การตรวจหาอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทยด้วยทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

อรรฒพร มณีกุล[a,*] ประพฤกษ์ ตั้งมั่นคง[b] ศศิธร นาคทอง[c] และ สุเจตน์ ชื่นชม[c]

Detection of Aflatoxin B_1 by Thin Layer Chromatography (TLC) in Dairy Cow Concentrated Feed in Western Region of Thailand

Attaporn Maneekul[a,*], Praphruk Tangmankong[b], Sasitorn Nakthong[c] and Sujate Chaunchom[c]

[a]ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
[b]ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์และการบริการวินิจฉัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
[c]ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตผลจากสัตว์ สถาบันสุวรรณวาจกกสิกิจ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140
[a]Center for Agricultural Biotechnology, Faculty of Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakorn Pathom 73140, Thailand.
[b]Department of Veterinary Public Health and Diagnostic Service, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakorn Pathom 73140, Thailand.
[c]Animal Product Research and Development Center, Suwanvajokkasikit Animal Research and Development Institute (SARDI), Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakorn Pathom 73140, Thailand.
[*]Corresponding author. E-mail address: atta_ma47@yahoo.com (A. Maneekul)

Received 15 January 2008; accepted 26 December 2008

บทคัดย่อ

การศึกษานี้ตรวจหาอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมด้วยวิธีทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟีในเขตภาคตะวันตกของประเทศ ปี 2549-2550 จำนวน 50 ตัวอย่าง ผลการตรวจพบอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 จำนวน 27 ตัวอย่าง โดยพบที่ระดับน้อยกว่า 20 ppb จำนวน 14 ตัวอย่าง (คิดเป็น 28%) พบที่ระดับ 21-50 ppb จำนวน 7 ตัวอย่าง (คิดเป็น 14%) พบที่ระดับ 51-100 ppb จำนวน 4 ตัวอย่าง (คิดเป็น 8%) และพบที่ระดับ 101-150 ppb จำนวน 2 ตัวอย่าง (คิดเป็น 4%) ตามลำดับ จากผลการตรวจสรุปได้ว่า การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกผ่านเกณฑ์มาตรฐานของคณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารสากลคิดเป็น 74% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ของประเทศไทย

คำสำคัญ: อะฟลาท็อกซินชนิดบี 1; อาหารข้นโคนม; ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟฟี

Abstract

Fifty samples of dairy cow concentrated feed in the western region of Thailand were collected and analyzed for aflatoxin B_1 by thin layer chromatography (TLC) technique during 2006-2007. The results showed that Aflatoxin B_1 were found in 27 samples. Levels of Aflatoxin B_1 found at less than 20 ppb, 21-50 ppb, 51-100 ppb and 101-150 ppb were in 14 (28%), 7 (14%), 4 (8%) and 2 (4%) samples, respectively. It could be concluded that 74% of dairy cow concentrated feed in western region of Thailand passed the standard of FAO/WHO (CODEX) and followed the regulation assigned by Thai Ministry of Agriculture and Cooperative Regulation.

Keywords: Aflatoxin B_1; Dairy cow concentrated feed; Thin layer chromatography; TLC

บทนำ

สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxins) คือ กลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ที่เชื้อราสร้างขึ้นและสามารถทำให้เกิดอาการเป็นพิษต่อร่างกายของคนและสัตว์ สารพิษจากเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์มีหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่มักเกิดจากเชื้อราในสกุล (Genus) *Aspergillus, Fusarium และ Penicillum* (Davis & Diener, 1987)

สารพิษอะฟลาท็อกซินเป็นสารเมตาบอไลท์ที่มีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์ สารพิษอะฟลาท็อกซินที่ได้รับส่วนใหญ่มาจากการบริโภคอาหารที่มีเชื้อราปนเปื้อนอยู่ (McKean et al., 2005) สารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์สามารถเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอนในการผลิตอาหารสัตว์ ตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การขนส่ง และการเก็บรักษา วัตถุดิบที่ใช้ผสมเป็นอาหารสัตว์นั้นมาจากการผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศแบ่งเป็นวัตถุดิบประเภทโปรตีนจากพืช ได้แก่ กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากมะพร้าว กากทานตะวัน และถั่วเหลืองอบ วัตถุดิบประเภทโปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น เนื้อกระดูกป่น เนื้อป่น และขนสัตว์ป่น วัตถุดิบประเภทแหล่งพลังงานและคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ ข้าวโพด

ข้าวสาลี รำหยาบ รำละเอียด ปลายข้าว และมันสำปะหลัง ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์เหล่านี้อาจมีสารพิษอะฟลาท็อกซินปนเปื้อนอยู่ โดยเฉพาะวัตถุดิบประเภทโปรตีนจากพืชและสัตว์บางชนิด เช่น กากมะพร้าว กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง ข้าวโพด และปลาป่น มีโอกาสปนเปื้อนสารพิษอะฟลาท็อกซินสูง (คนึงนิจ, 2543)

สารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์มักเกิดขึ้นในสภาวะที่มีความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยสภาพที่เหมาะสมต่อการสร้างสารพิษอะฟลาท็อกซินจะต้องมีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80-85 เปอร์เซ็นต์ ความชื้น 17 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิตั้งแต่ 24-35 องศาเซลเซียส (คนึงนิจ และอดิลักษ์, 2538; Wilson & Payne, 1994) ปัจจัยที่เชื้อราใช้สำหรับเจริญเติบโต ได้แก่ อาหารที่เชื้อราต้องการ ความชื้น ความชื้นสัมพัทธ์ อุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสม (มาลินี, 2527; Heathcote, 1984)

รายงานผลการวิจัยเกี่ยวกับอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 (AFB_1) ในอาหารข้นโคนมในประเทศไทย พบว่า มีการปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ใช้ในการผสมอาหารสำหรับเลี้ยงโคนม ซึ่งอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 สามารถส่งผ่านไปยังน้ำนมโคในรูปของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 (AFM_1) โดยพบว่า อัตราส่วนของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นที่โคนมกินเข้าไปต่ออะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ที่ขับออกทางน้ำนมมีค่าโดยเฉลี่ยประมาณ 100 ต่อ 1 (เบญจมาศ, 2544) ซึ่งสามารถก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายของคนและสัตว์ได้ ระดับการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมยิ่งมีปริมาณสูงเท่าใด ยิ่งส่งผลต่อผู้บริโภคมากขึ้นเท่านั้น เนื่องจากกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ไม่สามารถทำลายอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมได้ และยังพบอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมที่ผ่านกระบวนการยูเอชที (UHT) ด้วย (Diaz et al., 1995) จากรายงานข้างต้นจึงส่งผลกระทบโดยตรงต่อผู้บริโภคที่บริโภคน้ำนมที่มีการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ซึ่งหากบริโภคน้ำนมที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 เป็นประจำอาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ โดยเฉพาะในเด็กและทารกซึ่งมีความต้านทานต่อสารพิษน้อยกว่าผู้ใหญ่ (Galvano et al., 2005)

จากผลกระทบดังกล่าวทำให้ทั่วโลกหันมาสนใจ และให้ความสำคัญในการตั้งข้อกำหนดการปนเปื้อนและวิธีการควบคุมป้องกันอย่างกว้างขวาง FAO/WHO (CODEX) กำหนดค่าการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 20 ppb และอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมไว้ไม่เกิน 0.5 ppb ส่วนข้อกำหนดของประเทศไทย ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ของประเทศไทย เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ พ.ศ. 2537 ได้กำหนดค่าการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 200 ppb (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2537) ปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารข้นโคนมและผลิตภัณฑ์นมจึงเป็นปัญหาสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค ส่งผลกระทบต่อผู้เลี้ยงโคนมและอุตสาหกรรมนม ทำให้ต้องมีการกำหนดแนวทางในการตรวจสอบและแก้ปัญหาสารพิษอะฟลาท็อกซินขึ้น วิธีการตรวจหาสารพิษอะฟลาท็อกซินที่นิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์มี 3 วิธีคือ (ประพฤกษ์ และปกรณ์, 2549)

1. ELISA เป็นเทคนิคการตรวจวิเคราะห์หาสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยอาศัยการจับตัวกันระหว่างตัวสารพิษกับตัวจับสารพิษเฉพาะ ซึ่งโดยส่วนมากจะใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดี (monoclonal antibody) เหมาะสำหรับการทดสอบแบบคัดกรอง (screening method) ก่อนจะใช้วิธีทดสอบแบบยืนยันผล (confirmatory method) วิธีการนี้มีความรวดเร็วในการตรวจวิเคราะห์ และค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์ต่ำที่สุด แต่ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในตรวจวิเคราะห์แบบยืนยันผล

2. Thin layer chromatography (TLC) เป็นเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์หาระดับสารพิษจากเชื้อราแบบยืนยันผล โดยจะทำการตรวจที่ตัวสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยตรง โดยอาศัยวิธีการแยกสารบนแผ่นบางของตัวดูดซับแล้ววัดค่าความเข้มข้นด้วยการดูระดับการเรืองแสงภายใต้แสง UV เป็นวิธีที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง และมีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์สูงกว่าวิธี ELISA แต่ต่ำกว่าวิธี HPLC

3. High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นเทคนิคการตรวจวิเคราะห์หาระดับสารพิษจากเชื้อราแบบยืนยันผล โดยใช้การตรวจจับกลุ่มสารพิษโดยใช้ตัวทำละลายเป็นตัวนำผ่านคอลัมน์ และตรวจจับการเรืองแสงแสดงผลการการตรวจวัดด้วยกราฟเป็นวิธีที่มีความละเอียดสูง มีความถูกต้องและแม่นยำ แต่มีค่าใช้จ่ายในการตรวจวิเคราะห์สูง

การศึกษาครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ในการตรวจหาอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทย เนื่องจากเขตภาคตะวันตกเป็นเขตหนึ่งที่พบว่า มีการเลี้ยงโคนมมากที่สุดของประเทศ โดยใช้วิธี (TLC) ในการตรวจหาปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซิน ซึ่งเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์หาระดับสารพิษจากเชื้อราแบบยืนยันผล โดยทำการตรวจที่ตัวสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยตรง เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของประเทศไทยและสากล และใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาข้อมูลด้านสารพิษอะฟลาท็อกซินในน้ำนมโคในเขตภาคตะวันตกต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาครั้งนี้ใช้วิธี TLC ในการตรวจหาปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซินซึ่งเป็นวิธีการตรวจวิเคราะห์หาระดับสารพิษจากเชื้อราแบบยืนยันผลเช่นเดียวกับวิธี HPLC ซึ่งให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและแม่นยำสูง (เพอซา, 2548) โดยมีขั้นตอนดังนี้

ตัวอย่างอาหารข้นโคนม

เก็บตัวอย่างอาหารข้นโคนมของแต่ละฟาร์มในเขตภาคตะวันตก จำนวน 50 ตัวอย่าง ระหว่างเดือนสิงหาคมถึงเดือนพฤศจิกายน 2549 ได้แก่ จังหวัดนครปฐม จำนวน 14 ตัวอย่าง จังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง จังหวัดราชบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง และจังหวัดเพชรบุรี จำนวน 12 ตัวอย่าง ซึ่งในแต่ละตัวอย่างจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างประมาณ 5-10 จุด ของอาหารข้นโคนมที่อยู่ในฟาร์มประมาณ 1-2 กิโลกรัม เมื่อสุ่มเก็บตัวอย่างเรียบร้อยแล้ว นำตัวอย่าง

เก็บไว้ในถุงพลาสติกสูญญากาศ เพื่อป้องกันความชื้นจากภายนอกเข้าไปในตัวอย่าง แล้วนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจวิเคราะห์หาอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ต่อไป

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างอาหารข้นโคนมที่เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาคลุกเคล้ากันให้ทั่วอีกครั้งหนึ่ง แล้วบดให้ละเอียดด้วยครกหรือเครื่องบด โดยอาหารข้นโคนมชนิดเม็ดทำการบดด้วยครก ส่วนอาหารข้นชนิดผงทำการบดด้วยเครื่องบด (Subsampling Mill Model 2A) เมื่อได้ตัวอย่างที่ละเอียดแล้ว นำตัวอย่างไปชั่งน้ำหนักที่ 25 กรัมต่อ 1 ตัวอย่าง (ประพฤกษ์ และปกรณ์, 2549)

การสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่างอาหารที่บดละเอียด 25 กรัม เติมสารละลายที่ได้จากการเตรียมน้ำกลั่นและอะซิโตไนไตรด์ (Acetonitrile/Water) ในอัตราส่วน 84 ต่อ 16 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร แล้วนำมาเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (wrist action shaker) เป็นเวลา 90 นาที ที่ 250 รอบต่อนาที หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4 ได้ออกมาเป็นสารละลาย

การกำจัดสิ่งเจือปน

นำสารละลายที่กรองได้ จำนวน 10 มิลลิลิตร เติมกรดอะซิติก จำนวน 35 ไมโครลิตร ก่อนนำไปกรองผ่าน MycoSep® 226 Column ผลิตโดยบริษัท Romer Labs เพื่อให้ได้สารละลายที่มีความปนเปื้อนน้อยที่สุด (clean up column) จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร นำไปเข้าตู้อบสูญญากาศ (vacuum dry) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ประมาณ 30 นาที รอจนสารละลายระเหยจนแห้ง แล้วเติมสารละลายที่ได้จากการเตรียมโทลูอีนและอะซิโตไนไตรด์ (Toluene/Acetonitrile) ในอัตราส่วน 95 ต่อ 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 400 ไมโครลิตร ลงในสารละลายที่ระเหยแห้งแล้ว เพื่อให้ได้สารละลายสำหรับวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป (ประพฤกษ์ และปกรณ์, 2549)

การเคลื่อนที่ของสารพิษบนตัวดูดซับ

นำสารละลายปริมาณ 100 ไมโครลิตร หยดลงบน thin layer plate ที่มี silica gel HL w/organic binder เป็นส่วนประกอบ ขนาด 10x20 เซนติเมตร รุ่น Uniplate ผลิตโดยบริษัท Analtech ด้วยเครื่อง TLC Autospotter รุ่น Model 10 (Mycosep) ผลิตโดยบริษัท Romer Labs ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จากนั้น ปล่อยให้สารละลายเคลื่อนที่บนโทลูอีนและอะซิโตน (Toluene/Acetone) อัตราส่วน 1 ต่อ 1 ในภาชนะที่ปิดสนิท จนเหลือระยะห่าง 1 เซนติเมตร จากปลายด้านบนแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปส่องดูภายในเครื่องส่องแสงอุลตร้าไวโอเลต (Ultraviolet Chromatovue) โดยเปรียบเทียบความเข้มแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร และวัดระดับความเข้มแสงที่เรืองออกมาเปรียบเทียบกับอะฟลาท็อกซินมาตรฐานด้วยตาเปล่า

การตรวจหาปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซิน

การตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 โดยการเปรียบเทียบความเข้มของแสงกับอะฟลาท็อกซินมาตรฐานนั้นเป็นการเปรียบเทียบแสงที่เรืองออกมาว่าใกล้เคียงหรือเท่ากับแสงที่เรืองออกมาจากอะฟลาท็อกซินมาตรฐานที่ระดับ 2, 4 และ 8 ppb (part per billion) ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 0.125 กรัม (Romer Laboratory Asia, 2004)

การคำนวณหาปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในตัวอย่าง 1 กรัม

ในการทดลองใช้อะฟลาท็อกซินมาตรฐานที่ระดับ 2, 4 และ 8 ppb ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 0.125 กรัม

ดังนั้น ค่าความเข้มแสงที่อ่านได้ 2 นาโนกรัม

= 2 x 8 นาโนกรัมต่อกรัม หรือ ppb

= 16 นาโนกรัมต่อกรัม หรือ ppb

ปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ที่พบบันทึกหน่วยเป็น ppb หรือนาโนกรัมต่อกรัม การเปรียบเทียบข้อมูลของปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ที่พบในแต่ละจังหวัดบันทึกข้อมูลเป็นร้อยละของปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ที่พบ

ผลการศึกษา

ผลการตรวจอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตก พบอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 จำนวน 27 ตัวอย่าง พบอะฟลาท็อกซินที่ระดับน้อยกว่า 20 ppb จำนวน 14 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 28 พบอะฟลาท็อกซินที่ระดับตั้งแต่ 21-50 ppb จำนวน 7 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14 พบอะฟลาท็อกซินที่ระดับ 51-100 ppb จำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 8 พบอะฟลาท็อกซินที่ระดับ 101-150 ppb จำนวน 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 4 และไม่พบอะฟลาท็อกซินเลย จำนวน 23 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 46 ตามลำดับ (ตารางที่ 1) ซึ่งผลการตรวจอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ของประเทศไทย เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2537 สำหรับโคนมที่อายุมากกว่า 1 ปี ให้มีอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 200 ppb แต่ในข้อกำหนดของคณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารสากล FAO/WHO (CODEX) กำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 20 ppb ซึ่งผลการตรวจอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 พบว่าผ่านเกณฑ์มาตรฐานของคณะกรรมาธิการโครงการมาตรฐานอาหารสากล คิดเป็นร้อยละ 74 และไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 13 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 26 ซึ่งจากผลการทดลองสามารถนำมาใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาข้อมูลด้านสารพิษอะฟลาท็อกซินในน้ำนมโคในเขตภาคตะวันตกต่อไปได้ว่า โอกาสที่จะพบอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมโคนั้นมีสัดส่วนที่สอดคล้องกับปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ที่ตรวจพบในอาหารข้นโคนมหรือไม่ และมีความเสี่ยงที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภคมากน้อยเพียงใด

ตารางที่ 1 ผลการตรวจอะฟลาท็อกซินชนิด B_1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกที่ระดับต่าง ๆ

ระดับ AFB_1 (ppb)	<20*	21-50*	51-100*	101-150*	ไม่พบ	รวม
นครปฐม	2 (14%)	-	-	2 (14%)	10 (72%)	14
กาญจนบุรี	3 (25%)	2 (17%)	2 (17%)	-	5 (41%)	12
ราชบุรี	3 (25%)	5 (41%)	2 (17%)	-	2 (17%)	12
เพชรบุรี	6 (50%)	-	-	-	6 (50%)	12
รวม	14	7	4	2	23	50

หมายเหตุ.

*จำนวนตัวอย่าง

ผลแสดงเป็นจำนวนตัวอย่างที่พบ AFB_1 (ร้อยละ)

อภิปรายและสรุปผลการศึกษา

การตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมในเขตภาคตะวันตกด้วยวิธี thin layer chromatography (TLC) เป็นวิธีการที่มีการยอมรับ และนำมาใช้ในการตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินซึ่งให้ผลที่มีความถูกต้อง และแม่นยำสูงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น ๆ แต่ต้องอาศัยความชำนาญในการอ่านค่าระดับความเข้มแสงของอะฟลาท็อกซินด้วยตาเปล่าผ่านเครื่องส่องแสงอุลตร้าไวโอเลต (Ultraviolet Chromatovue) จากการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารข้นโคนม จำนวน 50 ตัวอย่าง สรุปผลได้ดังนี้

1. พบอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนม จำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54 ถือว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2537 ที่ให้มีอะฟลาท็อกซินในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 200 ppb สำหรับโคนมที่อายุมากกว่า 1 ปี แต่ถ้าเปรียบเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานของ FAO/WHO (CODEX) ที่กำหนดค่าของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 20 ppb จะพบ จำนวน 13 ตัวอย่าง ที่เกินกว่าค่ามาตรฐาน 21-150 ppb คิดเป็นร้อยละ 26 โดยสารพิษอะฟลาท็อกซินนี้ สามารถส่งผ่านไปในรูปของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมได้ ซึ่งอาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค

2. ผลการตรวจวิเคราะห์ถือว่าอาหารข้นที่ใช้สำหรับเลี้ยงโคนมมีคุณภาพ และผ่านเกณฑ์มาตรฐานคุณภาพอาหารสัตว์ของประเทศไทยทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ นพดล และเพชรรัตน์ (2549) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของ CODEX ที่กำหนดระดับของอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 20 ppb พบว่ามีโอกาสพบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมได้ โดยอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 สามารถส่งผ่านไปยังน้ำนมในรูปของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในสัดส่วน 100 ต่อ 1 ดังนั้นการตรวจพบปริมาณอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในเขตภาคตะวันตกที่ระดับ 21-150 ppb ซึ่งเป็นระดับที่อยู่ในเกณฑ์อันตรายโอกาสที่จะพบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินชนิดเอ็ม 1 ในน้ำนมจึงมีสูง

3. จังหวัดที่มีจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพิษอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานของ CODEX โดยเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ ราชบุรี กาญจนบุรี นครปฐม และเพชรบุรี ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณอะฟลาท็อกซินพบว่า จังหวัดนครปฐมมีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินชนิดบี 1 ในอาหารข้นโคนมสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับจังหวัดอื่น ๆ อาจเนื่องมาจากไม่มีการตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบเพื่อคัดเลือกวัตถุดิบก่อนการผสม การรักษาความสะอาดในขั้นตอนการผลิต การเก็บรักษาวัตถุดิบ และการขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ซึ่งข้อมูลเหล่านี้สามารถติดตามได้โดย การทำแบบสอบถามข้อมูลเบื้องต้นด้านวัตถุดิบ

ดังนั้น จึงเป็นเรื่องสำคัญที่ทั้งภาครัฐและเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมต้องตระหนักถึงคุณภาพของอาหารข้นที่ใช้เลี้ยงโคนมและอันตรายจากสารพิษอะฟลาท็อกซินให้มากขึ้น โดยกำหนดแนวทางการควบคุมและป้องกัน เพื่อลดการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารข้นโคนมให้น้อยลง โดยภาครัฐควรพิจารณากำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินให้อยู่ในระดับต่ำกว่าค่ากำหนดเดิม ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2537 ที่ให้มีอะฟลาท็อกซินในอาหารข้นโคนมไม่เกิน 200 ppb โดยกำหนดระดับของอะฟลาท็อกซินให้มีความใกล้เคียงหรือเทียบเท่ากับมาตรฐานสากลที่กำหนดระดับของอะฟลาท็อกซินในอาหารข้นโคนมไว้ไม่เกิน 20 ppb การควบคุมในเรื่องคุณภาพวัตถุดิบอาหารสัตว์ต้องเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนการเพาะปลูกโดยมีการคัดเลือกสายพันธุ์ของวัตถุดิบที่มีความต้านทานต่อเชื้อราสูง ควบคุมความชื้นของวัตถุดิบเนื่องจากความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตและสร้างสารพิษของเชื้อรา โดยจัดการสถานที่และสภาพโรงเรือนที่ใช้เก็บให้พ้นจากความชื้น และกำหนดมาตรการที่จะตรวจสอบวัตถุดิบอาหารสัตว์จากผู้ผลิตหรือผู้จำหน่ายอย่างเคร่งครัด รวมทั้งให้ความรู้และฝึกอบรมแก่ผู้เลี้ยงโคนมโดยหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ขณะเดียวกันการป้องกันการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในฟาร์มเกษตรกรต้องขึ้นอยู่กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมโดยตรง โดยเกษตรกรควรมีความรู้ความเข้าใจและตระหนักถึงอันตรายที่อาจเกิดขึ้นจากการใช้อาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของเชื้อรา ควรมีวิธีการคัดเลือกวัตถุดิบที่นำมาใช้ผสมในอาหารสัตว์ รวมทั้งรู้จักวิธีการเก็บรักษาอาหารสัตว์อย่างถูกต้อง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โดยงบประมาณของโครงการย่อยบัณฑิตศึกษาและวิจัยสาขา

เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร ภายใต้โครงการบัณฑิตศึกษาและวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (1 กุมภาพันธ์ 2537). *ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ พ.ศ. 2537*.

คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์. (2545). ความปลอดภัยของอาหารสัตว์. *วารสารข่าวปศุสัตว์*, *25*(212), 16-19.

คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์ และ อดิลักข์ เล็บนาค. (2538). ผลการตรวจสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์. *สาส์นไก่และการเกษตร*, *43*(10), 47-53.

นพดล มีมาก และ เพชรรัตน์ ศักดินันท์. (2549). อะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมจากภาคตะวันตกของประเทศไทย. สืบค้นข้อมูลเมื่อวันที่ 11 ธันวาคม 2550, จาก http://www.dld. go.th/vrd_wp/article/aflatoxin.pdf

เบญจมาศ มโหสถนันทน์. (2544). *การหาชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ผสมในอาหารข้น และชนิดของอาหารหยาบสำหรับเลี้ยงโคนมที่มีผลกระทบต่ออัตราการขับออกของสารพิษอะฟลาท็อกซินทางน้ำนมของแม่โครีดนม*. การสัมมนาเรื่องการแก้ปัญหาอะฟลาท็อกซินในอาหารและอาหารสัตว์แบบครบวงจร: ชลบุรี.

ประพฤกษ์ ตั้งมั่นคง และ ประกรณ์ จาละ. (2549). *การตรวจหาสารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) งานตรวจหาสารพิษจากเชื้อรา*. นครปฐม: คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

เพอซา เฮงตระกูล. (ไม่ปรากฏวันที่ เดือน ปีที่ เผยแพร่). Aflatoxins และการตรวจวัด. สืบค้นข้อมูลเมื่อวันที่ 7 กุมภาพันธ์ 2551, จาก http://www.sithiphorn.com/newweb/newsletter/31-3-2005-1112262542.pdf

มาลินี ลิ้มโภคา. (2527). *พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์*. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์จรัลสนิทวงศ์.

Davis, N. D., & Diener, U. L. (1987). Mycotoxin. In L. R. Beuchat (Ed.), *Food and Beverage Mycology* (pp. 518-598). New York: Van Nostrand Reinhold.

Diaz, S., Dominguez, L., Prieta, J., Blanco, J. L., & Moreno, M. A. (1995). Application of a diphasic dialysis membrance procedure for surveying occurrence of aflatoxin M1 in commercial milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *43*, 2678-2680.

Galvano, F., Ritieni, A., Piva, G., & Pietri, A. (2005). A mycotoxins in the human food chain. In D. E. Diaz (Ed.), *Mycotoxins Blue Book* (pp. 187-224). Nottingham, United Kingdom: Nottingham University Press.

Heathcote, J. G. (1984). Aflatoxin and related toxins. In V. Betina (Ed.), *Mycotoxins-Production, Isolation, Separation and Purification*. Amsterdam: Elsevier.

McKean, C., Tang, L., Tang, M., Billam, Z., Wang, M., Theodorakis, C. W., et al. (2005). Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and fumonisin B1 in animals and human cells. *Food and Chemical Toxicology*, 44, 868-876.

Romer Laboratory Asia. (2000). *Aflatoxin B1, B2, G1, G2 TLC MycoSep® 226 AflaZon+ method*. Retrived February 7, 2008, from http://www.romerlabs.com/new2004.html

Wilson, D. A., & Payne, G. A. (1994). Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of crops. In D. L. Eaton, & J. D. Groopman (Eds.), *The Toxicology of Aflatoxins*. (pp. 309-326). New York: Academic Press.