลทำลายระบบประสาท ทั้งในคนและสัตว์ ปัญหาสารหนูปนเปื้อนในแหล่งน้ำ ก่อให้เกิดปัญหาระดับชาติในประเทศต่างๆ เช่น อาร์เจนตินา บังกลาเทศ ชิลี จีน ฮังการี อินเดีย เม็กซิโก โรมาเนีย ไต้หวัน เวียดนาม สหรัฐอเมริกา และประเทศไทย ซึ่งสารหนูเหล่านี้อาจมาจากลักษณะทางธรณีวิทยาที่ชั้นใต้ดินมีสารหนูเป็นส่วนประกอบ และบางส่วนอาจมาจากการปนเปื้อนของแหล่งเหมืองแร่ สารหนูมีปนเปื้อนอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ การสำรวจพบสารหนูในแหล่งน้ำจืดพบ 0.2-264 ไมโครกรัมต่อลิตร น้ำใต้ดิน 1-1,000 ไมโครกรัมต่อลิตร น้ำทะเล 0.5-6 ไมโครกรัมต่อลิตร และในดินมีสูงถึง 0.1-1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (National academy of science, 1977)

สารหนูมีอยู่หลายรูปแบบ เช่น Arsenite (As^{3+}), Arsenate(As^{5+}), Monomethylarsonic acid (MMA), Dimethylarsinic acid (DMA), Arsenobetaine(AsB), Arsenocholine (AsC) สารหนูที่อยู่ในน้ำจะอยู่ในรูปอาร์เซเนท (AsO_4^{3-}) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับฟอสเฟต (PO_4^{3-}) มีความเป็นไปได้ว่าพืชชั้นต่ำไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างสารประกอบทั้งสองได้ จึงรับเอาสารหนูรูป AsO_4^{3-} เข้าไป เกิดการเปลี่ยนรูปเป็นสารประกอบอื่นๆ เช่น ในเห็ดจะพบอยู่ในรูป Arsenocholine และในสาหร่าย พบในรูป Arsenosugar (Edmonds and Francesconi, 1987)

สาหร่ายเป็นผู้ผลิตในห่วงโซ่อาหารทะเล และผ่านเข้าสู่สัตว์ทะเลโดยการกิน ดังนั้น สารหนูจึงถ่ายทอดไปยังสัตว์เหล่านี้ มีงานวิจัยมากมายที่สำคัญ เกี่ยวกับชนิดของสารหนูในสัตว์ทะเล ทำให้ทราบว่า Arsenobetaine เป็นสารประกอบชนิดหนึ่งของสารหนู ซึ่งพบในสัตว์ทะเลมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (Montoro et al., 2002)

ในประเทศแถบเอเชีย โดยเฉพาะ อย่างยิ่งเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อาหารทะเลนับเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและ การแปรรูปของอาหารทะเลมีมาก เช่น อาหารกระป๋อง การทำเค็มแบบตากแห้ง และการแปรรูปโดยผ่านกระบวนการหมัก เช่น น้ำปลา น้ำบูดู ไตปลา และกะปิ กระบวนการต่างๆเหล่านี้ อาจมีผลทำให้สารประกอบของสารหนูเกิดการเปลี่ยนรูป อาหารเหล่านี้ต้องผ่านกระบวนการหมักตามธรรมชาติ กระบวนการหมักเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของแบคทีเรีย จึงเป็นที่น่าสนใจว่า สารประกอบของสารหนู Arsenobetaine ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในอาหารทะเล อาจเปลี่ยนเป็นรูปที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์หรือไม่ นอกจากนี้ มีความเป็นไปได้หรือไม่ที่สารหนูอินทรีย์ในรูปอื่นที่พบทั่วไปในสัตว์ทะเลจะเปลี่ยนเป็นสารหนูอนินทรีย์ โดยนำการวิเคราะห์แบบ speciation เข้ามาเกี่ยวข้องในการตรวจวัด โดยใช้การสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เมธานอล น้ำ และกรดอ่อน เพื่อที่จะแยกสารประกอบกลุ่มใหญ่ออก การแยกนั้นใช้ Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS), Inductively Coupled Plasma-mass Spectrometry (ICP-MS) หรือ Inductively Coupled Plasma-Atomic Fluorescence Spectrometry (ICP-AFS) ในการตรวจวัดปริมาณของสารหนู

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทย

1.2.2 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูที่เป็นอันตราย (สารหนูอนินทรีย์) และสารหนูที่ไม่เป็นอันตราย (สารหนูอินทรีย์) ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

1.2.3 เพื่อใช้อาหารทะเลเป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนของสารหนูในทะเล

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล ที่ได้ผ่านกระบวนการหมัก จะทำให้สารหนูอินทรีย์เปลี่ยนรูปเป็นสารหนูอนินทรีย์ ซึ่งเป็นอันตรายต่อมนุษย์ สารหนูที่พบในอาหารทะเลสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การปนเปื้อนสารหนูในทะเลได้

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1.4.1 ตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเลที่ทราบชนิดของวัตถุดิบ ได้แก่ หัวน้ำปลา (เข้มข้น) กะปิ ไตปลา และ น้ำบูดู ซึ่งมีจำนวนดังนี้

จากแหล่ง

1. แหล่งอุตสาหกรรม
   - 1.1 จังหวัดระยอง ได้แก่ กะปิกุ้ง 1ตัวอย่าง และน้ำปลา 1ตัวอย่าง (น้ำปลาหมักจากกระบวนการหมักที่ระยะต่างๆ ได้แก่ 7, 30, 150 และ 240 วัน)
   - 1.2 จังหวัดสมุทรปราการ ได้แก่ กะปิกุ้ง 1 ตัวอย่าง
   - 1.3 จังหวัดสมุทรสาคร ได้แก่ กะปิกุ้ง 1 ตัวอย่าง
   - 1.4 อาหารทะเลที่ผ่านกระบวนการผลิตจากโรงงาน ได้แก่ กะปิกุ้ง 1 ตัวอย่าง จังหวัดระยอง
2. พื้นที่ทั่วไป
   - 2.1 จังหวัดนครศรีธรรมราช ได้แก่ น้ำปลา 1ตัวอย่าง กะปิปลา 1ตัวอย่าง และไตปลา 1 ตัวอย่าง
   - 2.2 จังหวัดปัตตานี ได้แก่ น้ำบูดู 2 ตัวอย่าง
   - 2.3 จังหวัดนราธิวาส ได้แก่ น้ำบูดู 1 ตัวอย่าง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 จังหวัดพัทลุง ได้แก่ ไตปลา 1 ตัวอย่าง (ไตปลาหมักจากกระบวนการหมักที่ระยะต่าง ๆ ได้แก่ 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 และ 90 วัน

1.4.2 สารประกอบของสารหนูที่ทำการศึกษา คือ Inorganic arsenic (As^{3+} และ As^{5+}) และ Organic arsenic (MMA, DMA, AsB, AsC และ Arsenosurgas)

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบชนิดและระดับการปนเปื้อนของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากทะเล

15.2 นำไปปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อนของสารหนู

15.3 สามารถนำเทคนิคในการวิเคราะห์นี้ไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารกลุ่มอื่นที่ควบคุมได้ เช่น ในสาหร่าย อาหารสัตว์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดและทฤษฎี

2.1.1 สารหนู (Arsenic)

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับสารหนู

2.1.1.1 ประวัติความเป็นมา

สารหนูในรูปสารประกอบเป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณ (พ.ศ. 800) ในชื่อ Orpiment โดยชาวกรีก และชาวโรมันเป็นผู้เริ่มเรียกว่า "สารหนู (Arsenic)" ผู้ที่ได้ชื่อว่าเป็นผู้พบสารหนูบริสุทธิ์คือ ชาวเยอรมัน ชื่อ Albutus Magnus ในปี พ.ศ. 1793

สารหนูถูกนำมาใช้ทั้งเป็นยาพิษร้ายแรง และใช้บำบัดโรคผิวหนัง โรคเรื้อน โรคหืด ตลอดจนวัณโรค แต่คนทั่วไปนำมาใช้เป็นยาเบื่อหนู สารหนูเกิดแพร่กระจายอยู่ทั่วไปในธรรมชาติ และมักจะสะสมตัวอยู่ร่วมกับแหล่งแร่ชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแหล่งแร่ประกอบซัลไฟด์ และซัลโฟซอลท์ เรามักจะพบสารหนูอยู่ร่วมกับแหล่งแร่ ทองแดง ทอง เงิน สังกะสี แคดเมียม ปรอท ยูเรเนียม ดีบุก ตะกั่ว ฟอสฟอรัส พลวง บิสมัท ก๊าซธรรมชาติ เซเรเนียม เทลเรเรียม โมลิบดีนัม วุลแฟรม เหล็ก นิกเกิล โคบอลต์ และพลาตินัม (จากการที่สารหนูเกิดร่วมอยู่กับแหล่งแร่ต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วนี้เอง ในการสำรวจธรณีเคมีเพื่อหาแหล่งแร่ต่างๆ เราจึงมักสำรวจและวิเคราะห์หาปริมาณของสารหนูเพื่อใช้เป็น Path finder หรือเป็นแนวทางในการสำรวจหาแหล่งแร่ต่างๆ ได้)

2.1.1.2 คุณสมบัติของสารหนูทางกายภาพและทางเคมี (Physical and chemical properties)

สารหนูเป็นธาตุชนิดหนึ่งมีสัญลักษณ์ As มีคุณสมบัติกึ่งโลหะกับอโลหะ มีน้ำหนักอะตอม 74.92 มีวาเลนซ์ 3 และ 5 มีจุดหลอมเหลว 817 องศาเซลเซียส และระเหิดที่อุณหภูมิ 613 องศาเซลเซียส

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารหนูในรูปอิสระเป็นสารที่พบยากในธรรมชาติ ส่วนใหญ่มักพบเป็นส่วนประกอบของแร่ต่างๆในรูป Arsenide ของโลหะ เช่น ทองแดง นิเกิล เหล็ก และโคบอลท์ เป็นต้น และพบในรูป Arsenic sulfide ได้แก่ Realgar (Tetra-arsenic tetrasulfide, As_4S_4) Arsenopyrite (FeAsS) และ Orpiment (Arsenic trisulfide, As_2S_3) หรืออาจพบในรูปของออกไซด์ ส่วนในน้ำมักพบในรูป Arsenate หรือ Arsenite ส่วนสารประกอบ Methylated arsenic ที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาตินั้นเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงทางชีววิทยา

2.1.1.3 ประเภทของสารหนู

สารหนูแบ่งได้เป็นโลหะของสารหนู และสารประกอบกับแร่ธาตุอื่น ๆ

2.1.1.3.1 ประเภทโลหะ (Arsenic, As_4) มีลักษณะเป็นของแข็ง หรือผงไม่ละลายน้ำมี 3 ชนิด คือ

- Metallic arsenic เป็นรูปที่มีคุณสมบัติคงทนที่สุด ภายใต้สภาวะปกติมีสีเทาจุดหลอมเหลว 817 องศาเซลเซียสไม่ละลายน้ำ

- Yellow arsenic ลักษณะเป็นผงสีเหลืองเปลี่ยนรูปเป็น Metallic arsenic ได้ง่ายเมื่อถูกแสงหรือความร้อน

- Amorphous arsenic forms เป็นสารหนูที่มีรูปร่างไม่แน่นอนมีสีดำ สามารถเปลี่ยนรูปเป็น Metallic arsenic ได้ที่อุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส

2.1.1.3.2 ประเภทสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic arsenic compounds) ที่สำคัญคือ

- Arsenic trioxide, As_2O_3 เป็นสารเคมีที่ได้จากการถลุงโลหะ Arsenic หรือ แร่กำมะถันที่มีสารหนูประกอบอยู่ด้วย มีลักษณะเป็นผงสีขาวที่เรียกว่า White arsenic เมื่ออยู่ในสภาวะกัดกร่อนจะสามารถละลายออกมาอยู่ในรูป Arsenous acide, H_3AsO_3 และ Arsenic acid หรือ Orthoarsenic acid, H_3AsO_4

- Arsenic pentoxide หรือ Arsenic anhydride, As_2O_5 เป็นสารเคมีที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของ Metallic arsenic หรือ Arsenic trioxide กับ Nitric acid และละลายน้ำได้ดีกว่า Arsenic trioxide

- Arsenic sulfide เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำต่ำ สารประกอบที่สำคัญของพวก Arsenic sulfide ได้แก่ Realgar (Tetraarsenic, Tetrasulfide), Orpiment (Arsenic trisulfide) และ Arsenic pentasulfide โดยทั่วไปสารประกอบสารหนูประเภท Sulfide มีความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง

2.1.1.3.3 ประเภทสารประกอบสารหนูอินทรีย์ (Organic arsenic compounds) ที่สำคัญและใช้กันแพร่หลายในการเกษตรกรรม ได้แก่ Methanearsenic acid, Cacodylic acid, Methyldihydroxyrsine, Trimethylarsine และ Trimethylarsine oxide ส่วนกลุ่ม Aromatic derivatives ใช้เป็นสารเติมในอาหารสัตว์และยารักษาโรคสัตว์

2.1.1.3.4 ประเภทก๊าซ สารหนูที่อยู่ในรูปก๊าซ เช่น Arsine หรือ Arsenic hydride (AsH_3) เป็นก๊าซที่เกิดขึ้นเมื่อสารประกอบสารหนูอนินทรีย์ทำปฏิกิริยากับ Nascent hydrogen หรือเกิดเมื่อ Metallic arsenide ทำปฏิกิริยากับน้ำให้ก๊าซ Arsine ออกมา ก๊าซนี้มีความเป็นพิษสูง และละลายน้ำได้

2.1.1.4 การนำสารหนูมาใช้ประโยชน์

สารประกอบสารหนูสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายอย่างทั้งในด้านการเกษตร อุตสาหกรรม การแพทย์ และการทหาร ดังแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงการนำสารหนูมาใช้ประโยชน์

แหล่งที่ใช้	ประโยชน์
ด้านการเกษตร	**สารเคมีป้องกันและกำจัดแมลง (Insecticides)** - Lead arsenate สำหรับทำลายด้วง ตั๊กแตน แมลงปีกแข็ง และ หนอนผีเสื้อ - Sodium arsenite เป็น Insecticide ใช้กำจัดหมัด เห็บ ไร และเหาของปศุสัตว์ - Calcium arsenate นำมาใช้ในไร่ฝ้าย สวนผลไม้ สวนผัก **สารพิษฆ่าวัชพืช (Herbicide)** เป็นสารฆ่าวัชพืช MSMA (Monosodium methanearsonate), DSMA (Disodium methanearsonate) และ Cacodylic acid **สาร Desiccants** สารที่ใช้กันแพร่หลาย คือ Arsenic acid เป็น Cotton desiccent ก่อนการเก็บเกี่ยวเพื่อให้ใบฝ้ายร่วง ง่ายต่อการเก็บ

แหล่งที่ใช้	ประโยชน์
	น้ำยารักษาสภาพเนื้อไม้ (Wood preservatives) ใช้ป้องกันเชื้อรา และแมลงที่มาทำลายเนื้อไม้ สารที่นำมาใช้ ได้แก่ Chromated copper arsenate และ Pentavalent arsenic compound **ผสมในอาหารสัตว์ (Feed additives)** สารประกอบอินทรีย์ของสารหนูที่ใช้ เช่น Arsenilic acid, 3-nitro-4-hydroxphenyl-arsonic acid ซึ่งใช้ผสมในอาหารสัตว์ปีก
ด้านอุตสาหกรรม	-ใช้เป็นสารให้สีแดงหรือไม่มีสีในผลิตภัณฑ์แก้ว และทำให้แก้วหลอมละลาย -ใช้เป็น Silver reducer ในอุตสาหกรรมกระจกเงา -ใช้เป็น Antifouling paints สำหรับทาใต้ท้องเรือเพื่อป้องกันตะไคร่น้ำจับ -ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สำหรับรักษาสภาพหนังสัตว์
ด้านการแพทย์	ใช้เป็นส่วนประกอบของยารักษาโรคทั้งในคนและสัตว์ รักษาโรคที่เกิดจากโปรโตซัว (Protozoal disease) และโรคที่เกิดจากพยาธิบางชนิด (Helminthiasis)
ด้านการทหาร	ใช้เป็นสารพิษในการทำสงคราม หรือยับยั้งการก่อจลาจล ซึ่งจะก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนังและเยื่อเมือก (Mucous membrane)

2.1.1.5 ความเป็นพิษของสารหนู

จากการศึกษาทดลองหาปริมาณความเป็นพิษของสารประกอบสารหนูจากการคำนวณทางสถิติ พบว่าเมื่อให้กับสัตว์ทดลองชนิดหนึ่ง แล้วคาดว่าจะทำให้สัตว์ทดลองจำนวนครึ่งหนึ่ง (ร้อยละ 50) ตาย ภายใต้เงื่อนไขที่ระบุไว้ของการทดลองนั้น แสดงดังตารางที่ 2.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.2 แสดง Lethal Dose 50 of some arsenic compounds (LD_{50}: dose which is fatal to one-half a population of experimental animals)

Compound	LD_{50} (mg/kg weight of rat)
Arsine	3
Potassium arsenite	14
Arsenic trioxide	20
Calcium arsenate	20
Phenylarsonic acid	50
Monomethylarsonic acid (MMA)	700-1,800
Dimethylarsinic acid (DMA)	700-2,600
Arsenobetaine (AsB)	>10,000
Arsenocholine (AsC)	>10,000

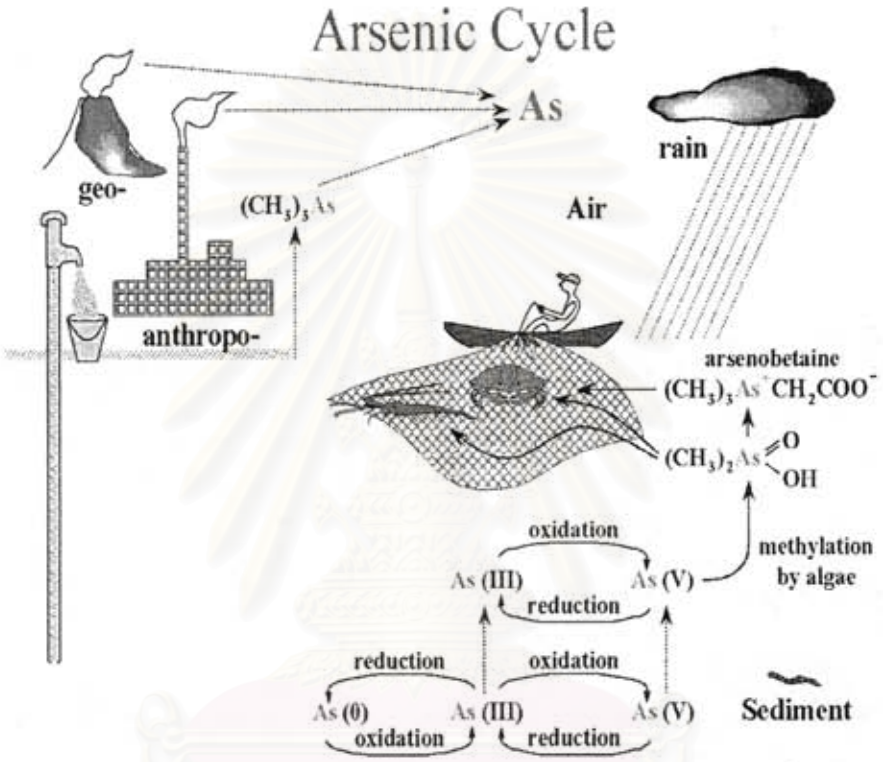
ที่มา : Yamauchi et al., 1994

การก่อให้เกิดพิษของสารหนูนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น โครงสร้างทางกายภาพ และเคมีของสารประกอบ ทางเข้าสู่ร่างกาย ปริมาณและระยะเวลาที่ได้รับ อายุและเพศของผู้ที่ได้รับสารหนู รูปของสารหนู ธาตุหรือสารประกอบอื่น ๆ ที่ได้รับพร้อมกัน ส่วนใหญ่แล้วสารหนูอนินทรีย์ จะมีความเป็นพิษมากกว่าสารหนูอินทรีย์ โดยเฉพาะสารหนูที่มีวาเลนซี่ 3 จะมีความเป็นพิษสูงสุดเมื่อเทียบกับวาเลนซี่ 5 ที่พบในแหล่งน้ำทั่วไป

สารหนูส่วนที่ตกค้างในร่างกายส่วนใหญ่จะสะสมอยู่ที่ผิวหนัง เล็บ ผม และขน เนื่องจากอวัยวะเหล่านี้มีสาร Keratin เป็นองค์ประกอบ โดยที่สารหนูเข้าทำปฏิกิริยากับ Sulfhydryl group (-SH) ของ Keratin ในโปรตีนหรือเอนไซม์ที่มีในเซลล์ ซึ่งจะทำให้กระบวนการก่อให้เกิดพลังงานของเซลล์ผิดปรกติไป และรบกวนการสร้าง (DNA) polymerase ด้วย เหตุผลดังกล่าวนี้จึงเชื่อกันว่าสารหนูเป็นสาเหตุหนึ่งทำให้เกิดโรคมะเร็ง (Morton, W.E. and Dunnette, D.A., 1994)

2.1.2 แหล่งกำเนิดและการแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อม

สารหนูเป็นธาตุที่กระจายอยู่ทั่วไปในบรรยากาศ ดิน หิน แหล่งน้ำธรรมชาติ และสิ่งมีชีวิตต่างๆ แหล่งของสารหนูที่เข้าสู่สิ่งแวดล้อมนั้นเกิดได้จาก 2 กระบวนการ คือ จากกระบวนการทางธรรมชาติ และจากกิจกรรมของมนุษย์ แสดงได้ดังรูปที่ 2.1



ที่มา: Silver et al., 2002

รูปที่ 2.1 แสดงวัฏจักรของสารหนู

2.1.2.1 กระบวนการทางธรรมชาติ

สารหนูเป็นธาตุที่เกิดในธรรมชาติ เป็นธาตุที่สมบูรณ์ในเปลือกโลก และเป็นสารประกอบของแร่มากกว่า 245 ชนิด ที่พบโดยทั่วไปคือเป็นองค์ประกอบของแร่ Arsenopyrite (FeAsS) การเคลื่อนตัวของสารหนูบนเปลือกโลก เกิดขึ้นได้ระหว่างที่มีการผุพังของหินหรือแหล่งแร่ เปลี่ยนสารหนูในรูปสารประกอบซัลไฟด์ไปเป็นสารหนูในรูปสารประกอบไตรออกไซด์ ซึ่งเข้าสู่วัฏจักรของสารหนูเป็นฝุ่น หรือการละลายในฝนลงสู่แม่น้ำ หรือท้องน้ำ ซึ่งทำให้สารหนูสามารถเข้าสู่ห่วงโซ่อาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุการแพร่กระจายในพืชและสัตว์ นอกจากนั้น การปะทุและการ

ระเบิดของภูเขาไฟ และกิจกรรมของสิ่งมีชีวิตก็เป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ปลดปล่อยสารหนูเข้าสู่สิ่งแวดล้อม จุลินทรีย์พวก *Thiobacillus thiooxidant* ที่ใช้อิเลคตรอนในขบวนการหายใจ เมื่อแร่เหล่านี้สัมผัสกับอากาศให้กลายเป็นกรดกำมะถันทำให้สารหนูถูกทำให้ละลายออกมาปะปนอยู่ในแหล่งน้ำธรรมชาติ (Simon and Le T. P., 2005)

จุลินทรีย์มีความสำคัญในวัฏจักรของสารหนู ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น ปฏิกิริยารีดักชั่น และพันธะโควาเลนต์ Arsenate เป็นสารประกอบสารหนูส่วนใหญ่ในน้ำทะเล สิ่งมีชีวิตในทะเล แพลงค์ตอนพืช สาหร่าย กุ้ง หอย และปลา ดูดซับสารหนูเข้าสู่เซลล์ และเปลี่ยนเป็นสารประกอบอินทรีย์ เช่น MMA DMA โดยกระบวนการ Methylation และจากนั้น อาจเปลี่ยนรูปต่อไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสารหนูอินทรีย์ เช่น Arsenosugar พบได้ในสาหร่ายทะเล และแพลงค์ตอนพืช และเปลี่ยนรูปเป็น Arsenobetaine โดยสัตว์ทะเลต่อไป รูปที่ 2.1 และรูปที่ 2.4 (Francesconi and Edmonds, 1993)

2.1.2.2 กิจกรรมของมนุษย์

กิจกรรมของมนุษย์ ก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้สารหนูในสิ่งแวดล้อมเพิ่มปริมาณขึ้น กิจกรรมต่างๆเหล่านี้ ได้แก่ การทำเหมืองแร่ การถลุงโลหะ จากโรงงานผลิตพลังงานจากถ่านหินและน้ำมันเชื้อเพลิง การใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลงในการเกษตรที่มีสารหนูเป็นองค์ประกอบ การใช้สารหนูผสมในอาหารสัตว์ ยารักษาคนและยารักษาสัตว์ และมีการนำสารหนูมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆด้วย เช่น ใช้ทำวัตถุกึ่งตัวนำในงานด้านไฟฟ้า ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เพื่อรักษาสภาพหนังสัตว์ ใช้เป็นน้ำยาฉนอมรักษาเนื้อไม้ เป็นต้น ดังตารางที่ 2.3 และ ตารางที่ 2.4 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสารหนูในน้ำทิ้งจากกิจกรรมประเภทต่าง ๆ และปริมาณสารหนูที่ออกสู่บรรยากาศ ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2.3 แสดงปริมาณความเข้มข้นของสารหนูในน้ำทิ้งจากกิจกรรมประเภทต่าง ๆ

ประเภทกิจกรรม	ความเข้มข้นของสารหนูในน้ำทิ้ง (mg/l)
โรงงานฟอกหนังสัตว์	0-3,000
โรงงานปุ๋ยไนโตรเจน	0.1-0.8
โรงงานโลหะผสมตะกั่ว-สังกะสี	0.15-0.22
โรงงานโลหะผสมทังสเตน-โมลิบดินัม	0.9
โรงงานนิเกิล	0.04-1.4
เหมืองทังสเตน	0.2-1.35
โรงงานถลุงตะกั่ว	0.02-0.06
โรงงานดีบุก	0.5

ที่มา : National Academy of Science, 1977

ตารางที่ 2.4 แสดงปริมาณสารหนูที่ออกสู่บรรยากาศจากกิจกรรมประเภทต่าง ๆ

แหล่งที่ปล่อยสารหนู	ปริมาณสารหนู
เหมืองแร่	0.45 ตันต่อแร่ทองแดง ตะกั่ว สังกะสี เงิน ทอง หรือยูเรเนียม 1 ล้านตัน
การถลุงโลหะ	955 ตันต่อทองแดงที่ผลิตได้ 1 ล้านตัน 591 ตันต่อสังกะสีที่ผลิตได้ 1 ล้านตัน 364 ตันต่อตะกั่วที่ผลิตได้ 1 ล้านตัน
ถ่านหิน	1.4 ตันต่อการเผาถ่านหิน 1 ล้านตัน
น้ำมัน	5.2 กิโลกรัมต่อน้ำมัน 1 ล้านบาเรล

ที่มา : National Academy of Science, 1977

2.1.2.3 สารประกอบของสารหนูในสิ่งแวดล้อม

สารหนูกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และสะสมอยู่ในพืช เช่น เห็ด ไลเคนส์ อยู่ในรูป Arsenite (As^{3+}), Arsenate (As^{5+}) และ Dimethylarsinic acid (DMA), Monomethylarsonic acid (MMA)

ในสัตว์ สารหนูที่พบ คือArsenobetaine(AsB), DMA และ Arsenoribosides ในไส้เดือน (Geiszinger et al., 1998) และในมดพบ As^{3+}, As^{5+}, DMA, AsB, MMA และ TrimethylArsine oxide (TMAO) (Irgolic, K.J. et al., 1997)

ในสัตว์ทะเลพบสารหนูในรูป [(As^{3+}) และ (As^{5+})] ปริมาณเล็กน้อย แต่พบ AB, DMA, MMA, TMAO, Arsenocholine (AsC), Tetramethylarsonium ion (TMA^{+}), Arsenosugars (AsS) และ Arsenolipids ปริมาณมาก (Phillips, 1990)

2.1.2.4 สารหนูในสิ่งแวดล้อมทางทะเล

สารหนูที่ละลายอยู่ในน้ำทะเลนั้นจะอยู่ในรูป Arsenate, Arsenite, Monomethylarsonic acid (MMA) และ Dimethylarsinic acid (DMA) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้จะถูกดูดยึดอยู่กับสารแขวนลอยในน้ำทะเล มีผลต่อความเข้มข้นของสารหนูที่ละลายอยู่ในน้ำทะเล สารหนูในน้ำทะเลจะมีการเปลี่ยนแปลงจากสารหนูอนินทรีย์กลายเป็นสารหนูอินทรีย์ โดยที่สารหนูเข้าแทนที่ไฮโดรเจน พบมากในบริเวณที่แสงส่องถึง โดยแพลงค์ตอนในบริเวณนั้น เปลี่ยนสารหนูไปเป็นสารประกอบ Methylarsenic (Hasegawa, H. *et. al,* 1999)

สารหนูที่ตรวจพบในดินตะกอนทะเลนั้น 70-90% จะเป็นสารหนูอนินทรีย์ ที่พบมากที่สุด คือ Arsenate สารประกอบของสารหนูในดินตะกอนจะขึ้นอยู่กับสภาพของดินตะกอน โดยในดิน และตะกอนดินที่มีสภาพเป็นกรด สารหนูจะจับกับเหล็กออกไซด์ แต่ในสภาพเป็นด่างจะจับกับหินปูน และในสภาพเป็นกลางจะจับกับแร่ดินเหนียว ทำให้เกิดสารประกอบชนิดต่างๆในดินตะกอน และมีผลต่อการละลายของสารหนูจากดินตะกอนสู่แหล่งน้ำ (Francesconi, K.A. and Edmonds, J.S., 1993)

สารหนูโดยทั่วไป ในสิ่งมีชีวิตในทะเลนั้นเป็นสารหนูอินทรีย์ สารประกอบที่พบมากที่สุด คือ สารหนูอินทรีย์ >75% โดยอยู่ในรูป Arsenobetaine ซึ่งมีความเป็นพิษไม่มาก และที่พบปริมาณน้อย คือ Tetramethylarsonium ion, Arsenocholine, TrimethylArsine oxide, DimethylArsenate และ Arsenosugars สารหนูอนินทรีย์ เช่น Arsenate และ Arsenite (Geiszinger et

al., 2002) ปริมาณสารหนูสะสมในสิ่งมีชีวิต เช่น พืช และสัตว์ จะสูงกว่าปริมาณสารหนูในสิ่งแวดล้อมที่อาศัยอยู่ (Francesconi, K.A. and Edmonds, J.S., 1993)

ตารางที่ 2.5 แสดงความเข้มข้นของสารประกอบสารหนูที่พบในสิ่งมีชีวิต

ตัวอย่าง	แหล่งเก็บ	ความเข้มข้น ($\mu g.gn^{-1}$)	สารหนูหลัก	สารหนูส่วนน้อย	เอกสารอ้างอิง
Nori (Red algae)	China	16	Sugar-OH	Sugar-PO4	Cullen, W.R. และคณะ 1997
Arame (Brown algae)	Japan	5	Sugar-OH	DMAA, Sugar-PO4, Sugar-SO3	Cullen, W.R. และคณะ 1997
Mushroom	Poellatal, Austria	22	AsB, AsC	As(III), As(V), DMAA, TMA	Irgolic, K.J.และคณะ 1997
Heather	Aberdeen, Scotland	0.015-0.029	As(V)	As(III)	Kriechmann, T. 2001
Cod	Strasbourg, France	10	AsB	DMAA, As(V)	Amran, M.B. และคณะ 1997
Tuna	Strasbourg, France	5.4	AsB	DMAA, As(V)	Amran, M.B. และคณะ 1997
Mussel	Strasbourg, France	4.8	AsB	DMAA	Amran, M.B. และคณะ 1997
Earthworm: Uncontaminated land	Lancaster, England	0.007-0.017	AsB	As(V)	Meharg, A.A. และคณะ,2003
Earthworm: Contaminated land	Carrock Fell, England	0.162-0.566	AsB	As(V), As(III)	Meharg, A.A. และคณะ,2003
Earthworm: Contaminated land	Devon Great Consols, England	1.134-1.358	AsB	ไม่ระบุ	Meharg, A.A. และคณะ,2003
Chicken: meat	Aberdeen, Scotland	0.272-0.301	AsB	ไม่ระบุ	Kriechmann, T. 2001
Hen's egg	Aberdeen, Scotland	0.194	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	Kriechmann, T. 2001
Sheep: muscle	North Ronaldsay, Scotland	0.414-1.117	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	Feldmann, J. และคณะ, 2000
Sheep: wool	North Ronaldsay, Scotland	2.4-20.7	DMAA	MMAA, As(V), As(III)	Feldmann, J. และคณะ, 2000
Sheep: wool	Finn Dorset, Scotland	0.010-0.160	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	Feldmann J. และคณะ, 2000

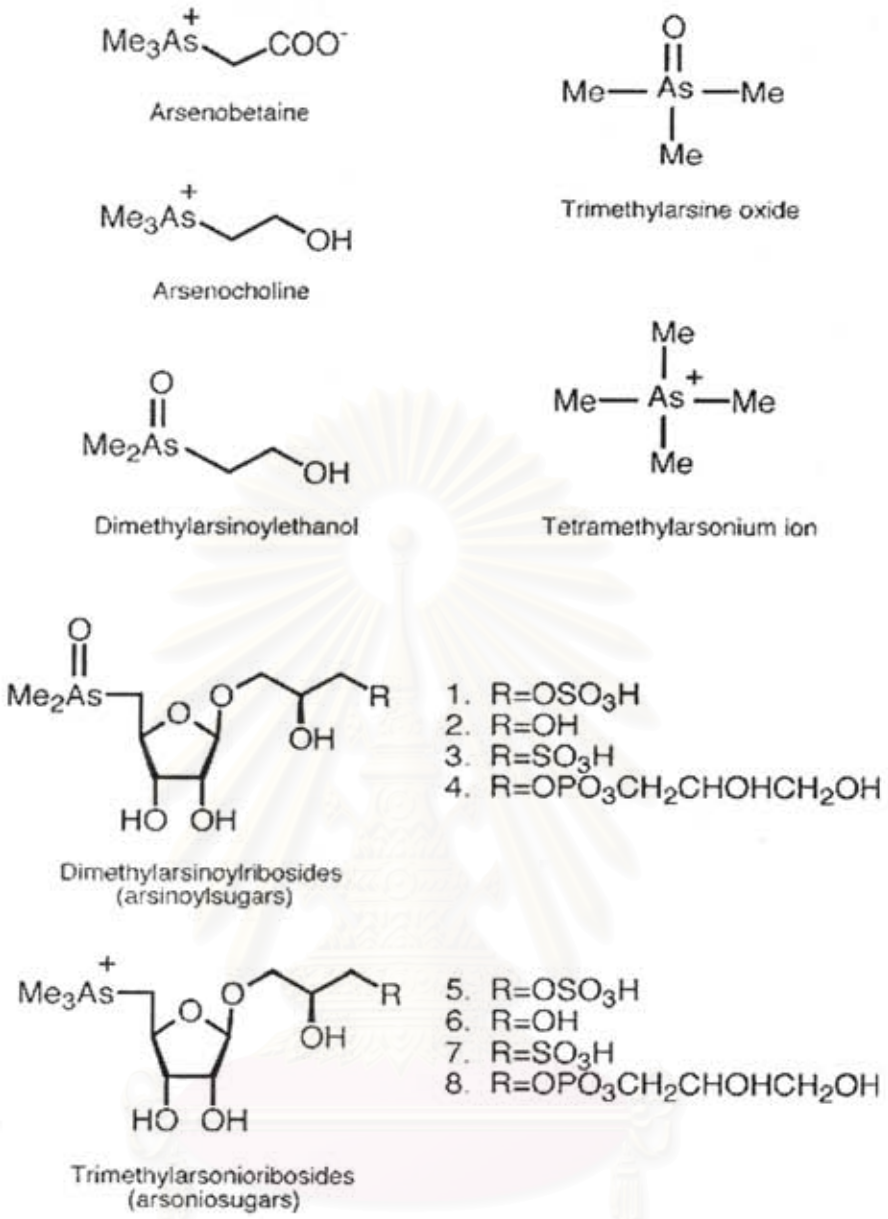
Fern	Yala, Thailand	สูงถึง 8350	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	Fransconi, K.A., และคณะ 2002
Fern	Florida, USA	สูงถึง 7526	ไม่ระบุ	ไม่ระบุ	Ma, L.Q. และคณะ 2001

Sugar-OH: arsinoylsugar ตามรูป 2.2 ที่ต่อกับหมู่ OH

Sugar-PO4: arsinoylsugar ตามรูป 2.2 ที่ต่อกับหมู่ PO4

Sugar-SO3: arsinoylsugar ตามรูป 2.2 ที่ต่อกับหมู่ SO3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



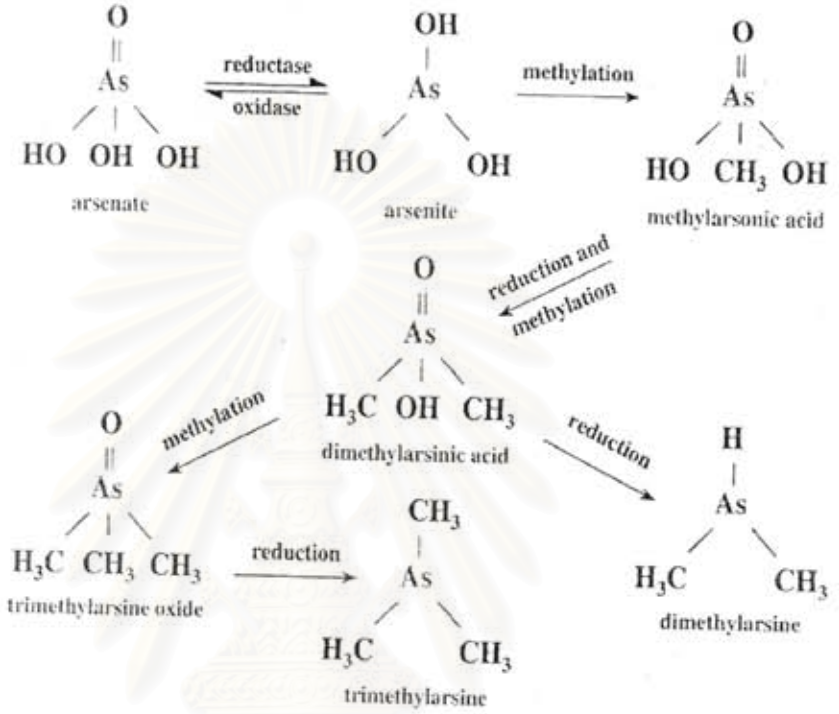
รูปที่ 2.2 แสดงสูตรโครงสร้างของสารประกอบสารหนูในสิ่งแวดล้อมทางทะเล

2.1.2.5 เมตาบอลิซึมของสารหนูโดยสิ่งมีชีวิต (Metabolism by living organisms)

2.1.2.5.1 ปฏิกิริยารีดักชั่น และ Biomethylation ของสารหนูอนินทรีย์

โดยแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli, Flavobacterium sp, Methanobacterium sp.* และ Fungi เช่น *Aspergillus glaucus, Candida humicola,* สาหร่าย และสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น มนุษย์ ดังแสดงในรูปที่ 2.3 แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Flavobacterium sp* เปลี่ยน Arsenate ไปเป็น

TrimethylArsine ซึ่งเป็นก๊าซพิษ ขั้นตอนประกอบด้วย Arsenate จะถูกรีดิวซ์ไปเป็น Arsenite และจากนั้นผ่านการ Methylate ไปเป็น Monomethylarsonic acid (MMA), Dimethylarsinic acid (DMA) หรือ Trimethylarsine oxide (TMAO) ต่อมาเกิดปฏิกิริยารีดักชั่น เกิดเป็น Trimethylarsine

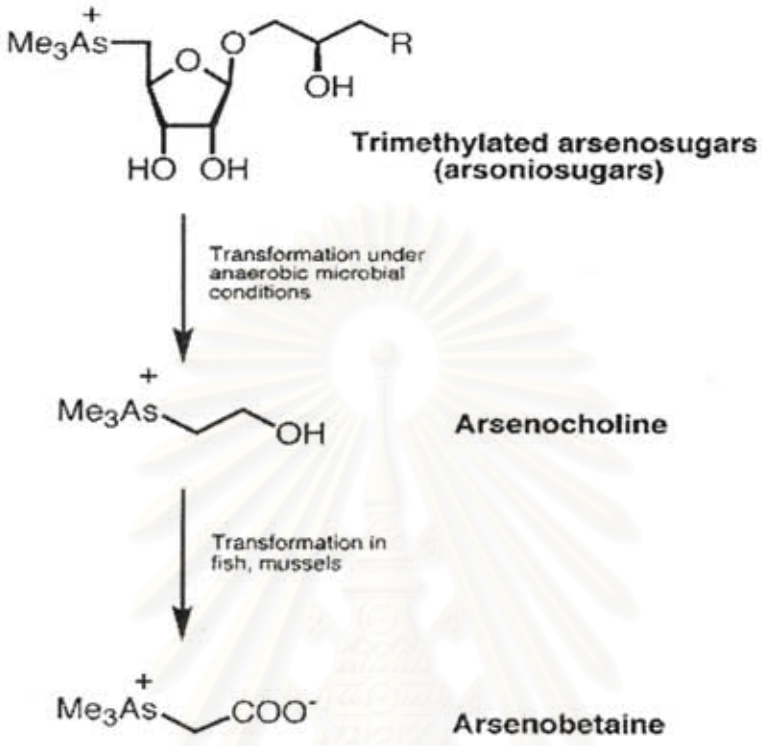


ที่มา : Silver et al., 2002

รูปที่ 2.3 แสดงการเปลี่ยนสารหนูเป็นสารประกอบ Methylarsenic โดยจุลินทรีย์

การศึกษาเมตาบอลิซึมของสารหนูในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม พบว่าเมื่อสารหนู Arsenate เข้าสู่ร่างกายของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะถูกรีดิวซ์ ไปเป็น Arsenite และ Methylate ไปเป็น Monomethylarsonic acid (MMA), Dmethylarsinic acid (DMA) หรือ Trimethylarsine oxide (TMAO) (Przygoda, G., *et. al.*, 2001)

2.1.2.5.2 การเกิดของ Arsenobetaine ในสัตว์ทะเล



ที่มา : Francesconi et al., 1998

รูปที่ 2.4 แสดง A possible pathway for the biogenesis of arsenobetaine from trimethylated arsenosugars (arsoniosugars)

สารหนูรูป Arsenosugars ที่พบในสาหร่าย อยู่ในรูป Dimethylated arsinoyl (Me_2AsO-) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ Ribosides ได้แก่ สารประกอบที่ 1-4 (รูปที่ 2.2) และ อีกหนึ่งชนิด คือ Trimethylated arsonio (Me_3As^+-) Riboside (Arsenosugar 5) รูปที่ 2.2 การเกิด Arsenobetaine ในสัตว์ทะเล เริ่มจาก Trimethylated arsenosugars เป็น Precursors จุลินทรีย์ในสัตว์ทะเลสามารถเปลี่ยนรูปภายใต้สภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน ไปเป็น Arsenocholine ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปต่อไปเป็น Arsenobetaine เช่นที่พบในปลา และหอยสองฝา เป็นต้น (Francesconi, K.A. and Edmonds, J.S., 1993)

2.1.2.6 ข้อกำหนดของปริมาณสารหนูในอาหารทะเล

หลายประเทศมีข้อกำหนดสำหรับการปนเปื้อนสูงสุดของสารหนูที่ยอมให้มีได้ในปลา และผลิตภัณฑ์ปลา คือ 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) เช่น ในสิงค์โปร มาเลเซีย และออสเตรเลีย จากการศึกษาพบว่ามีสารหนู 0.3-26.22 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ด้วย 66% ของตัวอย่างปลา และผลิตภัณฑ์ปลา มีสารหนูสูงกว่า 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ทำให้อาหารทะเลชนิดนั้นไม่สามารถจำหน่ายได้

ฮ่องกงได้กำหนดปริมาณสำหรับการปนเปื้อนสูงสุดของสารหนูที่ยอมให้มีได้ในปลา และผลิตภัณฑ์ปลา ไม่เกิน 6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) และ ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) สำหรับสัตว์น้ำที่มีเปลือก เช่น หอย กุ้ง ปู และอื่น ๆ ซึ่งข้อจำกัดนี้ไม่ได้ระบุชนิดของสารหนู เพียงแต่กล่าวถึงปริมาณสารหนูโดยรวมเท่านั้น

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์อาหารทะเล พบสารหนู 80 % นั้นอยู่ในรูป AsB ซึ่งความเป็นพิษน้อยมาก และการบริโภคอาหารทะเลไม่ปรากฏความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภค ทำให้หลายประเทศในยุโรปไม่ออกข้อกำหนดจำกัดปริมาณความเข้มข้นของสารหนูทั้งหมดในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลนี้ ดังนั้นจึงมีการศึกษาหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และหาชนิดของสารหนูอินทรีย์ประเภท arsenobetaine ซึ่งเป็นสารหนูอินทรีย์ มีการควบคุมปริมาณในมาตรฐานสินค้าอาหารทะเล จึงมีความสำคัญ และควรทำการศึกษาเพิ่มเติม

ประเทศที่มีข้อกำหนดระดับสูงสุดหาการปนเปื้อนสารหนูที่มีแบ่งประเภทสารหนูออกเป็น สารหนูอนินทรีย์ในอาหารทะเล ได้แก่ ประเทศออสเตรเลีย และประเทศนิวซีแลนด์ (British Food Manufacturing Industries Research Association, 1993) โดยประเทศออสเตรเลียกำหนดให้มีปริมาณความเข้มข้นสารหนูอนินทรีย์ได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ในสาหร่าย และในประเทศนิวซีแลนด์กำหนดสารหนูอนินทรีย์ ไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ในปลาและผลิตภัณฑ์ปลา และ (WHO, 1989) ได้มีการประเมินปริมาณสูงสุดของสารหนูที่ร่างกายสามารถรับได้โดยการบริโภคต่ออาทิตย์ต่อน้ำหนักร่างกาย (Provisional Tolerable Weekly Intake, PTWI) เป็น 15 ไมโครกรัม ของสารหนูอนินทรีย์ ต่อ กิโลกรัมของน้ำหนักร่างกายต่อ สัปดาห์ ซึ่งหมายความว่า ถ้าคนหนัก 60 กิโลกรัม ควรบริโภคอาหารที่มีสารหนูไม่เกิน 900 ไมโครกรัมต่อสัปดาห์ หรือ 129 ไมโครกรัมต่อวัน

การออกกฎข้อกำหนดปริมาณความเข้มข้นของสารหนูอนินทรีย์ที่ยอมให้มีได้ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลแทนปริมาณสารหนูทั้งหมด เพราะสารหนูอนินทรีย์ เป็นรูปที่อันตราย สามารถแสดงส่งผลต่อสุขภาพ และมีความเสี่ยงต่อประชาชนที่บริโภคอาหารทะเล

2.1.2.7 การศึกษาการเปลี่ยนรูปของสารหนูในอาหารทะเล

ผลิตภัณฑ์อาหารทะเลเป็นแหล่งของโปรตีน กรดไขมันไม่อิ่มตัว วิตามิน บี, ดี, เอ และแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก อาหารทะเลยังเป็นแหล่งสะสมโลหะที่ไม่พึงประสงค์ และอาจจะเป็นพิษต่อมนุษย์ หนึ่งในโลหะเหล่านั้น คือ สารหนู ที่พบมากในอาหารทะเล

ขบวนการประกอบอาหารส่วนใหญ่ เป็นขบวนการใช้อุณหภูมิสูง หรือความร้อน นำไปสู่การย่อยของสารอาหาร การออกซิไดส์ของวิตามิน และไขมัน การละลายของวิตามินแร่ธาตุ และโปรตีน รวมถึงสารหนูซึ่งมีอยู่ในอาหารทะเลด้วย

การศึกษาการเปลี่ยนรูปทางเคมีของสารหนู ในอุณหภูมิสูง ทำการศึกษาโดยนำสารละลายของ AsB , DMA , MMA ให้ความร้อนใช้อุณหภูมิที่ 160 องศาเซลเซียส 30 นาที และ 24 ชั่วโมง พบว่า AsB เปลี่ยนไปเป็น TMAO และ TMA^{+} , DMA ไปเป็น MMA และ MMA ไปเป็น As^{3+} และ As^{5+} แต่เมื่อนำตัวอย่างของอาหารทะเลจริงมาทำการทดลองในแนวเดียวกัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนรูป เพราะปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหารทะเลป้องกันการสลายตัวของสารหนู จากอุณหภูมิที่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของสารหนูได้ (Munoz, O., et al., 2000) นอกจากนี้ Martinez และคณะ (2001) ได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิในการปรุงอาหารต่อการเปลี่ยนรูปทางเคมีสารประกอบของสารหนูอินทรีย์ในอาหารทะเล ในตัวอย่าง ปลาต่าง ๆ ขณะดิบและหลังปรุงโดยวิธี อบ ทอด และ ย่าง เมื่อนำไปปรุงที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ปรากฏมีสารหนูชนิดใหม่เกิดขึ้นเนื่องจากการให้ความร้อนโดยตรง เกิดการเปลี่ยนหมู่ Carboxyl ของ AsB เป็น TMA^{+} และ TMAO

การศึกษากระบวนการหมักสิ่งมีชีวิตในทะเลที่มีสารหนูปนเปื้อนอยู่ โดยจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อย เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในตัวปลา ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในกระบวนการหมักเป็นจุลินทรีย์ที่ชอบเกลือ ประกอบด้วย *Pediococcus halophilus*, *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.*, *Coryneform*, *Pseudomonas sp.*, *Halococcus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Vibrio sp.*, *Achromobacter sp.*, *Flavobacterium sp.*, *Streptococcus sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Halobacteruim sp.* ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีการศึกษาพบว่า ทุกชนิดหรือเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงรูปของสารหนู (Hanaoka, K., *et. al.*,1997)

Shimada, N. 1996 และ Irgolic, K.J., *et. al.*, 1997 ได้ทำการศึกษาสารประกอบของสารหนูในดิน โดยใช้เทคนิค HPLC-ICP-MS หาสารประกอบของสารหนู เช่น Arsenate, Arsenite, MMA, DMA, AsB และ AsC ในดิน จากการวิเคราะห์ พบว่า จุลินทรีย์ *Flavobacterium sp.* ซึ่งพบในกระบวนการหมัก มีบทบาทในการเปลี่ยนรูปของสารหนูในดิน จาก Arsenate ถูกรีดิวซ์ ไปเป็น Arsenite ต่อมาการเปลี่ยนรูปเกิดโดยกระบวนการ Methylate จาก Arsenite ไปเป็น MMA และ DMA จากนั้นถูกรีดิวซ์ไปเป็น Arsine ในรูปที่เป็นก๊าซ เข้าสู่บรรยากาศ (Frankenberger, W.T. and Tamaki, S. 1992)

ประเทศแถบเอเชีย โดยเฉพาะเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อาหารทะเลนับเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญและ การแปรรูปของอาหารทะเลมีมาก เช่น อาหารกระป๋องในรูปการทำเค็มแบบตากแห้ง และการแปรรูปในกระบวนการหมัก เช่น น้ำปลา น้ำบูดู ไตปลา และกะปิ กระบวนการต่างๆเหล่านี้ จะมีผลทำให้สารประกอบของสารหนูเกิดการเปลี่ยนรูป โดยใช้ความร้อน ส่วนกระบวนการหมักเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรีย จึงเป็นที่น่าสนใจว่า สารประกอบของสารหนู Arsenobetaine ที่พบเป็นส่วนใหญ่ในอาหารทะเล จะมีการเปลี่ยนเป็นชนิดอื่นหรือไม่ และการปนเปื้อนของสารหนูในอาหารหมักจากทะเล เป็นสารหนูอินทรีย์ และสารหนูอนินทรีย์มีความแตกต่างกันเป็นสัดส่วนที่จะก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคหรือไม่ มีปริมาณต่างกันอย่างไร โดยนำการวิเคราะห์แบบ Speciation เข้ามาเกี่ยวข้องในการตรวจวัด โดยใช้การสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม เมธานอล น้ำ และกรดอ่อน เพื่อที่จะแยกสารประกอบกลุ่มใหญ่ออก การแยกนั้นใช้เครื่องตรวจ เช่น Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS), Inductively Coupled Plasma-mass Spectrometry (ICP-MS), Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) และ Inductively Coupled Plasma-Atomic Fluorescence Spectrometry (ICP-AFS)

2.1.2.8 แนวโน้มของอาหารหมักกับเศรษฐกิจไทย

อาหารหมักจากสัตว์ทะเล เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่นิยมบริโภคกันมากในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยใช้เป็นส่วนประกอบของอาหาร ใช้ปรุงแต่งอาหารให้รสชาติดีขึ้น และจัดเป็นแหล่งอาหารโปรตีนที่สำคัญ ที่ได้จากการบริโภคประจำวัน เช่น น้ำปลา กะปิ น้ำบูดู ไตปลา เป็นต้น ซึ่งน้ำปลาและกะปิเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้บริโภคภายในประเทศ และเป็นอุตสาหกรรมหลักที่ส่งออก ทำรายได้ให้ประเทศเป็นจำนวนมาก ส่วนน้ำบูดูและไตปลาเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือน และใช้แค่บริโภคภายในประเทศ ยังไม่มีการส่งออกนอกประเทศ

คนไทยใช้น้ำปลาปรุงอาหารแทบทุกชนิด โดยเฉลี่ยคนไทยมีอัตราการบริโภคน้ำปลา 20 มิลลิลิตรต่อคนต่อวัน หรือ เทียบเท่าปริมาณการบริโภคน้ำปลาในแต่ละครัวเรือนประมาณเดือนละ 2 ขวด การผลิตน้ำปลาเริ่มจากอุตสาหกรรมในครัวเรือนแล้วค่อย ๆ ขยายกิจการเป็นอุตสาหกรรมขนาดกลาง และอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 2.6 แสดงให้เห็นการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมน้ำปลาไทยมีปริมาณเพิ่มขึ้นมาโดยตลอด ปริมาณที่ผลิตส่วนใหญ่จะใช้ภายในประเทศมีเพียง 72.5 % ซึ่งแม้ว่าจะมีปริมาณการส่งออกไม่มากแต่สามารถนำรายได้เข้าสู่ประเทศปีละหลายร้อยล้านบาท

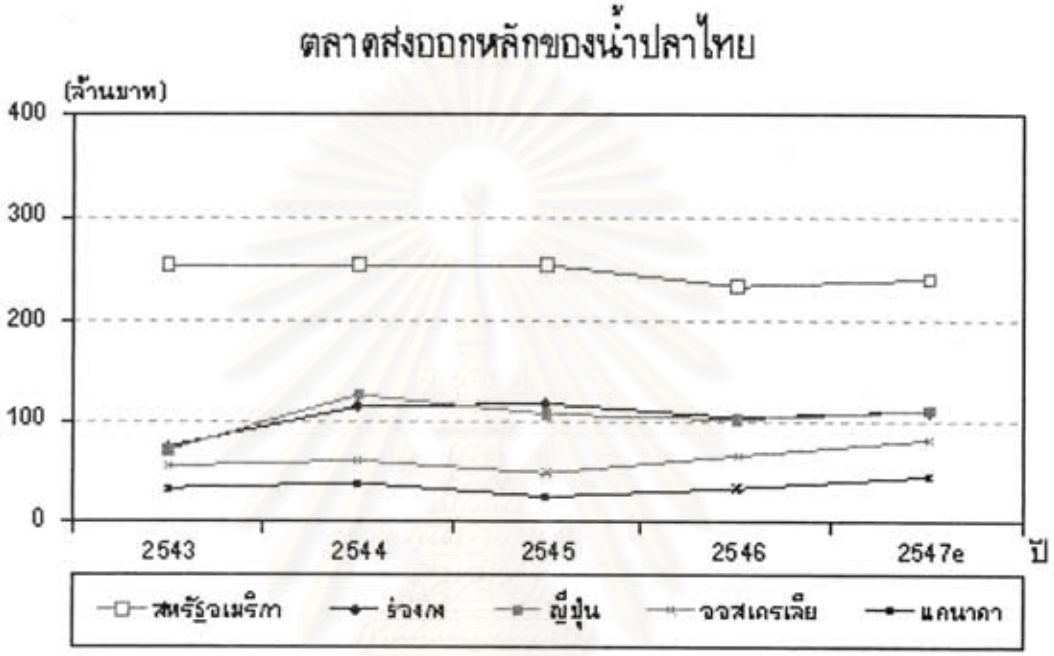
ตารางที่ 2.6 แสดงปริมาณและมูลค่าการบริโภคและการส่งออกของน้ำปลาภายในประเทศและต่างประเทศ

เครื่องชี้ที่สำคัญ	**2544**	**2545**	**2546**	**2547**
การผลิต(พันลิตร)	470,500	528,500	547,000	570,000
อัตราการเปลี่ยนแปลง (%)	4.5	12.3	3.5	4.2
ปริมาณการบริโภคในประเทศ (พันลิตร)	339,650	376,590	396,000	425,000
อัตราการเปลี่ยนแปลง (%)	1.9	10.9	5.2	7.3
มูลค่าการบริโภคในประเทศ(ล้านบาท)	5,245	5,885	6,030	6,300
อัตราการเปลี่ยนแปลง (%)	7.0	12.2	2.5	4.5
ปริมาณการส่งออก (พันลิตร)	30,949	31,741	34,928	38,000
อัตราการเปลี่ยนแปลง (%)	7.6	2.6	10	8.8
มูลค่าการส่งออก(ล้านบาท)	836	798	834	920
อัตราการเปลี่ยนแปลง (%)	19.0	4.6	4.6	10.3

ที่มา : 1/ ประมาณการโดยสำนักงานวิจัยธุรกิจ บมจ.ธนาคารกรุงไทย
2/ กระทรวงพาณิชย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตลาดหลักของน้ำปลาไทย ได้แก่ สหรัฐอเมริกา ตลาดรอง ได้แก่ ฮ่องกง ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย และ แคนาดา การส่งออกน้ำปลามีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ตั้งแต่ปี 2543 ถึง ปี 2547 เนื่องจากการขยายตัวของธุรกิจร้านอาหารไทย และกระแสความนิยมในเรื่องอาหารสุขภาพ โดยเฉพาะตลาดออสเตรเลีย และแคนาดาขยายตัวถึงร้อยละ 31.9 และ 34.4 ตามลำดับ จากรูปที่ 2.5 แสดงให้ภาพตลาดส่งออกหลักของน้ำปลาไทยปี พ.ศ. 2543 ถึง พ.ศ. 2547



ที่มา : กระทรวงพาณิชย์
หมายเหตุ : e = ประมาณการโดยสำนักงานวิจัยธุรกิจ บมจ.ธนาคารกรุงไทย

รูปที่ 2.5 แสดงตลาดส่งออกหลักของน้ำปลาไทย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ng และคณะ (2003) ศึกษาสาเหตุของปัญหาสุขภาพประชาชนจากสารหนูในแหล่งน้ำ พบว่า ประชาชนผู้ซึ่งได้รับระดับสารหนูมากกว่า 50 ไมโครกรัมต่อลิตรในน้ำดื่ม จะเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งสูงถึง 1 ใน 100 ซึ่งองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้กำหนดมาตรฐานของสารหนูในน้ำดื่มไม่เกิน 10 ไมโครกรัมต่อลิตร และประเทศออสเตรเลีย ไม่เกิน 7 ไมโครกรัมต่อลิตร Rodriguez และคณะ (2002) พบว่า สารหนูอยู่ในสิ่งแวดล้อม มีทั้งที่เป็นสารหนูอนินทรีย์ (Inorganic arsenic) เช่น As^{5+}, As^{3+} และสารหนูอินทรีย์ (Organic arsenic) เช่น Monomethylarsonic acid (MMA), Dimethylarsinic acid (DMA), Arsenobetaine (AsB), Arsenocholine (AsC) และ Arsenosugars ชนิดของสารหนูแสดงความเป็นพิษที่แตกต่างดังนี้ As^{3+} > As^{5+} > MMA > DMA > AsC > AsB (ตารางที่ 2.2) และจากการที่สารหนูมีชนิดที่แตกต่างกันเนื่องจากการเปลี่ยนรูป โดยการเมตาบอลิซึมในสิ่งมีชีวิต เชื่อกันว่าเป็นวิธีของสิ่งมีชีวิตที่จะกำจัดสารหนูที่เป็นพิษโดยการเปลี่ยนให้อยู่ในรูปอื่นที่เป็นพิษน้อยกว่า เช่น จาก As^{3+} ⟶ As^{5+} ⟶ MMA และ DMA ⟶ AsC + Arsenosugar (พบในพืช) และ AsB (พบในสัตว์) AsB ส่วนใหญ่ พบมากในอาหารทะเล และจากการศึกษาผลของอุณหภูมิในการปรุงอาหารต่อการเปลี่ยนรูปทางเคมีชนิดของสารหนูอินทรีย์ในอาหารทะเล ในตัวอย่าง ปลาต่าง ๆ ขณะดิบและหลังปรุงโดยวิธี อบ ทอด และ ย่าง เมื่อนำไปปรุงที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ปรากฏมีสารหนูชนิดใหม่เกิดขึ้นเนื่องจากการให้ความร้อนโดยตรงสามารถเปลี่ยนหมู่ Carboxyl ของ AsB เป็น Tetramethylarsonium ion (TMA^{+}) และ TrimethylArsine oxide (TMAO) จากรายงานของ Martinez และคณะ (2001) ต่อมา Feldmann และคณะ (2003) ทำการศึกษาปริมาณสารหนู พบว่า สารหนูขับออกทาง ปัสสาวะและอุจจาระของแกะที่กินสาหร่ายที่มีสารหนูอยู่ถึง 74±4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) พบว่าสารหนูที่แกะกินมีปริมาณ 35±6 มิลลิกรัม จะขับออกทางอุจจาระ 13±10 เปอร์เซ็นต์ และส่วนใหญ่ขับออกทางปัสสาวะประมาณ 86 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่ขับออกมาในรูป DMA (60±22เปอร์เซ็นต์) และส่วนน้อยเป็น Dimethylarsinoylethanol (DMAE), MMA, TMA^{+}, As^{5+} และระบุไม่ได้อีก 7 ชนิด ซึ่งชนิดของสารหนูเหล่านี้ไม่มีอยู่ในสาหร่ายที่แกะกิน แสดงว่าสารหนูในสาหร่าย สามารถถูกเมตาบอไลซ์ได้ในแกะ และจากการศึกษาของ Ramm และคณะ (2002)ให้ผลเช่นเดียวกัน พบว่า เมื่อทำการทดลองให้มนุษย์บริโภคปลา Herring ที่มีสารหนูส่วนใหญ่เป็น AsB จะถูกเปลี่ยนเป็น DMA และขับออกมาทางปัสสาวะ ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่ากระบวนการเมตาบอลิซึมสารหนูในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีลักษณะคล้ายคลึงกัน

บทที่ 3

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการศึกษา

การศึกษาสารประกอบของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล มีขั้นตอนและวิธีดำเนินการศึกษา ดังต่อไปนี้

3.1 ขั้นตอนการศึกษา

3.1.1 การศึกษาความใช้ได้ของการวิเคราะห์สารหนูโดยใช้ HG-AAS

3.1.2 ศึกษาการหาปริมาณสารหนูรวม ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้ HG-AAS

3.1.3 ศึกษาการหาปริมาณของสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้ เทคนิคการสกัด และตรวจปริมาณสารหนูโดยใช้ HG-AAS เทคนิค

3.1.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารหนูของกระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในน้ำปลาและไตปลา

3.1.5 ศึกษาการหาสารประกอบของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้ HPLC-ICP-MS

3.2 สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษานี้ (สารเคมีที่ใช้ทุกชนิดเป็น AR grade)

- Nitric acid
- Hydrogen peroxide
- Sulfuric acid
- Toluene
- Hydrochloric acid
- Potassium Iodide
- Methanol

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือวิจัย

3.3.1 อุปกรณ์

- หลอดเหวี่ยง (Centrifuge tube) ชนิด Polypropylene ขนาด 15 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 25, 50, 100, 250 มิลลิลิตร
- ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 10, 50, 100 มิลลิลิตร
- กระจกนาฬิกา (Watch glass dish)
- กระดาษกรอง (Filter paper) Whatman เบอร์ 42/125 มิลลิเมตร
- กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 10, 100, 250 มิลลิลิตร
- กรวยกรอง (Funnel filter)
- ปิเปต (Pipette) ขนาด 1, 5, 10, 25 มิลลิลิตร
- พาสเจอร์ปิเปต (Pasteur pipette) ขนาด 1 มิลลิลิตร

3.3.2 เครื่องมือวิจัย

- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น IEC : SER 42900961
- เครื่องชั่งชนิดละเอียด Mattler : Pj3600
- เครื่อง Hydride Generation-Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS) Analytik Jena Nova 300 ต่อกับ Automated Hydride generation system AS52 ประมวลผลโดย Software Analytik Jena
- เครื่อง ICP-MS Spectromass 2000 (Spectro Analytical Instruments, Germany)
- เครื่อง HPLC Spectra Physica 400p
- เครื่อง Freeze dryer ของ LABCONCO : Model 77520
- pH meter ของ ORION:920A
- เครื่องเขย่า (Shaker)
- Homogenizer

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยนี้ มีขั้นตอนดังนี้

3.4.1 การเตรียมการทดลอง

3.4.1.1 การเตรียมสารละลาย

3.4.1.1.1 6 M Hydrochloric acid solution

ปิเปต 12 M Hydrochloric acid solution 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 500 มิลลิลิตร

3.4.1.1.2 9 M Hydrochloric acid solution

ปิเปต 12 M Hydrochloric acid solution 75 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4.1.1.3 3 % v/v Hydrochloric acid solution

ปิเปต 12 M Hydrochloric acid solution 8.2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4.1.1.4 50 % w/v Potassium iodide solution

ชั่ง Potassium Iodide 50 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4.1.1.5 การเตรียมสารมาตรฐานสารหนู (Standard solution)

3.4.1.1.5.1 Stock standard solution ความเข้มข้น 1,000, 100 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ mg/L

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 100 mg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1,000 mg/L, 10 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 1 mg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 100 mg/L , 1 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 100 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 10 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4.1.1.5.2 Working standard solution ความเข้มข้น 50, 40, 30, 20, 10, 5, 2 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ ng/L เตรียมได้ดังต่อไปนี้

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 50 μg /L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 5 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 40 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 4 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 30 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 3 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 20 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 2 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 10 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 1 mg/L, 1 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 5 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 100 μg/L, 5 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

- สารละลายมาตรฐานสารหนู 2 μg/L

ปิเปตสารละลายสต็อกสารหนู 100 μg/L, 2 มิลลิลิตร เติมด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4.2 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารหนูโดยใช้ HG-AAS

ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารหนูด้วย HG-AAS โดยคำนวณค่าต่าง ๆ ดังนี้ : Calibration Range, LOD (Limit of Detection), Accuracy และ Precision

3.4.2.1 การศึกษาช่วงการตรวจวัดปริมาณสารหนูที่เหมาะสม (Calibration range)

เพื่อหาช่วงของความเข้มข้นที่สามารถตรวจวัดสารหนูได้โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานสารหนู ความเข้มข้น 0, 2, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 μg/L (เตรียมตาม 3.4.1.1.5.2) นำมาวิเคราะห์ด้วย HG-AAS ที่ 193.7 นาโนเมตร แล้วนำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่าง Peak area กับความเข้มข้นของสารหนู และหาค่า Linear regression

3.4.2.2 การหา Limit of Detection (LOD)

เพื่อศึกษาความสามารถของเครื่องมือที่จะตรวจวัดสารหนูในระดับต่ำสุด โดยดูจากสัญญาณเครื่อง ทำได้โดยการใช้สารละลายแบลงค์มาวัดการดูดกลืนแสงของสารหนู (ประมวลผลโดยซอฟแวร์ของเครื่องเป็น Peak area) โดยใช้สภาวะการศึกษาตาม 3.4.2.1 ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง และวัด Peak area มาหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานมาคูณ3 แล้วบวกค่าเฉลี่ย และนำค่าที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของสารหนู จะได้ค่า Limit of detection

3.4.2.3 การหาค่าความแม่นยำ (Precision) ในรูปของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD)

เพื่อหาความแม่นยำของปริมาณสารหนูในตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเลทำได้โดยนำ Certifies Referrence Material (CRM) DORM-2 (Dogfish muscle) มาทำการวิเคราะห์ ซ้ำ 3 ครั้ง ภายใต้สภาวะการศึกษาตามข้อ 3.4.2.1 และดูค่าความแม่นยำโดยใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์

3.4.3 การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

วิธีการวิเคราะห์และความถูกต้องของวิธีโดยใช้ CRM (Certified Reference Material)

3.4.3.1 นำ CRM มาทำการหาปริมาณสารหนูรวม โดยย่อยด้วยกรดไนตริก กรดซัลฟุริก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.4.4.3

3.4.3.2 นำ CRM มาหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ โดยทำการสกัด ใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.4.4.4

3.4.3.3 การวัดปริมาณสารหนูในตัวอย่าง CRM และการคำนวณ ใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.4.4.6 และ 3.4.4.7

3.4.4 การศึกษาปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

3.4.4.1 การกำหนดสถานที่เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

กำหนดสถานที่เก็บตัวอย่างโดย นำตัวอย่างจากจังหวัดที่ติดทะเลซึ่งมีการผลิตอาหารหมักจากสัตว์ทะเล คือ สมุทรปราการ สมุทรสาคร ระยอง นครศรีธรรมราช พัทลุง ปัตตานี นราธิวาส

3.4.4.2 การเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

1. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลที่เก็บในตู้แช่แข็งที่ –20 องศาเซลเซียส ออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง

2. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย Homogenizer

3. วัด pH ของตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยนำมาเจือจางน้ำให้ได้ 50% w/v

4. นำมาทำ Freeze dried เพื่อหา %Moisture ใช้ในการคำนวณ

5. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลมาทำการย่อยเพื่อหาสารหนูรวมตามวิธี 3.4.4.3

6. นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลมาทำการสกัดเพื่อหาสารหนูอนินทรีย์ ตามข้อ 3.4.4.4

3.4.4.3 การวิเคราะห์หาสารหนูรวมในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

นำตัวอย่างอาหารทะเลหมักที่เป็นเนื้อเดียวกันประมาณ 1 กรัม มาทำการย่อยด้วย กรดไนตริก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกรดซัลฟุริก บนเตาจนสารละลายใส ตั้งทิ้งให้เย็น ทำให้เจือจางด้วย 3 % กรดไฮโดรคลอริก 10 มิลลิลิตร

3.4.4.4 การวิเคราะห์หาสารหนูอนินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

3.4.4.4.1 การสกัดตัวอย่างอาหารหมัก

1. นำผลิตภัณฑ์อาหารหมักมา Homogenized
2. นำตัวอย่างที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน 1 กรัม ใส่ขวดรูปชมพู่ (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
3. เติมกรดไฮโดรคลอริก 6 โมลต่อลิตร 50 มิลลิลิตร
4. เขย่า 30 นาที เซนติฟิวจ์ที่ 2,000 รอบ 10 นาที
5. นำสารละลายส่วนใสมา เติมกรดไฮโดรคลอริก 12 M 10 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 50 % 1.5 มิลลิลิตร
6. ตั้งทิ้งไว้มากกว่า 15 นาที เทใส่กรวยแยก ขนาด 100 มิลลิลิตร
7. เติมโทลูอีน 10 มิลลิลิตร เขย่า 10นาที ตั้งทิ้งให้แยกชั้น นำชั้นโทลูอีนใส่ในขวดรูปชมพู่ (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)
8. เติมกรดไฮโดรคลอริก 9 M 10 มิลลิลิตร และสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 50 % 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีชั้นโทลูอีน
9. เทใส่กรวยแยก ขนาด 100 มิลลิลิตร เขย่าแยกชั้นโทลูอีน
10. เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เขย่า 10 นาที แยกชั้นน้ำใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
11. นำชั้นน้ำที่ได้มาทำการย่อย ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที และเติมกรดไนตริก 30 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ ตลอดคืนที่อุณหภูมิห้อง
12. ทำการย่อยโดยให้ความร้อนบนเตาและค่อยๆเติมกรดไนทริคเข้มข้นลงไปทีละย้อยจนสารละลายใส และปรับให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตรด้วย 3 % กรดไฮโดรคลอริก จากนั้นนำมาไปทำการวิเคราะห์หาสารหนู

3.4.4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของสารหนูในกระบวนการผลิตอาหารหมัก

นำอาหารหมัก เช่น น้ำปลา และไตปลา ที่ระยะต่างๆมาทำการหาสารหนูรวมและสกัดสารหนูอนินทรีย์และเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสารหนูของแต่ละระยะ

3.4.4.5.1 การเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างอาหารหมักระยะต่างๆ มาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยการ Homogenized เพื่อหาปริมาณสารหนูรวม แล้วย่อยด้วยกรด และใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.4.4.3

2. นำตัวอย่างอาหารหมักระยะต่างๆ ที่คนให้เป็นเนื้อเดียวกันมาทำการสกัด แยกสารหนูอนินทรีย์ออกจากสารหนูอินทรีย์ใช้หลักการเดียวกับข้อ 3.4.4.4.1

3.4.4.6 การวัดปริมาณสารหนู ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยมีสภาวะการใช้เครื่องดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สภาวะการใช้เครื่อง HG-AAS

Parameter	As
Sample load time (วินาที)	20
Pump speed	6
Argon flow rate (ลิตร/ชั่วโมง)	12
Flow rate (มิลลิลิตร/นาที)	55
Delay time (วินาที)	5
Integration time (วินาที)	55
Reaction time (นาที)	25
HCL current (มิลลิแอมป์)	8
As wavelength (นาโนเมตร)	193.7
Slit (นาโนเมตร)	1.2
Cell Temperature (°ซ.)	950
Measurement	Peak area

การวัดปริมาณสารหนูรวม และสารหนูอนินทรีย์ ทำได้โดยนำสารละลายที่ได้ มาทำการย่อย ตามข้อ 3.4.4.3 และ ข้อ 3.4.4.4 ตามลำดับ จนสารละลายใส และนำมาทำการวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง HG-AAS แล้วนำผลที่ได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารหนู ที่ความเข้มข้น 2, 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครกรัม/ลิตร จะได้ปริมาณสารหนู

3.4.4.6 การคำนวณหาปริมาณสารหนู

$$\text{ปริมาณสารหนู} = \frac{Q \times V}{W} \quad \text{mg/kg}$$

โดย Q = ความเข้มข้นของสารหนู (ไมโครกรัม/ลิตร) อ่านจากกราฟมาตรฐาน

V = ปริมาณทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักเป็นกรัมของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

3.4.5 การหาสารประกอบของสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล

3.4.5.1 การสกัดตัวอย่าง

1. นำผลิตภัณฑ์อาหารหมักมา Homogenized
2. นำตัวอย่างที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน 5 กรัม ชั่งใส่หลอดเซนติฟิวจ์
3. เติมส่วนผสม 1:1 ของ Methanol/Water 10 มิลลิลิตร
4. นำมาสกัดโดยการเขย่า และนำไป Centrifuge 10 นาที 5,000 รอบ/นาที
5. เทสารสกัดใส่ขวดก้นกลม
6. ทำซ้ำ4 ครั้ง ข้อ 3– 5
7. นำสารสกัดที่อยู่ในชั้นน้ำนำมารวมกัน ทำให้แห้งโดยเครื่อง Rotary evaporated ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
8. ละลายสารที่เหลือในขวดทำให้มีปริมาตร 10 มิลลิลิตร ด้วย MeOH

3.4.5.2 การวิเคราะห์ชนิดของสารหนูอินทรีย์ ด้วยเครื่อง HPLC-ICP-MS

ทำการตรวจวัดที่คณะเคมีวิเคราะห์สิ่งแวดล้อม Aberdeen University, Scotland, UK ได้รับการอนุเคราะห์จาก Dr. Jorg Feldmann โดยมีสภาวะการวิเคราะห์ในส่วนของ ICP-MS และ HPLC ดังที่แสดงไว้ในตาราง 3.2

ตารางที่ 3.2 สภาวะของเครื่อง ICP-MS

ICPMS: Spectromass 2000 (Spectro Analytical Instruments, Germany)		
ICP	Plasma power	1350
	Reflected power	<5
	Cooling gas flow	16 ลิตร/นาที
	Auxiliary gas flow	1 ลิตร/นาที
	Nebuliser type	Meinhard C-type
	Nebuliser gas flow	0.75-0.95 ลิตร/นาที
	Spray chamber	Cyclonic, water cooled 15°ซ.
	Sample uptake	0.7-1.5 มิลลิลิตร/นาที
MS	Sampler	Ni (เส้นผ่านศูนย์กลาง orifice 1 มิลลิเมตร)
	Skimmer	Ni (เส้นผ่านศูนย์กลาง orifice 0.8 มิลลิเมตร)
	Dwell time	0.2 วินาทีสำหรับ HPLC ที่ 75, 77 และ121 m/z สำหรับ HPLC
Detector	Secondary Electron Multiplier (SEM)	-2400 ถึง -3000 โวลต์

ต่อ HPLC (Spectra Physica 400p) เข้าโดยตรงกับ ICP-MS (Spectromass 2000) ที่ตำแหน่ง cyclonic spray chamber สารละลายที่ผ่านการสกัดจะถูกฉีดเข้าเครื่อง HPLC 20 ไมโครลิตร คอลัมน์ HPLC และตัวทำละลายเครื่องที่ (mobile phase) ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3.3

ตาราง 3.3: คอลัมน์ Anion และ cation exchange และตัวทำละลายเคลื่อนที่

คอลัมน์	ตัวทำละลายเคลื่อนที่
Anion exchange column: Hamilton PRP X-100 (250 mm x 4.1 mm, 5 μm)	30 mM H_3PO_4,pH 6, อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที
Cation-exchange column: Supelcosil SCX (250 mm x 4.1 mm, 5 μm)	20 mM พิริดีน, pH 2.5, อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที

บทที่ 4

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

การศึกษาปริมาณของสารหนูในอาหารหมักจากสัตว์ทะเล แสดงผลการวิเคราะห์ได้ตามลำดับดังนี้

4.1 ผลศึกษาลักษณะทั่วไปของอาหารหมัก pH และปริมาณน้ำในอาหารหมัก

4.2 ผลศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยใช้ HG-AAS

4.3 ผลของการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวม ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้ HG-AAS

4.4 ผลของการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้ เทคนิคการสกัด และตรวจปริมาณสารหนูด้วย HG-AAS

4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารหนูโดยกระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในน้ำปลา และไตปลา

4.6 ผลการศึกษาสารประกอบของสารหนูในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้เทคนิคการแยกด้วย HPLC-ICP-MS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.1 ผลการศึกษาลักษณะทั่วไปของอาหารหมัก pH และปริมาณน้ำในอาหารหมัก

ในการศึกษานี้ เป็นการศึกษาลักษณะทั่วไปของอาหารหมักชนิดต่าง ๆ โดยหาปริมาณน้ำ (%) และ pH ผลจากการศึกษา ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 การวิเคราะห์ลักษณะของอาหารหมัก การหา% น้ำ และ pH ของอาหารหมัก

ตัวอย่าง	ลักษณะ	%น้ำ	pH
น้ำปลานครศรีธรรมราช	ของเหลวใสสีน้ำตาลแดง	68.90	6.0
น้ำปลาระยอง	ของเหลวใสสีน้ำตาลแดง	69.55	5.7
กะปิปลานครศรีธรรมราช	สารเปียกเนื้อหยาบสีน้ำตาล	47.09	6.0
กะปิกุ้งระยอง	สารเปียกเนื้อละเอียดสีน้ำตาลอมแดง	47.52	7.2
กะปิกุ้งโรงงานที่ระยอง	สารเปียกเนื้อละเอียดสีน้ำตาล	44.32	7.0
กะปิกุ้งสมุทรปราการ	สารเปียกเนื้อละเอียดสีน้ำตาลแดง	46.58	7.1
กะปิกุ้งสมุทรสาคร	สารเปียกเนื้อละเอียดสีเหลือง	45.76	7.6
ไตปลานครศรีธรรมราช	ของเหลวน้ำข้นเหนียวสีตาล	59.68	5.1
ไตปลาพัทลุง	ของเหลวน้ำข้นเหนียวสีตาล	57.91	5.2
น้ำบูดูปัตตานี(สายบุรี)	ของเหลวขุ่นสีน้ำตาล	62.32	5.7
น้ำบูดูปัตตานี(แหลมโพธิ์)	ของเหลวขุ่นสีน้ำตาล	64.33	5.5
น้ำบูดูนราธิวาส	ของเหลวขุ่นสีน้ำตาล	62.81	5.1

น้ำปลามีลักษณะเป็นของเหลวใสสีน้ำตาลแดง มีปริมาณน้ำ 68.9-69.5 % และ pH 5.7-6 การที่น้ำปลามีสภาพค่อนข้างเป็นกรดอ่อนๆ เนื่องจากปฏิกิริยาดีอะมิเนชั่นของกรดอะมิโน โดยหลังทำปฏิกิริยาแล้วจะทำให้ปริมาณกรดเพิ่มสูงขึ้น ค่า pH จึงลดลง

ไตปลาและน้ำบูดูมีปริมาณน้ำอยู่ในช่วง 57.9-64.3 % และ pH 5.1-5.7 ซึ่งมีความเป็นกรดสูงกว่าน้ำปลาเล็กน้อย ในขณะที่กะปิส่วนใหญ่ทำจากกุ้งมีลักษณะเป็นสารเปียก (Paste) มีปริมาณน้ำน้อยที่สุดคือ 44.3-47.5% และมี pH อยู่ในช่วง 6-7.6

ตัวอย่างอาหารหมักมาจากวัตถุดิบลักษณะต่าง ๆ กัน เช่น ปลาตัวเล็ก, เคย (กุ้ง) และเครื่องในปลา ผ่านกระบวนการหมักแบบใช้ออกซิเจน และมีเกลือเป็นส่วนประกอบปริมาณสูงอยู่ในสภาวะค่อนข้างเป็นกลาง pH 5.1-6.0 กระบวนการเตรียมอาหารหมักมีความคล้ายคลึงกัน ข้อมูลที่ได้จะนำไปประกอบการอธิบายสารหนูอินทรย์และอนินทรีย์ที่พบในตัวอย่าง

4.2 ผลศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์โดยใช้ HG-AAS

ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารหนูด้วย HG-AAS โดยวิเคราะห์จากการคำนวณค่า Accuracy, Precision, LOD (Limit of Detection)

4.2.1 ช่วงการตรวจวัดปริมาณสารหนูที่เหมาะสมโดยใช้ HG-AAS

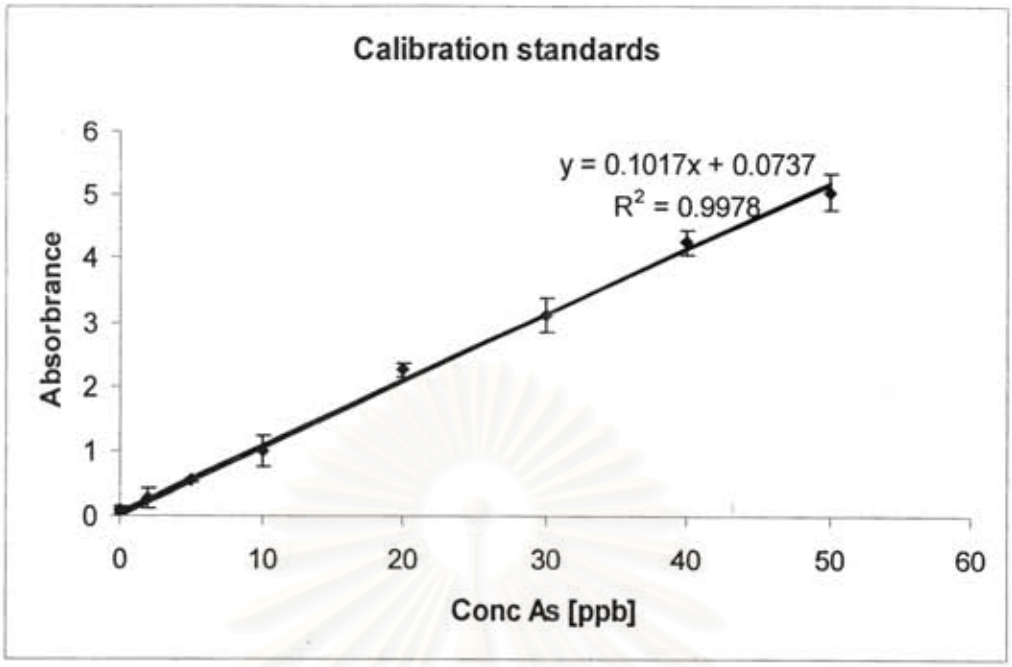
การศึกษานี้เพื่อหาช่วงความเข้มข้นของสารหนูที่สามารถตรวจวัดได้โดยใช้ HG-AAS พบว่า ที่ความเข้มข้นจาก 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร (ตารางที่ 4.2) ได้กราฟเป็นเส้นตรง มีค่า R^2= 0.9978 แสดงดังรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารหนูกับ Peak area

ครั้งที่	0 μg/L	2 μg/L	5 μg/L	10 μg/L	20 μg/L	30 μg/L	40 μg/L	50 μg/L	R^2
1	0.0245	0.0311	0.5270	0.5880	2.1300	2.8200	4.1400	5.1200	0.9917
2	0.1400	0.3680	0.5690	1.1100	2.3100	3.1200	4.1400	4.7800	0.9950
3	0.02366	0.3600	0.5212	1.1600	2.3740	3.5240	4.5980	5.4750	0.9977
4	0.0792	0.2080	0.5890	1.0200	2.150	2.9200	4.2200	5.0900	0.9978
5	0.1400	0.3680	0.5690	1.1100	2.310	3.1200	4.1400	4.7800	0.9950
AV	0.0814	0.2670	0.5550	0.9976	2.2548	3.1008	4.2476	5.0490	0.9978
SD	0.0579	0.1484	0.0294	0.2344	0.1082	0.2698	0.1989	0.2884	0.0024

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ppb หรือ μg/L

รูปที่ 4.1 แสดงสมการเส้นตรง ของความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้นของสารหนูกับ Peak area (กราฟแสดงแกน y เป็น absorbance) จากตารางที่ 4.3

4.2.2 Limit of Detection (LOD)

การศึกษานี้เป็นการหาความเข้มข้นต่ำสุดของสารหนูที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่อง HG-AAS ผลการวิเคราะห์โดยใช้สภาวะการศึกษาตาม 3.4.2.1 โดยทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง และวัด Peak area และนำมาหาค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นนำค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานคูณสาม (3SD) และนำค่าที่ได้มาคำนวณความเข้มข้นของสารหนู จะได้ค่า Limit of Detection ดังแสดงในตารางที่ 4.3

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ค่า Limit of Detection (LOD)

สมการเส้นตรง	y = 0.1017x + 0.0730
การดูดกลืนของแบลงค์ (n = 5)	0.0814
SD	0.0579
3SD	0.1737
Blank + $3SD_{Blank}$	0.2551
LOD (μg/L)	= (0.2551-0.0730)/0.1017 = 1.79

จากตารางที่ 4.4 สามารถคำนวณค่า LOD ได้ โดยนำค่า Peak area ที่คำนวณได้เท่ากับ 0.2551 มาคำนวณหาปริมาณสารหนูเทียบกับสารมาตรฐาน โดยใช้สมการ y = 0.1017x + 0.073 จากรูปที่ 4.1 จะได้ปริมาณสารหนูเท่ากับ 1.79 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นต่ำสุดของสารหนูที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่อง HG-AAS เท่ากับ 1.79 ไมโครกรัมต่อลิตร

4.2.3 ความแม่นยำ และความถูกต้องของสารหนูรวม

การศึกษานี้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีโดยใช้ CRM DORM-2 (Dogfish muscle) (Certified Reference Material) วิเคราะห์หาสารหนูรวม พบว่าค่าความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์คิดเป็นค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ % แสดงผลการวิเคราะห์ไว้ในตารางที่ 4.4 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.4 ค่าความแม่นยำและความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารหนู

ซ้ำที่	ปริมาณสารหนู (mg/kg)
1	19.016
2	17.540
3	17.269
ค่าเฉลี่ย	17.941
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.94
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD)	(0.94 × 100) / 17.941 = 5.23

mg/kg : มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การศึกษานี้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้หาปริมาณสารหนูโดยนำตัวอย่าง CRM DORM-2 (Dogfish muscle) ค่า Certified เท่ากับ 18 ±1.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาทำการวิเคราะห์พบว่ามีความถูกต้อง 99.4% และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 5.23 % เมื่อนำค่าที่ได้มาประเมินด้วยสถิติ Student T-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4.2.4 การศึกษาความใช้ได้ของวิธีการสกัดเพื่อแยกสารหนูอินทรีย์กับสารหนูอนินทรีย์

วิธีนี้การสกัดสารหนูอินทรีย์ทำตาม 3.4.4.4.1 โดยนำ CRM DORM-2 ซึ่งมีสารหนูรวม 18 ±1.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาทำการทดลอง และเปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่ได้กับงานวิจัยของผู้อื่น ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบวิธีที่ใช้ในการตรวจวัดสารหนูอินทรีย์เทียบกับวิธีที่ได้มีการรายงานไว้โดยใช้ DORM-2 (Dogfish muscle)

งานวิจัย	สารหนูอินทรีย์ Certified value 18±1.1 mg/kg	วิธีที่ใช้
งานวิจัยครั้งนี้	15.98	Extract –HG-AAS
McSheehy *et. al.*, 2003	16.6	HPLC-ICP-MS
Tanabe *et. al.*, 2002	18.4	Extract –HG-AAS

การศึกษานี้ใช้วิธีการสกัดสารหนูอินทรีย์ด้วยกรด และใช้ทอลูอีนแยกสารหนูอนินทรีย์ออก การคำนวณหาสารหนูอินทรีย์ทำได้โดยการนำปริมาณสารหนูรวมที่ได้ในวิธี 3.4.4.3 (17.94 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากตารางที่ 4.5) มาลบออกจากสารหนูอนินทรีย์ตามวิธี 3.4.4.1 (1.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากตาราง4.7) จะได้สารหนูอินทรีย์ 15.98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่พบสารหนูอนินทรีย์ ซึ่งคิดเป็นสารหนูอินทรีย์ 89.1 %

สามารถนำเทคนิคนี้มาใช้ในการหาสารหนูอินทรีย์ในตัวอย่างอาหารทะเลหมักได้ อย่างไรก็ตาม การสกัดสารหนูอินทรีย์ออกมาควรเพิ่มความระมัดระวังการสูญเสียของสารหนูอนินทรีย์ในกระบวนการสกัด

4.2.5 ผลการวิเคราะห์หาค่าความแม่นยำ ของการสกัดสารหนู

การศึกษานี้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีโดยใช้ CRM DORM-2 ในการวิเคราะห์หาสารหนูอนินทรีย์ พบว่าค่าความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ % แสดงผลการวิเคราะห์ไว้ในตารางที่ 4.6 ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์สารหนูอนินทรีย์

ซ้ำที่	ปริมาณสารหนูอนินทรีย์ (mg/kg)
1	1.966
2	1.960
3	1.957
ค่าเฉลี่ย	1.961
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.0045
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (RSD)	(0.0045 × 100) / 1.961 = 0.229

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

การศึกษานี้เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ ในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยนำตัวอย่าง CRM DORM-2 (Dogfish muscle) มาทำการวิเคราะห์ โดยใช้วิธีที่ระบุไว้ใน 3.4.4.4.1 พบปริมาณสารหนูอนินทรีย์ 1.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 0.229 %

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารหนูด้วย HG-AAS โดยวิเคราะห์จากการคำนวณค่า Accuracy, Precision, LOD (Limit of Detection) สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

ความเข้มข้นของสารหนูที่สามารถตรวจวัดได้โดยใช้เทคนิค HG-AAS พบว่าสามารถทำการตรวจวัดได้กราฟเส้นตรงของสารหนูที่ความเข้มข้นจาก 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่า R^2= 0.9978 ขีดความสามารถในการวัดปริมาณสารหนู (LOD) คิดเป็น 1.79 ไมโครกรัมต่อลิตร การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาการวิเคราะห์ที่ระดับต่ำสุดด้วยการเติมตัวอย่างสารหนู (spiked arsenic) เนื่องจากโดยธรรมชาติตัวอย่างปลา จะมีการสะสมของสารหนูที่ค่อนข้างสูง

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีที่ใช้หาปริมาณสารหนูรวมในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยนำตัวอย่าง CRM DORM-2 (Dogfish muscle) ซึ่งมีสารหนูรวม 18 ±1.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาทำการวิเคราะห์ พบว่าวิธีการศึกษานี้วิเคราะห์ได้ปริมาณสารหนูรวม 17.9±0.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม หรือมีความถูกต้อง 99.4% และมีความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 5.23 % การสกัดสารหนูอินทรีย์จาก CRM DORM-2 (Dogfish muscle) พบสารหนูอินทรีย์ 15.98 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และสารหนูอนินทรีย์ 1.96 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

วิธีการสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถนำมาใช้ในการแยกสารหนูอินทรีย์ออกจากสารหนูอนินทรีย์ในอาหารทะเลได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวมในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้ HG-AAS

การวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลพบสารหนูปนเปื้อนในปริมาณค่อนข้างสูง ดังแสดงในตารางที่ 4.7 และตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล (น้ำหนักเปียก)

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	สารหนูรวม มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)	สารหนูอินทรีย์ มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)	สารหนูอนินทรีย์ มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)	% สารหนูอินทรีย์
น้ำปลา	นครศรีธรรมราช	0.34±0.08	0.27±0.04	0.07±0.01	79.4
น้ำปลา	ระยอง	0.69±0.02	0.64±0.13	0.05±0.01	92.8
กะปิกุ้ง	ระยอง	3.43±0.36	3.01±1.22	0.42±0.17	87.9
กะปิกุ้ง	โรงงานระยอง	2.05±0.13	1.67±0.09	0.38±0.02	81.5
กะปิกุ้ง	สมุทรปราการ	1.45±0.12	1.23±0.22	0.22±0.04	84.8
กะปิกุ้ง	สมุทรสาคร	1.52±0.01	1.21±0.27	0.31±0.07	79.6
น้ำบูดู	ปัตตานี(สายบุรี)	0.92±0.002	0.83±0.09	0.09±0.01	90.2
น้ำบูดู	ปัตตานี(แหลมโพธิ์)	0.34±0.04	0.27±0.04	0.07±0.01	79.4
น้ำบูดู	นราธิวาส	1.61±0.05	1.57±0.39	0.04±0.01	97.5
ไตปลา	นครศรีธรรมราช	3.26±0.37	3.12±0.22	0.14±0.01	95.7
ไตปลา	พัทลุง	1.22±0.05	1.13±0.25	0.09± 0.02	92.6

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

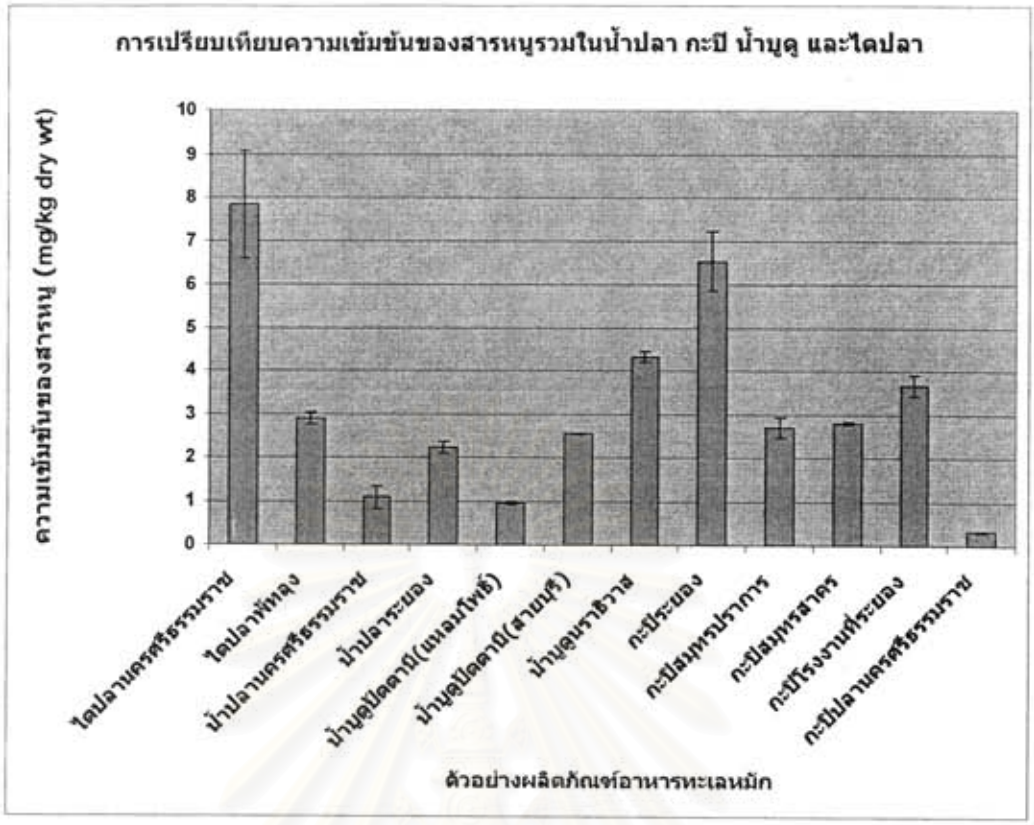
ตารางที่ 4.8 ปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล (น้ำหนักแห้ง)

ตัวอย่าง	แหล่งที่มา	สารหนูรวม มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)	สารหนู อินทรีย์ มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)	สารหนูอนินทรีย์ มิลลิกรัม/ กิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)	% สารหนู อินทรีย์
น้ำปลา	นครศรีธรรมราช	1.10±0.25	0.87±0.19	0.23±0.05	79.0
น้ำปลา	ระยอง	2.26±0.14	2.11±0.42	0.15±0.03	93.4
กะปีกุ้ง	ระยอง	6.53±0.68	5.74±2.33	0.79±0.32	87.9
กะปีกุ้ง	โรงงานระยอง	3.68±0.24	2.99±0.17	0.69±0.04	81.3
กะปีกุ้ง	สมุทรปราการ	2.71±0.22	2.3±0.39	0.41±0.07	84.9
กะปีกุ้ง	สมุทรสาคร	2.80±0.03	2.23±0.47	0.57±0.12	79.6
น้ำบูดู	ปัตตานี(สายบุรี)	2.57±0.002	2.33±0.19	0.24±0.02	90.7
น้ำบูดู	ปัตตานี(แหลมโพธิ์)	0.91±0.09	0.73±0.16	0.18±0.04	80.2
น้ำบูดู	นราธิวาส	4.33±0.13	4.21±0.70	0.12±0.02	97.2
ไตปลา	นครศรีธรรมราช	8.08±0.91	7.74±0.46	0.34±0.02	95.8
ไตปลา	พัทลุง	2.91±0.11	2.7±0.51	0.21±0.04	92.8

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวมในตัวอย่างน้ำปลา กะปี น้ำบูดู และไตปลา แสดงไว้เป็นกราฟ ดังรูปที่ 4.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

รูปที่ 4.2 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนู (คิดเป็นน้ำหนักแห้ง) ในตัวอย่างน้ำปลา กะปี น้ำบูดู และไตปลา (n = 3)

จากกราฟเมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้งแล้วพบว่า ปริมาณสารหนูในไตปลาซึ่งทำจากเครื่องในปลา โดยใช้ปลาตัวใหญ่มีปริมาณในช่วง 3.0-7.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งพบว่ามีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารหนูในน้ำปลา และน้ำบูดู ซึ่งทำจากปลาชนิดเดียวกัน คือปลากะตัก (ปลาเล็ก) ซึ่งใช้ปลาทั้งตัวหมัก จะมีปริมาณสารหนูในช่วง 0.9-4.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และสารหนูในกะปีกุ้งมีปริมาณในช่วง 2.7-6.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งพบว่ามีปริมาณค่อนข้างสูงกว่าในน้ำปลา และ น้ำบูดู แต่ต่ำกว่าไตปลา

จากการเปรียบเทียบการสะสมของสารหนูในไตปลา น้ำปลา น้ำบูดู และกะปี พบว่าปริมาณสารหนูมีการสะสมในเครื่องใน (ปลาใหญ่) มากกว่า กุ้ง มากกว่า ปลากะตัก ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าไตปลาที่ทำจากเครื่องในปลา ที่เป็นปลาใหญ่ ประกอบด้วยตับ ไต กระเพาะและลำไส้ เป็นแหล่งสะสมสารพิษในสัตว์ ทำให้พบสารหนูในปริมาณค่อนข้างสูง ส่วนกุ้งมีลักษณะการสะสมปริมาณของสารหนูมากกว่าในปลากะตัก ทั้งนี้เนื่องจากกะปีมีลักษณะเป็นสารเปียก เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำปลาที่มีน้ำประกอบเป็นส่วนใหญ่ทำให้ปริมาณสารหนูในน้ำปลาพบต่ำกว่าในกะปี ซึ่งสอดคล้อง

กับงานวิจัยโดย Montoro และคณะ., 2001 พบว่า กุ้งมีปริมาณการสะสมสารหนูในช่วง 1.24-102 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ค่อนข้างสูงกว่าในปลากะตัก ซึ่งมีปริมาณการสะสมสารหนูในช่วง 2.73-36.87 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)

เมื่อมองในภาพรวมจากแหล่งที่มาของตัวอย่างสัตว์ทะเลที่ใช้ในกระบวนการหมัก พบว่า ตัวอย่างที่ได้จาก แหล่งอุตสาหกรรม จังหวัดระยอง จังหวัดสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรปราการ มีปริมาณสารหนูค่อนข้างสูง เนื่องจาก ชายฝั่งทะเลของจังหวัดเหล่านี้ เช่น ระยอง เป็นแหล่งอุตสาหกรรมหนัก มีแหล่งนิคมขนาดใหญ่ (นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด) มีที่ตั้งอยู่บริเวณชายฝั่งทะเลในจังหวัดระยอง อุตสาหกรรมส่วนใหญ่ในนิคมเป็น อุตสาหกรรมปิโตรเคมี 42 % และอุตสาหกรรมปุ๋ยสารเคมี 30 % (การนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย, 2543) จากตารางที่ 2.3 และตารางที่ 2.4 กิจกรรมเหล่านี้อาจส่งผลต่อระบบนิเวศน์ทางทะเลที่เป็นแหล่งรองรับน้ำทิ้งต่างๆ

กรณีทางจังหวัดสมุทรปราการ นับเป็นจังหวัดที่มีโรงงานอุตสาหกรรมมากที่สุด (กรมควบคุมมลพิษ, 2545) และมีอุตสาหกรรมหลากหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมพลาสติก อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ อุตสาหกรรมกลึง เชื่อมโลหะ เป็นต้น อีกทั้งยังมีเขตการประกอบอุตสาหกรรมฟอกหนัง แต่สารหนูที่ได้จากตัวอย่างกะปิกลับพบในปริมาณที่ไม่สูงมาก และค่าที่ได้ใกล้เคียงกับจังหวัดอื่น ๆ ยกเว้น กะปิกุ้ง 1 ตัวอย่างที่ผลิตโดยชาวบ้านที่อาศัยบริเวณชายฝั่งทะเล มีสารหนูสูง ซึ่งกะปิกุ้งนี้ได้จากการผลิตในจังหวัดระยอง โดยแหล่งที่มานั้นมาจากเคยที่หาได้จากทะเลในแหล่งนั้น ในขณะที่กะปิกุ้งระยองอีกตัวอย่างหนึ่งเป็นตัวอย่างที่ผลิตจากโรงงานที่ทันสมัย ซึ่งอาจใช้วัตถุดิบเคยจากหลากหลายแหล่ง นอกจากนี้ระบบการผลิตกะปิกุ้งจากโรงงานขนาดใหญ่ อาจจะมีระบบการผลิตที่ถูกสุขอนามัย ทั้งนี้ควรทำการสำรวจระบบการผลิตจากโรงงาน เปรียบเทียบกับการผลิตแบบชาวบ้าน เพื่อหาทางช่วยเหลือให้การผลิตมีการพัฒนาที่ดีขึ้น

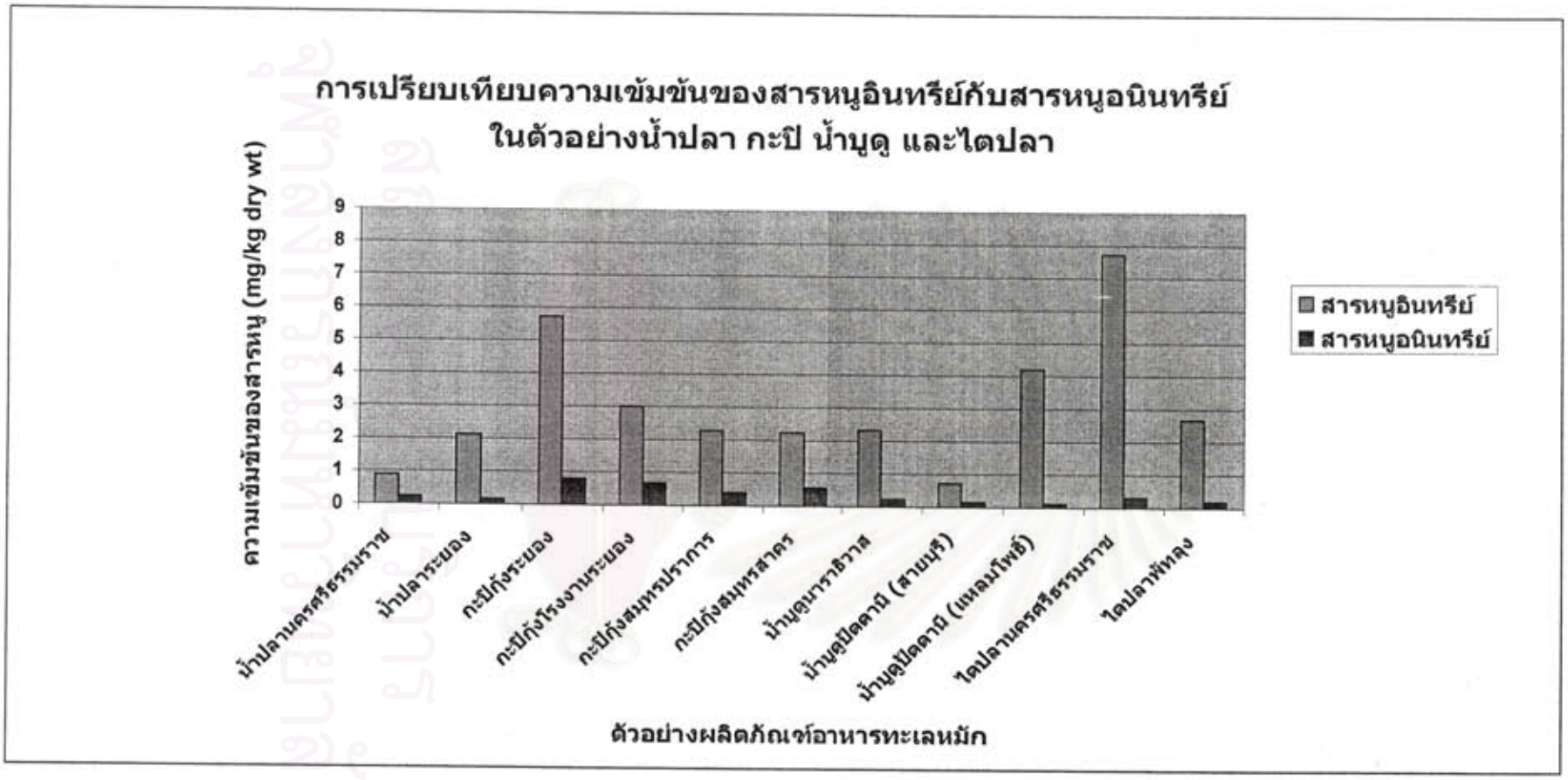
ตัวอย่างกะปิที่ได้จากจังหวัดสมุทรปราการมีปริมาณสารหนูใกล้เคียงกับจังหวัดสมุทรสาคร และกะปิกุ้งโรงงาน จากจังหวัดระยอง ซึ่งกล่าวได้ว่ากะปิโดยทั่วไปจากแหล่งอุตสาหกรรมมีปริมาณสารหนู 1.4-3.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)

ในแหล่งพื้นที่ทั่วไป ประกอบด้วย นราธิวาส ปัตตานี นครศรีธรรมราช และพัทลุง ซึ่งมีอุตสาหกรรมน้อย และประชากรส่วนใหญ่มีอาชีพเกษตรกรรม แนวโน้มการสะสมปริมาณสารหนูในสัตว์ทะเลควรจะน้อยด้วย แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างปริมาณสารหนูในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลหมักในแหล่งอุตสาหกรรม เปรียบเทียบกับแหล่งทั่วไป พบว่า ปริมาณสารหนูไม่ได้แตกต่างเด่นชัด คือ 0.3-2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ยกเว้น กะปิกุ้งในจังหวัดระยอง

ส่วนจังหวัดนครศรีธรรมราชมีปริมาณสารหนูรวมในไตปลาสูง สาเหตุอาจเนื่องมาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ในอดีตมีปัญหาการแพร่กระจายของสารหนู จากการทำเหมืองแร่ดีบุกเป็นระยะเวลาติดต่อกันมานานมากกว่า 50 ปี ที่อำเภอร่อนพิบูลย์ ซึ่งสารหนูที่อยู่ในรูปอาซิโนไพไรต์ (FeAsS) ในสารแร่ดีบุกบริเวณเขาสรวงจันทร์และเขาร่อนนา ปัจจุบันเหมืองแร่เหล่านี้ ได้กลายสภาพเป็นแหล่งน้ำขังตลอดปี อาจถูกชะล้างโดยน้ำฝนจากกระบวนการตามธรรมชาติ และไหลลงสู่ห้วยร่อนนา ผ่านชุมชนตำบลร่อนพิบูลย์ และไหลออกสู่ทะเลที่อำเภอปากพนัง จังหวัดนครศรีธรรมราช ทำให้การสะสมโลหะมากในปลาใหญ่ โดยเฉพาะเครื่องในปลา

4.4 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้เทคนิคการสกัด และตรวจประมาณสารหนูด้วย HG-AAS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.3 แสดงการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์และสารหนูอินทรีย์ในตัวอย่างน้ำปลา กะปี น้ำบูดู และ ไตปลา (ข้อมูลตารางที่ 4.8)

จากผลการวิเคราะห์ตามรูปที่ 4.3 พบว่าปริมาณสารหนูอินทรีย์ต่อปริมาณสารหนูรวม คิดเป็น 79.7-97.2 % ซึ่งปริมาณสารหนูอนินทรีย์ จากการศึกษานี้พบว่าไม่แตกต่างกันมาก แม้ว่าในไตปลาที่พบปริมาณสารหนูรวมค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น แต่เมื่อพิจารณาถึงรูปสารหนูอนินทรีย์ ซึ่งเป็นรูปที่เป็นอันตรายกลับพบว่ามีสารหนูอนินทรีย์ค่อนข้างต่ำ คือ 0.09-0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) จึงสรุปได้ว่าแม้ว่าสารหนูสะสมมากในเครื่องในปลาขนาดใหญ่ แต่ขบวนการเมตาบอลิซึมของปลาในธรรมชาติจะเปลี่ยนสารหนูให้อยู่ในรูปสารหนูที่ไม่เป็นอันตราย ยกเว้นถ้ามีการปนเปื้อนของสารหนูในทะเลเป็นสารหนูอนินทรีย์ที่มีปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบนิเวศน์จะทำการเปลี่ยนรูปได้ทัน จะเกิดการสะสมในรูปของสารหนูอนินทรีย์ดังที่พบในตัวอย่างจากแหล่งอุตสาหกรรม ในการศึกษานี้พบในช่วง 0.05-0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)

เมื่อพิจารณาค่ามาตรฐานการยอมรับปริมาณสารหนู (ในรูปสารหนูอนินทรีย์) ที่ยอมให้มีได้สูงสุดในตัวอย่างอาหารทะเลที่กำหนดไว้เป็น 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) (British Food Manufacturing Industries Research Association, 1993) พบว่าอาหารทะเลหมักมีปริมาณสารหนูรวมคิดเป็น 0.3-3.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และคิดเป็นสารหนูอนินทรีย์ 0.04-0.42 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)

ส่วนใหญ่การตรวจวิเคราะห์จะรายงานผลในรูปสารหนูรวมเท่านั้น จากการศึกษานี้พบสารหนูรวมในอาหารทะเลหมักสูงถึง 3.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) จะทำให้ค่าการปนเปื้อนของสารหนูที่พบในอาหารประเภทนี้ไม่ผ่านเกณฑ์กำหนด ทั้งนี้ยังไม่มีมาตรฐานใดกำหนดค่าสารหนูที่ยอมให้มีได้ ในอาหารหมักจากทะเล เนื่องจากอาหารทะเลหมักมีการบริโภคที่จำกัดเพียงในอาเซียนเท่านั้น ดังนั้นการกำหนดค่ามาตรฐานที่ยอมให้มีได้ของสารหนูในอาหารหมักจากทะเลในอนาคตควรให้สอดคล้องกับปริมาณสารหนูที่พบซึ่งอาจต้องกำหนดสูงถึง 3.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก)

เมื่อพิจารณาถึงความปลอดภัยของผู้บริโภคอาหารทะเลหมัก ค่าประเมินโดย WHO ที่กำหนดค่าการยอมรับของสารหนูที่สามารถรับเข้าสู่ร่างกาย ต่อ 1 สัปดาห์ (Provisional Tolerable Weekly Intake , PTWI) กำหนดไว้ที่ 15 ไมโครกรัมของสารหนูอนินทรีย์ ต่อ กิโลกรัมของน้ำหนักร่างกาย เมื่อนำมาคำนวณโดยใช้อาหารทะเลหมัก ประเมินโดยใช้การบริโภคน้ำปลาเป็นตัวอย่างการคำนวณ เนื่องจากน้ำปลาเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้มากเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์อื่น โดยคนไทยบริโภคน้ำปลาประมาณ 20 มิลลิลิตรต่อวัน คิดเป็นปริมาณสารหนูที่รับเข้า โดยใช้ค่าสารหนูที่ได้จากน้ำปลาระยอง 0.69 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เมื่อเปลี่ยนเป็นหน่วยปริมาตร (น้ำปลามีค่าความหนาแน่น เท่ากับ 1.2 กรัมต่อมิลลิลิตร)

ดังนั้นคิดเป็นสารหนูในน้ำปลาเป็น 0.69x1.2 = 0.828 มิลลิกรัมต่อลิตร คิดเป็นปริมาณสารหนูที่รับเข้าสู่ร่างกาย 0.828 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร × 20มิลลิลิตร ต่อ น้ำหนักคน 60 กิโลกรัม ×7 วัน = 1.93 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อสัปดาห์ นับว่าสารหนูเข้าสู่ร่างกายจากการบริโภคอาหารทะเลหมักต่ำกว่าค่าที่กำหนดโดย WHO มาก ดังนั้นการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากนี้สารหนูที่อยู่ในรูปสารหนูอินทรีย์ที่พบในอาหารทะเลเป็นส่วนใหญ่ (>70%) จะถูกขับออกทางปัสสาวะหลังจากที่เข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ยืนยันได้ว่าการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัย อย่างไรก็ตามในความเป็นจริง สารหนูที่รับเข้าสู่ร่างกายอาจมาจากแหล่งอื่นๆ ได้อีก โดยแหล่งที่พบมากคือ อาหารทะเล ผู้บริโภคจึงควรเลือกรับประทานอย่างถูกต้อง บริโภคอาหารทะเลสลับกับอาหารแหล่งอื่นด้วย

การวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล โดยใช้ HG-AAS สรุปผลการทดลองได้ดังนี้

การศึกษาปริมาณสารหนูในอาหารหมักจากทะเลพบในช่วง 0.3-7.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) พบมากในไตปลาที่ทำจากเครื่องในปลาที่เป็นปลาใหญ่ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมสารพิษในสัตว์ มีปริมาณสารหนูในช่วง 3.0-7.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารหนูในน้ำปลา และน้ำบูดู ซึ่งทำจากปลากะตัก (ปลาเล็ก) มีปริมาณสารหนูในช่วง 0.9-4.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และสารหนูในกะปิกุ้งในช่วง 2.7-6.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูงกว่าในน้ำปลา และ น้ำบูดู

ลักษณะการสะสมปริมาณของสารหนูในกุ้งมีมากกว่าในปลากะตัก ทั้งนี้กะปิมีลักษณะเป็นสารเปียก เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำปลาที่มีน้ำประกอบเป็นส่วนใหญ่ทำให้ปริมาณสารหนูในน้ำปลาพบต่ำกว่าในกะปิ

เมื่อมองในภาพรวมจากแหล่งที่มาของตัวอย่างสัตว์ทะเลที่ใช้ในกระบวนการหมัก พบว่าปริมาณสารหนูรวมในแหล่งโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ระยอง สมุทรปราการ และ สมุทรสาคร เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งพื้นที่ทั่วไป หรือแหล่งธรรมชาติห่างไกลโรงงานอุตสาหกรรม เช่น พัทลุง ปัตตานี และ นราธิวาส พบว่าปริมาณสารหนูไม่ต่างกันมาก ยกเว้นกะปิระยองตัวอย่างเดียว ที่มีปริมาณสารหนูค่อนข้างสูง ทั้งนี้ควรมีการเก็บตัวอย่างจากแหล่งอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นเพื่อจะได้ข้อสรุปที่ชัดเจนถึงแหล่งที่มาของสารหนู

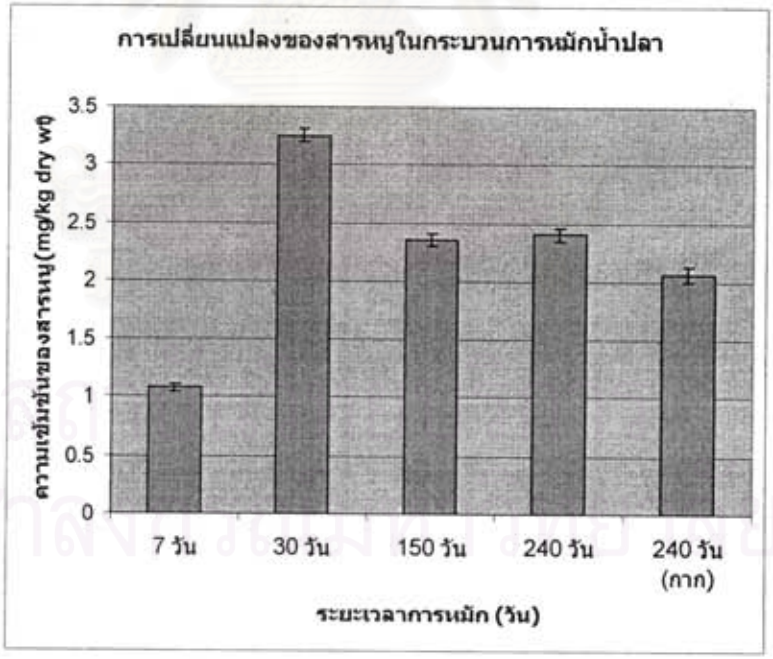
ปริมาณสารหนูอินทรีย์ต่อปริมาณสารหนูรวม คิดเป็น 79.7-97.2 % โดยพบว่าตัวอย่างที่มาจากแหล่งอุตสาหกรรมมีสารหนูอนินทรีย์ปริมาณสูง โดยพบอยู่ในช่วง 0.4-0.7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)

เมื่อพิจารณาค่ามาตรฐานการยอมรับปริมาณสารหนูอนินทรีย์ที่ยอมให้มีได้สูงสุดในตัวอย่างอาหารทะเลที่กำหนดไว้ที่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม(น้ำหนักเปียก) พบว่าอาหารทะเลหมักมีค่าสารหนูรวมคิดเป็น 0.3-3.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) หรือ สารหนูอนินทรีย์ 0.04-0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานกำหนด แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะรูปสารหนูอนินทรีย์ พบว่ายังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด

เมื่อพิจารณาความปลอดภัยของผู้บริโภคอาหารทะเลหมัก โดยคำนวณจากการบริโภคน้ำปลาเป็นตัวอย่าง พบว่าปริมาณสารหนูที่รับเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคน้ำปลาคิดเป็น 1.93 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อสัปดาห์ นับว่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดโดย WHO มาก ดังนั้นการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากนี้สารหนูที่อยู่ในรูปสารหนูอินทรีย์ที่พบในอาหารทะเลเป็นส่วนใหญ่ (>70%) จะถูกขับออกทางปัสสาวะหลังจากที่เข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ยืนยันได้ว่าการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัย

4.5 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงประมาณสารหนูโดยกระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในน้ำปลา และไตปลา

4.5.1 กระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในน้ำปลา



ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

รูปที่ 4.4 ผลการเปลี่ยนแปลงของสารหนูรวม ในกระบวนการผลิตน้ำปลา จากตัวอย่างส่วนที่เป็นของเหลวที่ออกจากตัวปลา

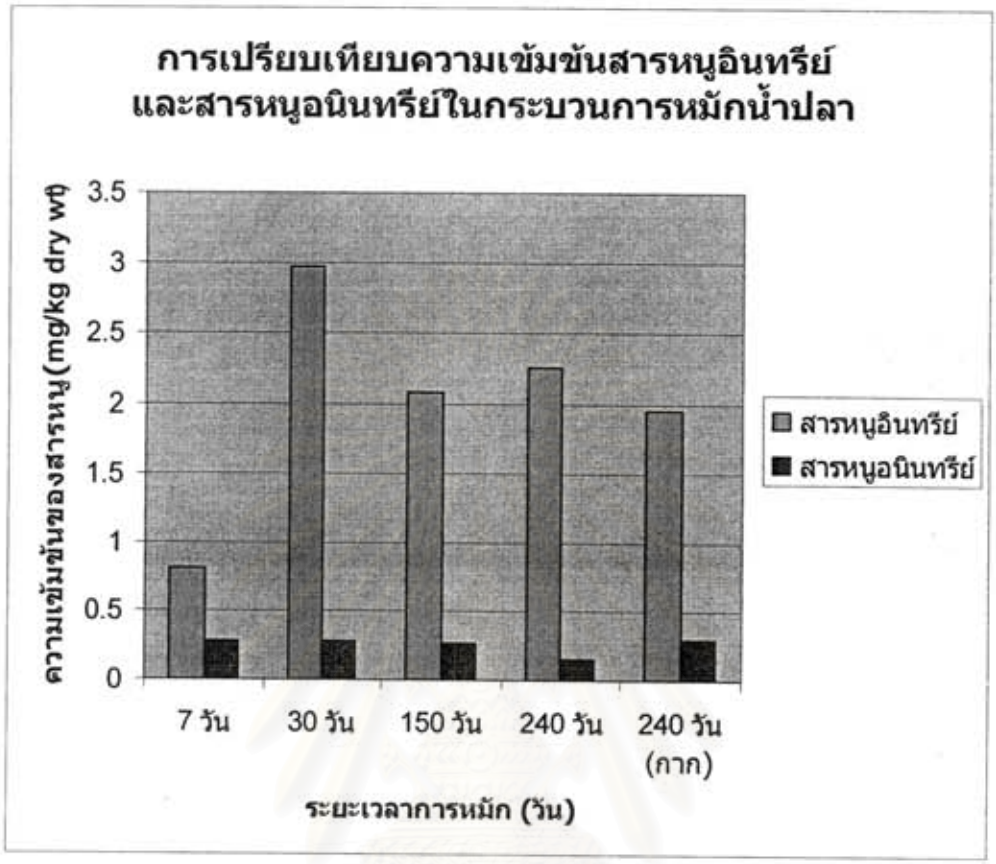
ผลจากกราฟจะเห็นได้ว่าปริมาณของสารหนูในน้ำปลาเปลี่ยนแปลงมากในช่วงเริ่มทำการหมัก กระบวนการหมักในธรรมชาติมีเอ็นไซม์ และจุลินทรีย์ย่อยสลาย เก็บตัวอย่างเมื่อกระบวนการหมักผ่านไป 7 วัน ปริมาณของสารหนูในน้ำปลาพบ 1.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารหนูจะถูกสกัดออกจากปลา หลังจากนั้น 30 วัน ปลาจะถูกย่อยสลายโดยกระบวนการหมักในธรรมชาติ สารหนูจะถูกสกัดออกสู่ของเหลวมากขึ้นโดยพบมากที่สุดที่ 3.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นความเข้มข้นลดลง และค่อนข้างคงที่ ที่ 2.35-2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาจเนื่องมาจากสารหนูบางส่วนอาจเกิดการตกตะกอนกับเกลืออยู่กับภาชนะ และเกิดสมดุลย์ของสารหนูในตัวปลากับสารหนูในน้ำปลาทำให้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงการหมัก จาก 150-240 วัน ซึ่งเป็นในระยะที่บรรจุขวดออกจำหน่ายในท้องตลาด และตรวจพบเพียง 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในกากปลาพบสารหนู 2.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสารหนูมีปริมาณที่ใกล้เคียงกับในน้ำปลาซึ่งกากปลาจะนำไปตากแห้งและขายเป็นอาหารสัตว์

การทดลองแสดงในตารางที่ 4.9 โดยนำน้ำปลาระยะ 7 วัน 30 วัน และ 150 วัน กรองผ่านกระดาษกรอง No.42 นำส่วนใสไปย่อย (Digest) หาปริมาณสารหนูรวม พบปริมาณสารหนูในช่วง 0.3-0.34 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งสารหนูนี้เป็นสารหนูที่สามารถละลายได้ในน้ำ ที่มีอยู่ในน้ำปลา

ตารางที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงของสารหนูในกระบวนการผลิตน้ำปลา ก่อนกรองและหลังกรอง

ชนิดตัวอย่าง	pH	ก่อนกรอง มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)	หลังกรอง มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)
น้ำปลา 7วัน	5.44	1.08±0.03	0.30±0.1
น้ำปลา 1เดือน	5.51	3.25±0.06	0.34 ± 0.05
น้ำปลา 5เดือน	5.43	2.35±0.06	0.33± 0.08

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS



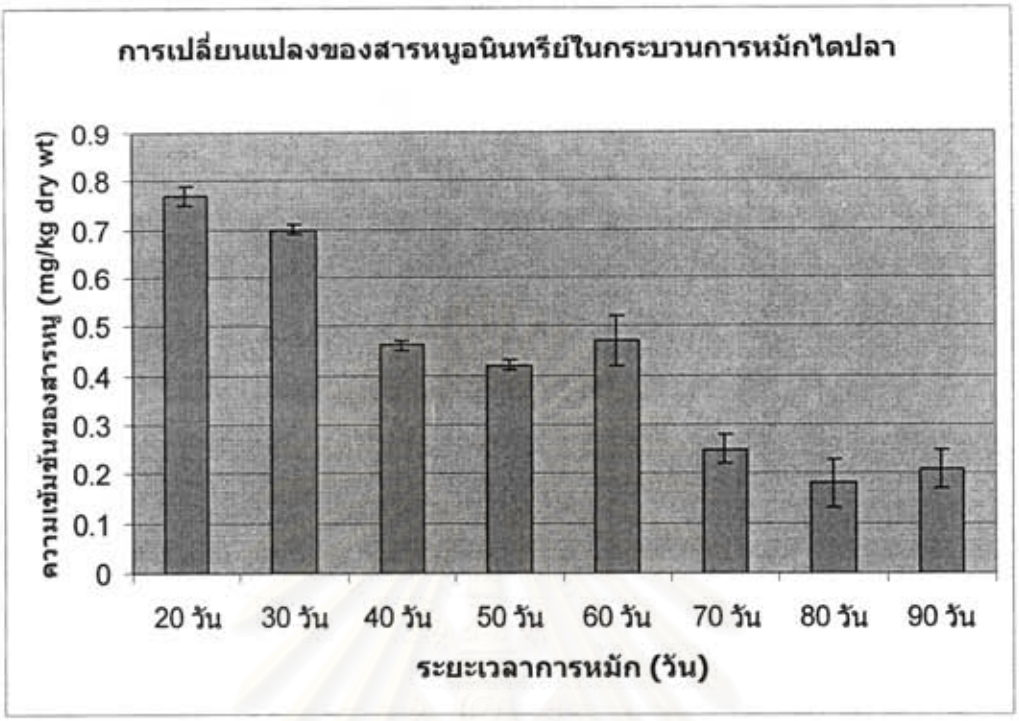
ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

รูปที่ 4.5 ผลการหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในกระบวนการหมักน้ำปลาส่วนใส

ผลจากรูปที่ 4.5 เมื่อนำตัวอย่างอาหารหมักระยะต่างๆ มาทำการสกัด แยกสารหนูอนินทรีย์ออกจากสารหนูอินทรีย์ พบว่าปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในระยะต่างๆของกระบวนการหมักมีค่าในช่วง 0.27-0.29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก เมื่อเทียบกับการเปลี่ยนแปลงสารหนูอินทรีย์ ทั้งนี้สารหนูอนินทรีย์มีปริมาณมากที่สุดอยู่ในกาก

4.5.2 กระบวนการหมักระยะต่าง ๆ ในไตปลา

ผลการวิเคราะห์ทำการวิเคราะห์หาเฉพาะปริมาณสารหนูอนินทรีย์เท่านั้น เนื่องจากเป็นสารที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยการสกัดในไตปลาระยะต่าง ๆ ดังรูปที่ 4.6 (เก็บตัวอย่างเฉพาะส่วนน้ำที่ใช้บริโภคมาทำการสกัด)



ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HG-AAS

รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงของสารหนูอนินทรีย์ ในกระบวนการผลิตไตปลา

ผลจากรูปที่ 4.6 แสดงกระบวนการหมักไตปลาที่ระยะ 20 วัน ถึง 90 วัน พบว่าปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในระยะเริ่มแรกของกระบวนการหมัก มีค่าสูง เท่ากับ 0.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) แสดงให้เห็นว่าตลอดระยะเวลาการหมักมีการเปลี่ยนแปลงของสารหนูอนินทรีย์ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาจนถึงจุด ๆ หนึ่งจะคงที่ (ที่ 80-90 วัน) ซึ่งจุดนี้ สันนิษฐานว่าเกิดการเมตาบอลิซึมโดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก อาจเปลี่ยนสารหนูอนินทรีย์ไปเป็นสารหนูอินทรีย์ หรืออาจเกิดการตกตะกอนร่วมกับเกลือเหมือนในกระบวนการหมักน้ำปลา

ระยะเวลาในกระบวนการหมักไตปลา มีผลต่อปริมาณสารหนูอนินทรีย์ ปกติการหมักไตปลาจะสามารถนำไตปลามาปรุงอาหารได้ตั้งแต่ 20 วันแรกของกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นช่วงที่สารหนูอนินทรีย์ สูงที่สุดในกระบวนการหมัก จึงไม่ควรนำมาบริโภค ดังนั้นการหมักไตปลาเก็บไว้นานประมาณ 90 วัน และนำมาใช้บริโภคจะมีความปลอดภัยมากกว่า

4.6 ผลการศึกษาสารประกอบของสารหนูในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้เทคนิคการแยกด้วย HPLC-ICP-MS

ผลการแยกสารประกอบของสารหนูโดยใช้ HPLC-ICP-MS Anion exchange column และ Cation exchange column แสดงอยู่ในตารางที่ 4.10 และคำย่อที่ใช้ในตารางที่ 4.10 แสดงอยู่ในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.10 ผลการแยกสารประกอบของสารหนู โดยใช้ Column ต่างชนิด

คอลัมน์	ตัวทำละลายเคลื่อนที่	ชนิดของสารประกอบสารหนู	เวลาที่อยู่ในคอลัมน์ (วินาที)
Anion exchange column : Hamilton PRP X-100 (250 mm × 4.1 mm, 5µm)	30 mM H_3PO_4 , pH 6, อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที	As(3+) และ sug-OH	106.7
		AsB	109.0
		DMA	127.3
		MMA	283.2
		sug-PO4	342.6
		As(+5)	528.5
		sug-SO4	538.6
		sug-SO3	1158.7
Cation exchange column : Supelcucosil SCX (250 mm × 4.1 mm, 5µm)	20 mM พิริดีน , pH 2.5, อัตราการไหล 1.2 มิลลิลิตร/นาที	As(+3)	82
		DMAA	94
		TMAO	100
		MMA	121
		As(+5)	150
		AsB	264
		Sug-OH	630
		TMA	661
		AsC	730
		DMAE	790

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC-ICP-MS

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.11 คำย่อที่ใช้ในตารางที่ 4.10

AsB : arsenobetaine	sug-PO4 : arsinoylsugar-PO4
AsC : arsenocholine	Sug-SO3 : arsinoylsugar-SO3
DMA: dimethylarsinic acid	Sug-SO4 : arsinoylsugar-SO4
DMAE : dimethylarsinoylethanol	Sug-OH : arsinoylsugar-OH
MMA : monomethylarsonic acid	TMA : trimethylarsinic acid
	TMAO : trimethyl arsine oxide

จากการทำการสกัดด้วยตัวทำละลายตามวิธี 3.4.5 และส่งตัวอย่างไปทำการวิเคราะห์เชิงคุณภาพเพื่อหาชนิดของสารหนูจากอาหารทะเลหมักได้ผลตามตารางที่ 4.12 โดยเทียบกับ CRM DOLT 2 และ DORM 2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.12 ชนิดของสารประกอบของสารหนูที่วิเคราะห์พบ

ตัวอย่าง	As^{3+}	As^{5+}	MMA	DMA	TMA	AsB	TMAO	DMAE	Sug-OH	Sug-PO4	Sug-SO4	Sug-SO3
DOLT-2 (Dogfish liver – Trace elements)			√	√		√						
DORM-2 (Dogfish muscle)			√			√						
น้ำบูดูปิดตานี						√						
กะปิปลา นครศรีธรรมราช					√	√						
กะปิกุ้งระยอง			√			√						
กะปิกุ้งโรงงานที่ระยอง			√			√						
ไตปลา นครศรีธรรมราช			√			√				√		
น้ำปลาระยอง			√									

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC-ICP-MS

*sug-OH, PO4, SO3, SO4 = Arsenosugar (แสดงโครงสร้างรูปที่ 2.2)

√ = ตรวจพบ

การหาสารประกอบของสารหนูโดย HPLC-ICP-MS ในตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเล พบว่า ประกอบด้วย AsB, TMA, DMA, MA และsug-PO4 ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่เป็น AsB ประมาณ 70 % ทั้งนี้เมื่อนำน้ำปลาที่ผ่านการหมักในระยะต่าง ๆ มาเปรียบเทียบดูปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบสารหนู ตามที่แสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ปริมาณของสารประกอบสารหนูในตัวอย่างน้ำปลาระยะต่างๆ

ตัวอย่างน้ำปลา	AsB (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)	Sug-PO4 (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)
น้ำปลา 7 วัน	330.9	214.0
น้ำปลา 30 วัน	634.9	524.8
น้ำปลา 150 วัน	340.7	193.6
น้ำปลา 240 วัน (กรอง)	1492.5	-
น้ำปลา 240 วัน(กาก)	1541.9	140.2

ที่มา : ผลการวิเคราะห์ด้วย HPLC-ICP-MS

จากผลการทดลองพบว่า เมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นสารหนูในตัวปลาจะออกมา และพบในรูป AsB และ sug-PO4 เมื่อผ่านกระบวนการหมักเป็นเวลา 30 วัน ปริมาณสารหนู AsB และ sug-PO4 มีค่าใกล้เคียงกัน จากนั้น sug-PO4 จะเริ่มลดลง ในขณะที่ AsB จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น ดังนั้นเป็นไปได้ว่ากระบวนการหมักน้ำปลาที่มีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้องสามารถเปลี่ยน sug-PO4 เป็น AsB

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษา และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษา

สรุปผลการศึกษาการหาชนิดของสารหนูในตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเล มีดังนี้

1. ผลศึกษาความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการตรวจวัดสารหนูด้วย HG-AAS

Calibration range ของสารหนูที่สามารถตรวจวัดได้โดยใช้HG-AAS ที่มีความเข้มข้นจาก 0-50 ไมโครกรัมต่อลิตร วิธีนี้สามารถวิเคราะห์สารหนูที่ได้กราฟเป็นเส้นตรง มีค่า R^2= 0.9978 Limit of Detection (LOD) ของสารหนูที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่อง HG-AAS เท่ากับ 1.79 ไมโครกรัมต่อลิตร ค่าความถูกต้องของวิธีที่ใช้หาปริมาณสารหนูรวมโดยนำตัวอย่าง CRM DORM-2 (Dogfish muscle) ค่า Certified สารหนูเท่ากับ 18 ±1.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาทำการวิเคราะห์ได้ปริมาณสารหนูรวม โดยใช้การย่อยด้วยกรด HNO_3 และวัดปริมาณสารหนูด้วย HG-AAS ตรวจพบสารหนู 17.9 ± 0.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ความเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ 5.23 % คิดเป็นสารหนูอินทรีย์ 89.1%

2. ผลของการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูรวม ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้ HG-AAS

การศึกษาปริมาณสารหนูในอาหารหมักจากทะเลพบในช่วง 0.9-8.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) โดยเป็นน้ำปลา 1.1-2.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) กะปิกุ้ง 2.7-6.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) ไตปลา 2.9-8.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) น้ำบูดู 0.9-4.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) พบมากในไตปลาที่ทำจากเครื่องในปลาที่เป็นปลาใหญ่ ซึ่งเป็นแหล่งสะสมสารพิษในสัตว์ ซึ่งมีปริมาณค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณสารหนูในน้ำปลา และน้ำบูดู

เมื่อมองในภาพรวมจากแหล่งที่มาของตัวอย่างสัตว์ทะเลที่ใช้ในกระบวนการหมัก พบว่าปริมาณสารหนูรวมในแหล่งโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ระยอง สมุทรปราการ และ สมุทรสาคร เมื่อเปรียบเทียบกับแหล่งพื้นที่ทั่วไป หรือแหล่งธรรมชาติห่างไกลโรงงานอุตสาหกรรม เช่น พัทลุง ปัตตานี และ นราธิวาส พบว่าปริมาณสารหนูไม่ต่างกันมาก ยกเว้นกะปิระยองตัวอย่างเดียว ที่มีปริมาณสารหนูค่อนข้างสูง เนื่องจาก ชายฝั่งทะเลของจังหวัดระยอง เป็นแหล่งอุตสาหกรรมหนัก

ส่วนจังหวัดนครศรีธรรมราชมีปริมาณสารหนูรวมในไตปลาสูง สาเหตุอาจเนื่องมาจากจังหวัดนครศรีธรรมราช ในอดีตมีปัญหาการแพร่กระจายของสารหนู จากการทำเหมืองแร่ดีบุก ทำให้การสะสมโลหะมากจากสัตว์ทะเลที่อยู่ในแหล่งนั้น

3. ผลของการวิเคราะห์หาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ และสารหนูอินทรีย์ ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้ เทคนิคการสกัด และตรวจปริมาณสารหนูโดยใช้ HG-AAS

ปริมาณสารหนูอินทรีย์ต่อปริมาณสารหนูรวม คิดเป็น 79-97.2 % โดยพบว่าตัวอย่างที่มาจากแหล่งอุตสาหกรรมมีสารหนูอนินทรีย์ปริมาณสูง โดยพบอยู่ในช่วง 0.4-0.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง)

สารหนูสะสมมากในเครื่องในปลาขนาดใหญ่ แต่ขบวนการเมตาบอลิซึมของปลาในธรรมชาติจะเปลี่ยนสารหนูให้อยู่ในรูปสารหนูที่ไม่เป็นอันตราย ยกเว้นถ้ามีการปนเปื้อนของสารหนูในทะเลเป็นสารหนูอนินทรีย์ที่มีปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบนิเวศน์จะทำการเปลี่ยนรูปได้ทัน จะเกิดการสะสมในรูปของสารหนูอนินทรีย์ดังที่พบในตัวอย่างจากแหล่งอุตสาหกรรม

เมื่อพิจารณาค่ามาตรฐานการยอมรับปริมาณสารหนูอนินทรีย์ที่ยอมให้มีได้สูงสุดในตัวอย่างอาหารทะเลที่กำหนดไว้ที่ 2 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) พบว่าอาหารทะเลหมักมีค่าสารหนูรวมคิดเป็น 0.3-3.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) หรือ สารหนูอนินทรีย์ 0.04-0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักเปียก) ซึ่งถ้าพิจารณาสารหนูรวม พบว่าสูงกว่ามาตรฐานกำหนด แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะรูปสารหนูอนินทรีย์ พบว่ายังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนด

ความปลอดภัยของผู้บริโภคอาหารทะเลหมัก เมื่อนำมาคำนวณโดยใช้ การบริโภคน้ำปลาเป็นตัวอย่าง พบว่าปริมาณสารหนูที่รับเข้าสู่ร่างกายโดยการบริโภคน้ำปลาคิดเป็น 1.93 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมต่อสัปดาห์ นับว่าต่ำกว่าค่าที่กำหนดไว้ที่ 15 ไมโครกรัมของสารหนูอนินทรีย์ต่อกิโลกรัมของน้ำหนักร่างกายต่อสัปดาห์ที่กำหนดโดย WHO มาก ดังนั้นการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากนี้สารหนูที่อยู่ในรูปสารหนูอินทรีย์ที่พบในอาหารทะเลเป็นส่วนใหญ่ (>70%) จะถูกขับออกทางปัสสาวะหลังจากที่เข้าสู่ร่างกาย จึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ยืนยันได้ว่าการบริโภคอาหารทะเลหมักมีความปลอดภัย

4. ผลการเปลี่ยนแปลงของสารหนูรวม ในกระบวนการผลิตน้ำปลา

ปริมาณของสารหนูในน้ำปลา 7 วันแรก สารหนูจะถูกสกัดออกจากปลาน้อยกว่าระยะอื่น ๆ หลังจากนั้น 30 วัน ปลาจะถูกย่อยสลายโดยกระบวนการหมักในธรรมชาติ สารหนูจะถูกสกัดออกสู่ของเหลวมากขึ้นโดยพบมากที่สุดที่ 3.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากนั้นความเข้มข้นลดลง และ

ค่อนข้างคงที่ ที่ 2.35-2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม อาจเนื่องมาจากสารหนูบางส่วนเกิดการตกตะกอนกับเกลืออยู่กับภาชนะ และเกิดสมดุลของสารหนูในตัวปลากับสารหนูในน้ำปลาทำให้ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงการหมัก จาก 150-240 วัน ซึ่งเป็นในระยะที่บรรจุขวดออกจำหน่ายในท้องตลาด และตรวจพบเพียง 2.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนในกากปลาพบสารหนู 2.06 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งกากปลาจะนำไปตากแห้งและขายเป็นอาหารสัตว์

เมื่อนำน้ำปลามา กรองผ่านกระดาษกรอง พบว่าปริมาณสารหนูลดลง 3-10 เท่าของน้ำปลาที่ไม่ได้ทำการกรอง ดังนั้นในกระบวนการผลิตที่ใช้เพียงการตกตะกอนของกากปลา และการกรองโดยใช้ตะแกรงไม้ไผ่สาน และตักส่วนใสบรรจุขวด ไม่สามารถลดปริมาณการปนเปื้อนของสารหนูได้ ดังนั้นการปรับปรุงโดยเพิ่มระบบการกรองอาจช่วยให้การปนเปื้อนของสารหนูลดลงได้

5. ผลการหาปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในกระบวนการหมักน้ำปลา

ปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในระยะต่างๆของกระบวนการหมัก มีค่าในช่วง 0.27-0.29 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) และสารหนูอนินทรีย์มีปริมาณมากที่สุดอยู่ในน้ำปลาระยะ240 วัน (ส่วนกาก) พบว่าสารหนูอนินทรีย์ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับระยะอื่นๆ แสดงว่าสารหนูอนินทรีย์มีแนวโน้มจะเหลืออยู่ในกากปลามากกว่า

6. การเปลี่ยนแปลงของสารหนูอนินทรีย์ ในกระบวนการผลิตไตปลา

กระบวนการหมักไตปลาที่ระยะ 20 วัน ถึง 90 วัน พบว่าปริมาณสารหนูอนินทรีย์ในระยะเริ่มแรกของกระบวนการหมัก มีค่าสูง เท่ากับ 0.77 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (น้ำหนักแห้ง) สารหนูอนินทรีย์ลดลงอย่างต่อเนื่องตลอดเวลาจนถึงจุดๆหนึ่งจะคงที่ (ที่80-90วัน) ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดการเมตาบอลิซึมโดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก อาจเปลี่ยนสารหนูอนินทรีย์ไปเป็นสารหนูอินทรีย์ หรืออาจเกิดการตกตะกอนร่วมกับเกลือเหมือนในกระบวนการหมักน้ำปลา

ระยะเวลาในกระบวนการหมักไตปลา มีผลต่อปริมาณสารหนูอนินทรีย์ ปกติการหมักไตปลาจะสามารถนำไตปลามาปรุงอาหารได้ตั้งแต่ 20 วันแรกของกระบวนการหมัก ซึ่งเป็นช่วงที่สารหนูอนินทรีย์ สูงที่สุดในกระบวนการหมัก จึงไม่ควรนำมาบริโภค ดังนั้นการหมักไตปลาเก็บไว้นานขึ้น และนำมาใช้บริโภคจะมีความปลอดภัยมากกว่า

7. ผลการศึกษาการแยกสารประกอบของสารหนูในอาหารหมักจากสัตว์ทะเลโดยใช้เทคนิคการแยกด้วยโครมาโตกราฟี

การหาสารประกอบของสารหนูโดย HPLC-ICP-MS ในตัวอย่างอาหารหมักจากสัตว์ทะเล พบว่า ประกอบด้วย arsenobetaine, trimethy arsenicacid, dimethylarsinic acid, monomethylarsinic acid และ aresosugar ซึ่งสารประกอบส่วนใหญ่เป็น arsenobetaine เมื่อนำน้ำปลาที่ผ่านการหมักในระยะต่างๆมาเปรียบเทียบดูปริมาณการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบสารหนู พบว่า aresosugar จะเริ่มลดลง ในขณะที่ arsenobetaine จะค่อยๆเพิ่มขึ้น เป็นไปได้ว่ากระบวนการหมักน้ำปลาที่มีจุลินทรีย์เข้ามาเกี่ยวข้องสามารถเปลี่ยน aresosugar เป็น arsenobetaine

5.2 ข้อเสนอแนะ

- สามารถนำข้อมูลพื้นฐานไปใช้ในการปรับปรุงกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากสัตว์ทะเล เช่น น้ำปลา น้ำบูดู และไตปลา ให้มีคุณภาพดีขึ้น โดยปรับปรุงระบบการกรอง ระยะเวลาในการหมัก

- ควรรวบรวมข้อมูลพื้นฐานการปนเปื้อนสารหนูอินทรีย์ และสารหนูอนินทรีย์โลหะหนักชนิดอื่น เช่น แคดเมียม, ตะกั่ว, ปรอท และปรอทอินทรีย์ จากอาหารหมักหลายแหล่งเพื่อให้เป็นข้อมูลของประเทศ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

การนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย, 2543. นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด. กรุงเทพมหานคร: การนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย.

กรมควบคุมมลพิษ, 2545. สถานการณ์เกี่ยวกับของเสียอันตราย

สายสมร ลิปตะสิริ. 2518, การศึกษาคุณสมบัติบางประการของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ในน้ำปลาไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ภาษาอังกฤษ

Amran, M.B., Lagarde, F. and Leroy, M.J.F. 1997. Determination of arsenic speciation in marine organisms by HPLC-ICP-OES and HPLC-HG-GFAAS, Mikrochimica Acta, 127: 195-202Brisbin, J., A., Lymer, C., Caruso, J., A., 2002. A Gradient Anion Exchange Chromatographic Method for the Speciation of Arsenic in Lobster Tissue Extracts. Talanta. 58:133-145.

Chatterjee, A., 2000. Determination of Total Cationic and Total Anionic Arsenic Species in Oyster Tissue using Microwave-Assisted Extraction followed by HPLC-ICP-MS. Talanta. 51: 303-314.

Cullen, W.R., Lai, V.W., Harrington, C.F. and Reimer, K.J. 1997. The characterization of arsenosugars in commercially available algae products including a nostoc species of terrestrial origin. Applied Organometallic Chemistry, 11: 797-803

Edmonds, J.S. and K.A. Francesconi (1987). Transformations of arsenic in the marine environment. Experientia, 43, 553-557.

Feldmann, J., Hansen, H., R., Raab, A., Francesconi, K., A., 2003. Metabolism of Arsenic by Sheep Chronically Exposed to Arsenosugars as a Normal Part of Their Diet. 1. Quantitative Intake,Uptake,and Excretion. Environ. Sci. Technol. 37:845-851.

Feldmann, J., John, K. and Pengprecha.P. 2000., Arsenic metabolism in seaweed-eating sheep from Northern Scotland, Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 368: 116-121

Francesconi K, Visoottiviseth P, Sridokchan W, Goessler W. 2002. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils. Sci Total Environ. 284:27-35.

Francesconi, K.A. and Edmonds, J.S., 1993. Arsenic in the sea, Oceanography Marine Biology Annual Review, 31: 111-151.

Francesconi, K., A., Goessler, W., Panutrakul, S., Irgolic, K., J., 1998. A Novel Arsenic Containing Riboside (Arsenosugar) in Three Species of Gastropod. The Science of the Total Environment. 221:139-148.

Frankenberger, W.T. and Tamaki, S. 1992. Environmental biochemistry of arsenic, *Review Environmental Contamimation and Toxicology,* 124, 79-104

Geiszinger, A., E., Goessler, W., Francesconi, K., A., 2002. The Marine Polychaete Arenicola Marina: Its Unusual Arsenic Compound Pattern and Its Uptake of Arsenate from Seawater. Marine Environmental Research. 53:37-50.

Hanaoka, K., Gossler, W., Irgolic, K., J., Ueno S., Kaise, T., 1997. Occurrence of Arsenobetaine and Arsenocholine in Micro-Suspended Particles. Chemosphere. 35:2463-2469.

Hasegawa, H., Matsui, M., Okamura, S., Hojo, M., Iwasaki, N. and Sohrin, Y, 1999, Arsenic speciation including hidden arsenic in natural water, Applied Organometallic Chemistry, 13, 113-119

Irgolic, K.J., Kuehnelt, D. and Goessler, W. 1997. Arsenic compounds in terrestrial organisms: arsenocholine in the mushroom Amanita Muscaria. Appllied Organometallic Chemistry, 11, 459-470

Kriechmann, T. 2001. Unpublished report for exchange research student, Department of Chemistry, University of Aberdeen, Scotland

Kuehnelt, D., Goessler, W., and Irgolic, K. J., 1997: Arsenic compounds in terrestrial organisms 1. *Collybia maculata*, *Collybia butyracea* and *Amanita muscaria* from arsenic smelter sites in Austria, *Appl. Organomet. Chem.* **11**(4), 289–296

Ma, L.Q., Kenneth, M. K., Cong, T., Weihua, Z., Yong, C. and Elizabeth, D. K.2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. Nature, 409: 579

Martinez, A., Devesa, V., Suner, M., A., Velez, D., Almela, C., Montoro, R., 2001. Effect of Cooking Temperatures on Chemical Changes in Species of Organic Arsenic in Seafood. J. Agric. Food Chem. 49:2272-2276.

McSheehy, S., Szpunar, J., Morabito, R., Quevauviller, P., 2003. The Speciation of Arsenic in Biological Tissues and the Certification of Reference Materials for Quality Control. Trends in Analytical Chemistry. 22: 4.

Meharg, A.A., Langdon, C.J., Feldmann, J., Balgar, T., Charnock, J., Farquhar, M., Piearce, T.G., Semple K.T., and Howells, J.C. 2003. Arsenic metabolism in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Dendrodrillus rubidus*, Environ. Tox. & Chem. 22: 1302-1308.

Montoro, R., Vicenta, D., Mari, L.M., Mercedes, J., Urieta, I., Ociel M., María A., Súñer, F. L., and Dinoraz V., 2001. Arsenic in Cooked Seafood Products: Study on the Effect of Cooking on Total and Inorganic Arsenic Contents. J. Agric. Food Chem. 49:4132-4140.

Montoro, R., Vicenta, D., Mari, L.M., Mercedes, J., Urieta, I., Ociel M., María A., Súñer, F. L., and Dinoraz V. 2002. Organoarsenical Species Contents in Fresh and Processed Seafood Product. J. Agric. Food Chem. 50:924-932.

Morton, W.E. and Dunnette, D.A., 1994, Health effects of environmental arsenic, Nriagu, J.O., (Editor), Arsenic in the environment, Part II: Human health and ecosystem effects, John Wiley & Sons Inc., New York, 17-34

Munoz, O., Devesa V, Suñer MA, Vélez D, Montoro R, Urieta I, Macho ML, Jalón M. 2000. Total and Inorganic Arsenic in Fresh and Processed Fish Product. J. Agric. Food Chem. 48:4369-4376.

Ng, J., C., Wang, J., Shraim, A. 2003. A Global Health Problem Caused by Arsenic from Natural Sources. Chemosphere .52 : 1353-1359.

Phillips, D.J.H., 1990. Aquatic Toxicology **16**, pp. 151–186.

Przygoda, G., Feldmann, J. and Cullen W.R. 2001 The arsenic eaters of Styria: a different picture of people who were chronically exposed to arsenic, Appl. Organomet. Chem., 15: 457-462.

Ramm, R., H., Prufert, S., M., Szadkowski, D. 2002. Arsenic Species Excretion after Controlled Seafood Consumption. Journal of Chromatography B. 778:263-273.

Rodriguez, E., A., Lojo, M., C., V., Mahia, P., L., Lorenzo, S., M., Rodriquez, D., P., 2002. Coupled High Performance Liquid Chromatography – Microwave Digestion – Hydride Generation – Atomic Absorption Spectrometry for Inorganic and Organic Arsenic Speciation in Fish Tissue. Talanta. 57:741–750.

Shimada, N. 1996. Geological conditions enhancing the solubilisation of arsenic into groundwater in Japan, Applied Organometallic Chemistry, 10: 667-674

Silver, S., L. T. Phung, and B. P. Rosen. 2002. Arsenic metabolism: resistance, reduction and oxidation, p. 247-272. *In*In W. T. Frankenberger, Jr. (ed.), Environmental chemistry of arsenic. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.

Simon S. and Le T. P., 2005. Genes and Enzymes Involved in Bacterial Oxidation and Reduction of Inorganic Arsenic. Appl. Environ Microbiol. 71(2): 599–608.

Tanabe, S., Kubota, R., Kunito, T., 2002. Chemical Speciation of Arsenic in the Livers of Higher Trophic Marine Animals. Marine Pollution Bulletin. 45:218-223.

Yamauchi, H. and Fowler, B.A. 1994. Toxicity and metabolism of inorganic and methylated arsenicals, Nriagu, J.O., (Editor), Arsenic in the environment Part II: Human health and ecosystem effects, Vol 27, John Wiley&Sons Inc. New York, 44

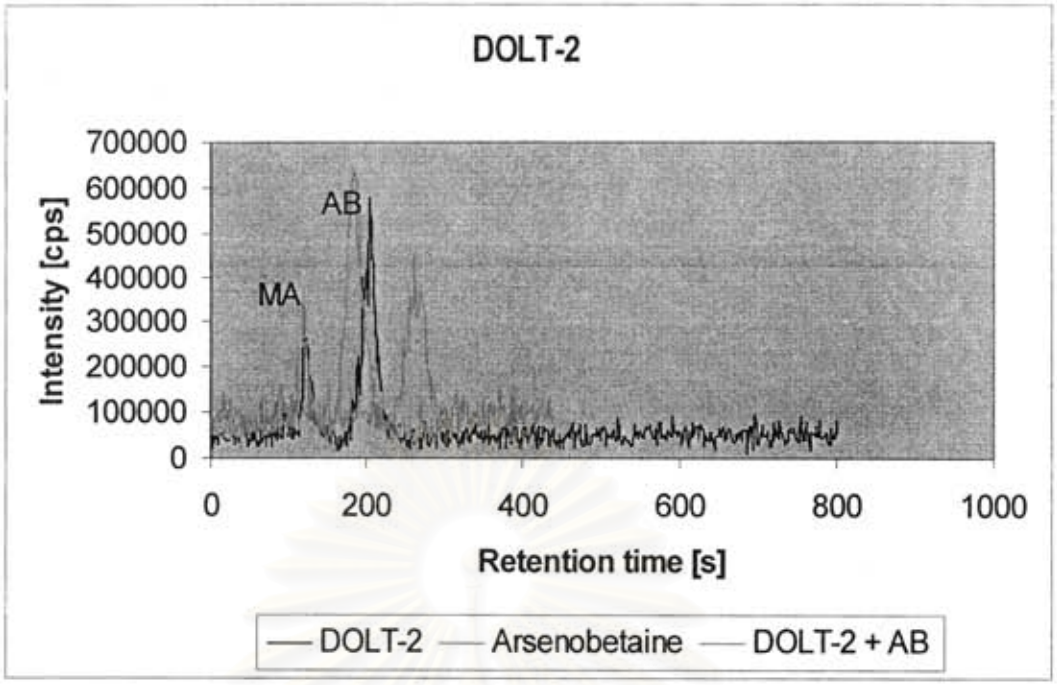
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก

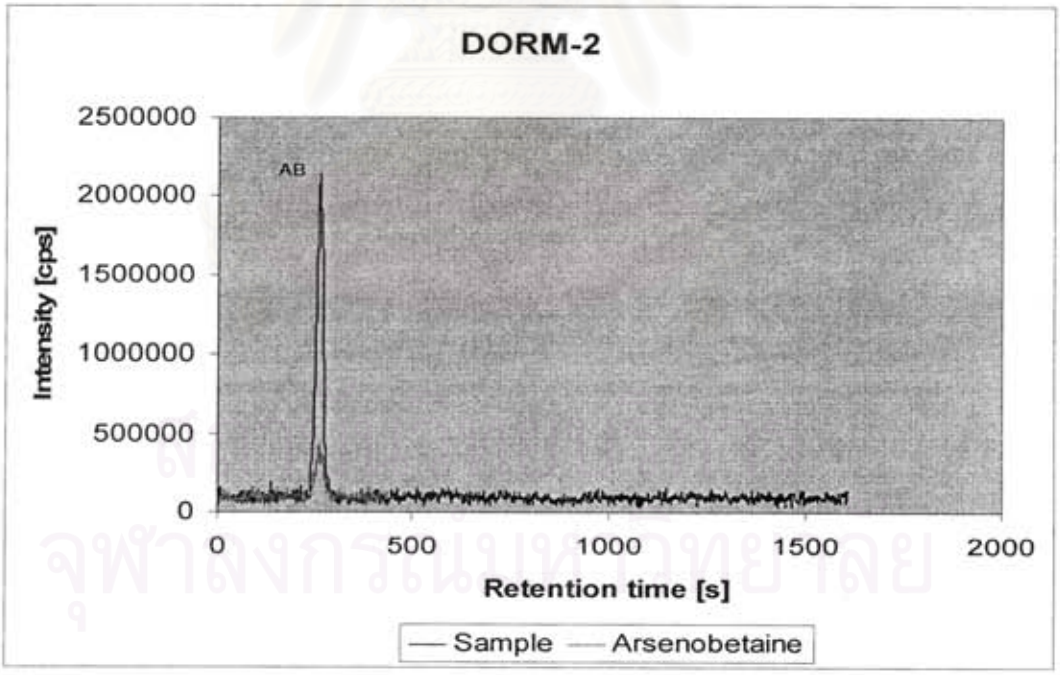
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก ตัวอย่างโครมาโทรแกรม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ ก-1 โครมาโทรแกรม HPLC-ICP-MS ของไตปลา เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Arsenobetaine และ Spike Arsenobetaine



รูปที่ ก-2 โครมาโทรแกรม HPLC-ICP-MS ของน้ำบูดู เทียบกับสารละลายมาตรฐาน Arsenobetaine

ประวัตินักวิจัยและคณะ

ประวัติหัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ-สกุล นายสมใจ เพ็งปรีชา

Mr. Somchai Pengprecha

2. รหัสประจำตัวนักวิจัยแห่งชาติ

3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์ ระดับ 9

4. ที่อยู่ที่ติดต่อได้ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เขตปทุมวัน, กรุงเทพฯ 10330

โทรศัพท์ : 0-2218-7636, โทรสาร : 0-2218-4964

E-mail: somchai.pe@chula.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

ปริญญาเอก (Organic Chemistry)	2532	La Trobe University	ประเทศออสเตรเลีย
ปริญญาโท (Organic Chemistry)	2524	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	ประเทศไทย
ปริญญาตรี (เคมี)	2522	มหาวิทยาลัยรามคำแหง	ประเทศไทย

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

เคมีอินทรีย์, ปิโตรเลียม และ สิ่งแวดล้อม

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

7.1 ผู้อำนวยแผนการวิจัย -

7.2 หัวหน้าโครงการวิจัย การกำจัดเหล็กออกจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมชุบโลหะ โดยใช้วิธีออกซิเดชันร่วมกับการตกตะกอนเหล็กไฮดรอกไซด์ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2543)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

สมใจ เพ็งปรีชา และ คณะ 2547 รายงานการวิจัยเรื่อง "การวิจัยและพัฒนาชุดการตรวจสอบสารตกค้างอย่างง่ายในกุ้ง ด้วยวิธีทางเคมี" เสนอ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

สมใจ เพ็งปรีชา และ กันยรัตน์ กลัมพากร. 2543. รายงานการวิจัยเรื่อง "การกำจัดเหล็กออกจากน้ำเสียของโรงงานอุตสาหกรรมชุบโลหะ โดยใช้วิธีออกซิเดชันร่วมกับการตกตะกอนเหล็กไฮดรอกไซด์". เสนอ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

เผด็จ สิทธิสุนทร, พิมล เรียนวัฒนา และ สมใจ เพ็งปรีชา. 2541. รายงานการวิจัยเรื่อง "การศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เทคโนโลยีสะอาดในอุตสาหกรรมเคมีของประเทศไทย". เสนอ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

Pengprecha, S.; Sidisunthorn, P.; Roengsumran, S.; Petsom, A. and Chaichantipayuth, C. J. of Scientific Research , Vol. 6, 4-7, (1981), Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Roengsumran, S., Luangdilok, W., Petsom, A., Praruggamo, P., & Pengprecha, S. : J. Natural Products, 45 : 772, 1982

Cook, I.B., Pengprecha, S. & Trenai, B.: Aust. J. Chem, 37: 311, 1984

Thebpate-phat, S., Pengprecha, S. & Ternau, B.: J. Sci. Soc. Thailand, 14: 225, 1988

Pengprecha, S., Chawakitchareon, P. and Krasinsri, P.: J. Sci. Res. Chula., Vol. 22, No. 1, 1997

7.4 งานวิจัยที่กำลังทำ

ประสิทธิภาพของสารกันซึมที่ใช้เคลือบผิวอิฐเพื่อป้องกันความชื้น (อาจารย์ที่ปรึกษา)

การกำจัดเหล็กในน้ำบ่อเลี้ยงกุ้งด้วยวิธีออกซิเดชันร่วมกับการดกตะกอน

(อาจารย์ที่ปรึกษา)

การกำจัดทองแดงสังกะสีและตะกั่วในน้ำเสียสังเคราะห์ด้วยดินลูกรัง (อาจารย์ที่ปรึกษา)

การสังเคราะห์สารประกอบไนเตรทจากน้ำมันมะพร้าวเพื่อใช้เป็นสารเพิ่มค่าซีแทน

(อาจารย์ที่ปรึกษา)

การศึกษาพฤติกรรมการตกค้างของคลอแรมเฟนิคอลในบ่อกุ้ง (อาจารย์ที่ปรึกษา)

การศึกษาองค์ประกอบของออริซานอลในข้าวหอมมะลิ (อาจารย์ที่ปรึกษา)

7.5 รางวัลและทุนที่เคยได้รับ

พ.ศ. 2535 ทุน UNESCO ทำงานวิจัยที่ Tohoku University ประเทศญี่ปุ่น

พ.ศ. 2536 ทุน JSPS ทำงานวิจัยที่ Tohoku University ประเทศญี่ปุ่น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้ร่วมโครงการ

Name: Paramee Pengprecha (ดร. ปารมี เพ็งปรีชา)

Date of Birth: 4 July 1966

Position: Researcher

Education:

1989	Bachelor degree of Science (Analytical Chemistry) Chulalongkorn University
1997-2001	Msc. - PhD in Analytical/Environmental Chemistry University of Aberdeen, UK

Work Experience:

1998-1991	Quality control section head at TOA Palstizer (Thailand) Co. Ltd.
1991	Researcher in Tohoku University, Sendai, Japan
1991-1993	Quality and Development Manager in Jack Chai Industrial (Thailand) Co. Ltd.
1993-present	Researcher at Analytical Laboratory, Thailand Institute of Scientific and Technological Research

-Editor team for Thailand Journal of Science and Technology

-Assessor for ISO/IEC 17025 under Thailand Institute of Industrial Standard

-Invited speaker for metal analysis

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Training

1994 Training Course ISO/IEC 25, UKAS & TISI, Pattaya, Thailand

1994 Assessor Training Course ISO/IEC 25, UKAS & TISI, Hoa-Hin, Thailand

2005 Assessor Training Course ISO/IEC 17025, TISI, Hoa-Hin, Thailand

2005 Regulatory and Quality Structure Development for Food Safety and Quality Sida Sweden

Publication

1. Poster presentation on the interference on the analysis of arsenic by hydride generation atomic absorption spectrometry, RSC, Edinburge Scotland, UK, 1999
2. Pengprecha, P., Feldmann, J. and John, K. (2000), Arsenic metabolism in algae-eating sheep from Northern Scotland, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 368, 116-121
3. Best Award for Poster Presentation in International Conference on Environmental and Biological Aspects of Main-group Organometals, 2001, Graz, Austria
4. Poster presentation on the effect of acid on the analysis of selenium by hydride generation atomic absorption spectrometry, STT, Bangkok Thailand, 2004
5. Poster presentation on the interference of sulfide on cyanide analysis by ion selective electrode technique, STT, Bangkok Thailand, 2004

6. Oral Presentation on arsenic in Thai wines by hydride generation atomic absorption spectrometry, Asia Pacific Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Chaing Mai Thailand, 2005.

7. Pengprecha, P., Feldmann, J. Wilsom, M and Raab A, (2005), Biodegradation of arsenosugars in marine sediment, *Applied Organometallic Chemistry*

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย