เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 2553;8(1):11 - 16

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 ในนมพาสเจอไรซ์จากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ของประเทศไทย

วาทินี นาคประเสริฐ [1], **อุไร เต็งเจริญกุล** [2], **วิทยา สุริยาสถาพร** [1]

[1] *คลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

[2] *คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่*

บทคัดย่อ ทำการเก็บตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรซ์จำนวน 110 ตัวอย่างจากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ เพื่อวิเคราะห์หาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินเอ็ม 1 (AFM_1) โดยใช้คอลัมน์ที่มีแอนติ้บอดี้ต่อ AFM_1 และนำไปหาปริมาณ AFM_1 ด้วยเครื่องไฮเปอร์ฟอร์เมนซ์ลิควิดโครมาโทรกราฟี (HPLC) ซึ่งต่อกับเครื่องวัดสารเรืองแสง ผลการวิเคราะห์ตรวจพบ AFM_1 ในนมพาสเจอไรซ์ร้อยละ 85.45 (94/110) ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.004-0.211 µg/L โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยของ AFM_1 เป็น 0.04 µg/L ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเป็น 0.04 และค่ามัธยฐานเป็น 0.027 µg/L โดยพบว่าร้อยละ 30 ของตัวอย่างทั้งหมดมีค่าเกินมาตรฐานที่กำหนดของ European communities commission regulation ซึ่งระบุไว้ว่าน้ำนมไม่ควรมีระดับของ AFM_1 เกิน 0.05 µg/L สรุปได้ว่าพบการปนเปื้อนของ AFM_1 ในน้ำนมจากตลาดท้องถิ่นของจังหวัดเชียงใหม่แต่ทั้งหมดไม่เกินค่ามาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (0.5 µg/L) **เชียงใหม่สัตวแพทยสาร** 2553;8(1): 11 - 16

คำสำคัญ : นมพาสเจอไรซ์, อะฟลาท็อกซินเอ็ม 1, ไฮเปอร์ฟอร์เมนซ์ลิควิดโครมาโทรกราฟี, คอลัมน์ที่มีแอนติ้บอดี้, ประเทศไทย

บทนำ

สารพิษจากเชื้อรา (mycotoxin) เป็นสารพิษธรรมชาติที่สร้างมาจากเชื้อรา ซึ่งมักได้รับจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษต่าง ๆ ปนเปื้อน ปัญหาการปนเปื้อนเชื้อราในอาหารคนและสัตว์เป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และยังทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก [1,2].

สารพิษจากเชื้อราที่รู้จักกันทั่วไปคือ อะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) ซึ่งเป็นสารเมตาโบไลท์ที่สร้างมาจากเชื้อราตระกูล Aspergillus คือ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* และ พบได้บ้างจาก *Aspergillus nomius* โดยปนเปื้อนมาในพืชอาหารต่าง ๆ และวัตถุดิบอาหาร อะฟลาทอกซิน B_1 ให้ความเป็นพิษที่รุนแรงมากที่สุดในกลุ่ม โดยทำให้เกิดพิษต่อตับไต ลดภูมิต้านทาน [3, 4] นอกจากนี้ยังทำให้เกิดความเสียหายของ DNA, RNA และโปรตีนภายในเซลล์ซึ่งก่อให้เกิดการกลายพันธุ์และก่อมะเร็งได้ [5] การนำอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินไปเลี้ยงสัตว์ สัตว์จะมีอัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายเพิ่มขึ้น ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ลดลง คุณภาพไข่ลดลง ขนาดไข่ลดลง การฟักไข่ลดลง เปลือกไข่บางลง

ติดต่อขอสำเนาบทความได้ที่ : วิทยา สุริยาสถาพร, คลินิกสัตว์เคี้ยวเอื้อง ภาควิชาคลินิกสัตว์บริโภค คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ต.แม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50100; E-mail: Suriyasathaporn@hotmail.com
ได้รับบทความวันที่ 17 ธันวาคม 2552

สำหรับคนโรคที่ตรวจพบอันเนื่องมาจากสารอะฟลาทอกซินได้แก่ โรคมะเร็งตับ โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคสมองอักเสบ นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติที่อวัยวะอื่นร่วมด้วย เช่น เซลล์ปอดผิดปกติ เซลล์หลอดลมผิดปกติ [6] เมื่อแม่โคได้กินอาหารที่มีอะฟลาทอกซิน B_1 ปนเปื้อนอยู่อะฟลาทอกซิน B_1 จะถูกเปลี่ยนแปลงผ่านขบวนการเมตาโบไลท์ได้เป็น อะฟลาทอกซินเอ็ม 1 และถูกขับออกมาในน้ำนม ซึ่งการพบการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในผลิตภัณฑ์นมนั้นถือเป็นปัญหาที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยเฉพาะเด็กซึ่งบริโภคนมเป็นอาหารหลัก หากมีการบริโภค AFM_1 เกินระดับ tolerable daily intake 0.2 ng/kg ของน้ำหนักตัวก็จะ ทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ [5]

พื้นที่แถบโซนร้อนเช่นในทวีปเอเชีย มีสภาวะความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อรา ซึ่งน่าจะพบการปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารได้มากขึ้น มีรายงานการเกิดมะเร็งตับมีสาเหตุส่วนมากจากการได้รับสารอะฟลาทอกซินในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เช่นประเทศไทย [7]เนื่องจากความรุนแรงและความเป็นพิษของอะฟลาทอกซิน ประเทศต่างๆ จึงได้ทำการวิจัยเพื่อหาระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 เพื่อป้องกันอันตรายกับผู้บริโภค มีการกำหนดมาตรฐานปริมาณอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ที่ยอมให้มีการปนเปื้อนในน้ำนมและผลิตภัณฑ์จากนมในประเทศพัฒนาแล้ว [8] อย่างไรก็ตามประเทศกำลังพัฒนาส่วนมากก็ยังไม่มีการกำหนดมาตรฐานปริมาณอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 [9]สำหรับประเทศไทยนั้นยังไม่มีการควบคุมเกี่ยวกับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในนมและผลิตภัณฑ์ มีเพียงแต่ควบคุมให้อาหารโคนมไม่ควรมีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน B_1 เกิน 20 ppb ในประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 [10] (พ.ศ. 2529) นอกจากนี้ประเทศไทยยังมีการศึกษาการปนเปื้อนของปริมาณอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในน้ำนมที่มีขายในท้องตลาดอยู่จำกัด

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในน้ำนมพาสเจอไรซ์จากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ตัวอย่าง

ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2552 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรซ์ขนาด 250 มิลลิลิตร เฉลี่ยเดือนละ 11 ตัวอย่างรวมทั้งหมดจำนวน 110 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมพาสเจอไรซ์ที่หาซื้อได้ทั่วไปในประเทศไทย โดยทำการเก็บตัวอย่างจากตลาดท้องถิ่นในจังหวัดเชียงใหม่ ใส่กล่องโฟมที่มีน้ำแข็งเพื่อรักษาอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 4-7 องศาเซลเซียสแล้วนำตัวอย่างนมมาเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 [11,12]

การวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินเอ็ม 1

วิธีการวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ทำตามวิธีการในงานวิจัยของ ดวงจันทร์และวนิดา[13] โดยดัดแปลงบางส่วนมาจากคู่มือการใช้คอลัมน์ที่มีแอนติบอดี้ต่ออะฟลาทอกซิน (immunoaffinity columns)[14] โดยนำตัวอย่างน้ำนม 40 มิลลิลิตรมาเติมเกลือ 1 กรัม นำไป centrifuge ที่ 2000 g เป็นเวลา 10 นาทีเพื่อแยกไขมัน นำน้ำนมที่แยกชั้นไขมันออกแล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำส่วนที่กรองได้มา 10 มิลลิลิตร ผ่านลงใน AflaTest-P column ปล่อยให้ไหลในอัตรา 1-2 หยด

ต่อวินาทีจนคอลัมน์แห้งสนิท เติมน้ำยา 10% methanol : 90% water ลงในคอลัมน์แล้วล้างคอลัมน์ด้วยน้ำยาปริมาณ 10 มิลลิลิตร 2 ครั้งในอัตรา 1-2 หยดต่อวินาทีจนคอลัมน์แห้งสนิท ชะล้างอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ออกจากคอลัมน์ด้วยน้ำยา 80% methanol : 20% ปริมาณ 1 มิลลิลิตรในอัตรา 1-2 หยดต่อวินาที เก็บสารสกัดที่ได้ทั้งหมดในขวดเก็บตัวอย่าง

นำสารสกัดที่ได้วิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินเอ็ม 1ด้วยเครื่อง HPLC โดยนำสารสกัด 50 ไมโครลิตรฉีดเข้าเครื่อง HPLC ที่มีสภาวะดังนี้ mobile phase เป็น 45% methanol และ 55% water อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส , flow rate: 0.8 ml/minute, fluorescence detector ที่ excitation 360 nm และ emission 440 nm โดย peak ของ AFM_1 จะปรากฏที่เวลาประมาณ 1.8 นาที

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม1 แสดงด้วยค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และทำการเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานของสากลดังนี้

1. ค่ามาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (0.5 µg/L)[15]

2. ค่ามาตรฐานของ European community/Codex Alimentarius recommended limit (0.05 µg/L)[16]

ผลการศึกษา

วิธีการวิเคราะห์มีค่า LOD และ LOQ เป็น 0.004 และ 0.01 µg/L ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้จากตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรซ์ทั้งหมดจำนวน 110 ตัวอย่าง พบว่ามีเพียง 16 ตัวอย่างเท่านั้นที่ตรวจไม่พบอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ซึ่งระดับการปนเปื้อนได้ถูกแสดงในตารางที่ 1จากทั้งหมด 110 ตัวอย่างตรวจพบ AFM_1 ทั้งหมด 94 ตัวอย่าง (85.45%) โดยมีค่าความเข้มข้นระหว่าง 0.004-0.211 µg/L ของน้ำนม (ค่าเฉลี่ยเป็น 0.04±0.04 µg/L) และค่ามัธยฐานเป็น 0.027 µg/L โดยพบว่าค่าความเข้มข้นของ AFM_1 ในช่วงฤดูร้อน (มีนาคม-พฤษภาคม) มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 0.044 µg/L สำหรับฤดูหนาวและฤดูฝนมีค่าใกล้เคียงกันคือ 0.032 และ 0.036 µg/L ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างที่ตรวจพบมีค่าไม่เกินค่ามาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (0.5 µg/L) อย่างไรก็ตามพบว่า 33 ตัวอย่าง (30% ของตัวอย่างทั้งหมด) มีค่าการปนเปื้อนเกินค่ามาตรฐานของ Europea community / Codex Alimentarius recommended limit(0.05 µg/L)

ตารางที่ 1 ปริมาณที่ตรวจพบของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1ในน้ำนมพาสเจอไรซ์

ค่าความเข้มข้นของ AFM_1 (µg/L)	**จำนวน**
< 0.01	29/110 (26%)
0.01- 0.049	48/110 (44%)
0.05 - 0.499 มาตรฐานของกลุ่มประเทศยุโรป (0.05 µg/L)	33/110 (30%)
≥ 0.5 มาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (0.5 µg/L)	0/110(0%)

วิจารณ์

จากผลการทดลองในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองอื่นในประเทศไทยพบว่าให้ผลเช่นเดียวกับ Ruangwises [17] ซึ่งพบว่ามีการปนเปื้อนของ AFM_1 ในน้ำนมพาสเจอไรซ์ทั้งหมดจำนวน 150 ตัวอย่าง โดยมีระดับการปนเปื้อนไม่เกินค่ามาตรฐานของประเทศสหรัฐอเมริกา (0.5 µg/L)

อย่างไรก็ตามการทดลองครั้งนี้พบว่าในน้ำนมพาสเจอไรซ์มีระดับการปนเปื้อนของ AFM_1 ที่ต่ำกว่างานวิจัยของดวงจันทร์และวนิดา [18] ซึ่งพบว่ามีการปนเปื้อนของตัวอย่างน้ำนมดิบ 41 ตัวอย่างจากทั้งหมด 88 ตัวอย่าง (46.6%) โดย 33 ตัวอย่าง (37.5%ของตัวอย่างทั้งหมด) มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยจาก 0.05-0.5 µg/L ของน้ำนมและพบว่าน้ำนม 4 ตัวอย่าง (4.5%ของตัวอย่างทั้งหมด) มีค่าความเข้มข้นสูงกว่า 0.5 µg/L อาจเป็นผลมาจากมีการพัฒนาของคุณภาพน้ำนมในแนวทางที่ดีขึ้น จึงทำให้งานวิจัยในครั้งนี้พบระดับการปนเปื้อนที่น้อยกว่างานวิจัยของดวงจันทร์และวนิดา

สำหรับการพบระดับการปนเปื้อนของ AFM_1 ในช่วงฤดูร้อนมากที่สุด อาจเป็นผลมาจากเป็นช่วงที่โคนมมีการบริโภคพืชอาหารสัตว์ที่ทำการเก็บจากฤดูเก็บเกี่ยวเพื่อมาใช้ในฤดูแล้งเช่น ฤดูหนาวและฤดูร้อน จึงเหมาะสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราในพืชอาหารสัตว์ ทำให้พบการปนเปื้อนอยู่ในระดับสูงกว่าฤดูฝน [4,19]

การตรวจอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในน้ำนมครั้งนี้พบว่ามีจำนวนตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนเป็นจำนวนมาก แม้ว่าจะต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม โดยประเทศสหรัฐอเมริกาคือ 0.5 µg/L แต่มาตรฐานของประเทศทางยุโรปโดย European communities commission regulation กำหนดไว้เพียง 0.05 µg/L ดังนั้นหากมีการบริโภคนมดังกล่าวอย่างต่อเนื่องก็จะมีผลต่อสุขภาพ ทำให้ร่างกายอ่อนแอ ก่อให้เกิดโรคได้ง่าย ทั้งยังอาจก่อให้เกิดการเป็นมะเร็งอีกด้วย [6] ดังนั้นจึงเป็นหน้าที่ของภาครัฐที่จะทำการตรวจสอบตัวอย่างน้ำนมอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการกำหนดค่ามาตรฐานอะฟลาทอกซินที่ยอมให้ปนเปื้อนในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมได้ นอกจากนี้จึงควรให้ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการจัดการฟาร์มที่ดีแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมเพื่อช่วยลดระดับการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินในน้ำนมดิบ ทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคของประเทศ

สรุปผล

ตัวอย่างน้ำนมพาสเจอไรซ์จากตลาดท้องถิ่นใน จังหวัดเชียงใหม่ของประเทศไทยทั้งหมดจำนวน110 ตัวอย่าง พบร้อยละ 85.45 มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม 1 และร้อยละ 30 ของตัวอย่างทั้งหมดอยู่ในระดับที่สูงกว่าค่ามาตรฐานของ European communities commission regulation กำหนดไว้ที่ 0.05 µg/L โดยมีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเป็น 0.04±0.04 µg/L และค่ามัธยฐานเป็น 0.027 µg/L โดยพบว่าค่าความเข้มข้นของ AFM_1 ในช่วงฤดูร้อน (มีนาคม-พฤษภาคม) มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุด

เอกสารอ้างอิง

1. Imsilp K., Poapolathep A, Poapolathep S. Risk assessment of mycotoxins. J Kasetsart Veterinarians. 2006; 16: 21.
2. Osweiler GD. Clinical and diagnostic veterinary toxicology. Iowa: Kendall/Hunt, 1985: 494.
3. Kluge JP. Mycotoxin. In: Osweiler, GD. Editor. USA. Toxicology, A Waverly company. 1996.
4. Tajkarimi M, Aliabadi F, Salah NA, Poursoltani H, Motallebi A, Mahdavi H. Seasonal study of aflatoxin M1 contamination in milk in five regions in Iran. Int J Food Microbiol. 2007; 116: 346-9.
5. Prandini A, Tansini G, Sigolo S, Filippi L, Laporta M, Piva G. On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. Food Chem Toxicol. 2007; 10: 1-8
6. อนงค์, บ., สารพิษจากเชื้อรา : อะฟลาทอกซิน. 2546:ภาควิชาเภสัชวิทยาคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
7. Saitanu K. Incidence of aflatoxin M1 in Thai milk products. J Food Protection. 1997; 60: 1010-12.
8. Coppock RW, Christian RG. Mycotoxins. In: Gupta, RC. Editor. India. Veterinary toxicology basic and clinical principle, A Macmillan company, 2007; 939.
9. Suttajit M. A prespective review of aflatoxin research in Thailand. J Kasetsart Veterinarians, 2006; 16: 22.
10. กระทรวงสาธารณสุข, มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน. ประกาศฯฉบับที่ 98, 2529.
11. Meerdink GL. Mycotoxins. In: Plumlee, KH. Editor. USA. Clinical Veterinary Toxicology. Mosby, 2004, 231.
12. Unusan N. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. Food Chem Toxicol, 2006; 44: 1897-900.
13. Suprasert D, Arkanurak N. Comparison of AflaTest-P and Afla-M1 Column for Aflatoxin M1 Analysis in Milk.. Kasetsart J. 1998; 32: 292-298.
14. Technology VS. AflaTest ® instruction manual 1999.
15. FAO. Worldwide regulation for mycotoxins in food and feed in 2003. In: FAO Food and Nutrition Paper. 2004.
16. Codex Alimentarius Commissions. Comments submitted on the draft maximum level for aflatoxin M1 in milk in Codex committee on food additives and contaminants. 33rd sessions. Hauge, The Netherlands, 2001.
17. Ruangwises S, Nongluck R. Occurrence of aflatoxin M1 in pasteurized milk of the school milk project in Thailand. J Food Protection. 2009; 72: 1761-63.
18. Suprasert D, Yurayart V. Contamination of aflatoxin M1 in cow milk and soya milk. Kasetsart veterinarians. 2002; 12: 1-7.
19. Hussain I, Jamil A. A study on contamination of aflatoxin M1 in raw milk in the Punjab province of Pakistan. Food Control. 2008; 19: 393-395.