รหัสโครงการ SUT1-304-42-36-04

รายงานการวิจัย

การศึกษาสภาวะการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในอาหารโคนมและในผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน

The Investigation into Contamination Conditions of Mycotoxin in Dairy Feed and in Pasteurized and UHT Milk Products

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์

สาขาวิชาชีววิทยา

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผศ. ดร. สุนทร กาญจนทวี

รศ. ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2542-2543

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

มกราคม 2546

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้ง นี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ 2542-2543 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่เล็งเห็นความสำคัญและให้ทุนสนับสนุนโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ฟาร์มมหาวิทยาลัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำหรับสถานที่ทำการวิจัย อุปกรณ์ และเครื่องมือต่าง ๆ ที่ใช้ในงานวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และสถานวิจัยสำนักวิชาวิทยาศาสตร์ที่ให้ความสนับสนุนและอำนวยความสะดวกอย่างต่อเนื่อง ขอขอบคุณฟาร์มโคนมของ องค์การส่งเสริมโคนมแห่งประเทศไทย และเกษตรกรรายย่อย เขตอำเภอขามทะเลสอ จังหวัดนครราชสีมาสำหรับความช่วยเหลือและการอำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง

ขอขอบคุณ ผศ. ดร. วิรัฐ เรืองศรีตระกูล และ ดร. ดวงจันทร์ สุประเสริฐ ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ยืมสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B1 และ M1 ระหว่างที่รอการสั่งซื้อจากต่างประเทศ ตลอดจนให้คำแนะนำเทคนิคการสกัด และวิเคราะห์อะฟลาท็อกซิน

ท้ายสุดขอขอบคุณคุณพ่อ-คุณแม่ สมาชิกในครอบครัว ที่เป็นขวัญและกำลังใจให้มีพลังในการทำงานและฟันฝ่าอุปสรรคต่าง ๆ จนงานวิจัยสำเร็จด้วยดี

เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์
หัวหน้าโครงการ

บทคัดย่อ

จากการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 ในเดือนพฤษภาคม เพื่อศึกษาสภาวะการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนม น้ำนมดิบ และในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มหลังการแปรรูปด้วยความร้อนพบว่า อาหารโคนมทั้ง 6 ฟาร์ม มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 อยู่ในช่วง 37.47-201.38 ppb อะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบ อยู่ในช่วง 0.16-0.75 ppb การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมไปยังน้ำนมดิบอยู่ในช่วง 0.35-1.02% และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบจากฟาร์มที่ 1 สู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์เท่ากับ 62.5% ผลการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 ในเดือนกันยายน ให้ผลที่ใกล้เคียงกัน กล่าวคือการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 อยู่ในช่วง 44.05-163.65 ppb อะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบ อยู่ในช่วง 0.16-0.34 ppb การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมไปยังน้ำนมดิบ อยู่ในช่วง 0.20-0.55% และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบจากฟาร์มที่ 1 สู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ ยังคงมีค่าสูงคือ 68.58 %

Abstract

Results from the first sampling during May in the study of aflatoxin levels in dairy cow feeds, raw milk and milk products showed that the dairy cow feeds in six farms were contaminated with aflatoxin B_1, ranging from 37.47 to 201.38 ppb. Raw milk from the cows fed with the contaminated feeds had aflatoxin M_1 ranging from 0.16-0.75 ppb. The carry-over of aflatoxin in dairy cow feeds to raw milk was between 0.35-1.02%. In the farm number one, there was a transfer of aflatoxin M_1 from raw milk to pasteurized milk products of 62.5%. The second sampling in September gave the similar results. The dairy cow feeds in the same six farms were contaminated with aflatoxin B_1 ranging from 44.05 to 163.65 ppb. Raw milk from the cows fed with the contaminated feeds had aflatoxin M_1 ranging from 0.16 –0.34 ppb. The carry-over of aflatoxin in dairy cow feeds to raw milk was between 0.20-0.55%. The transfer of aflatoxin M_1 from raw milk to pasteurized milk products from the farm number one was still at high level of 68.58%.

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ ..... ก

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ข

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค

สารบัญ ..... ง

สารบัญตาราง ..... จ

สารบัญภาพ ..... ฉ

บทที่ 1 บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย 2

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชนิดและโครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน..... 3

2.2 คุณสมบัติของอะฟลาท็อกซิน..... 5

2.3 การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาท็อกซินภายในร่างกาย..... 5

2.4 ความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินในสัตว์ทดลองและในคน..... 7

2.5 วิธีการตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน..... 9

2.6 การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์..... 9

2.7 การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ในน้ำนม..... 11

2.8 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M1 ที่ตรวจพบในประเทศไทย..... 13

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่าง..... 15

3.1.1 การสุ่มตัวอย่างอาหารโคนมสำเร็จรูป..... 15

3.1.2 การสุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนการแปรรูปด้วยความร้อน..... 15

3.1.3 การสุ่มตัวอย่างน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน..... 15

3.1.4 การสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำนมพร้อมดื่มที่วางขาย ตามท้องตลาด..... 15

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1..... 16

3.2.1 เครื่องมือ..... 16

3.2.2 สารเคมี..... 16

3.2.3 การสกัดอะฟลาท็อกซิน B_1..... 17

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.4 การชะล้างสารที่สกัดได้ให้สะอาดด้วย chromatography column..... 18
3.2.5 การวิเคราะห์ด้วย HPLC..... 19
3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1..... 21
3.3.1 เครื่องมือ..... 21
3.3.2 สารเคมี..... 21
3.3.3 การสกัดอะฟลาท็อกซิน M_1..... 22
3.3.4 การชะล้างสารที่สกัดได้ให้สะอาดด้วย chromatography column..... 22
3.3.5 การวิเคราะห์ด้วย HPLC..... 23
3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล..... 26
บทที่ 4
ผลการทดลอง..... 27
บทที่5
วิจารณ์ผลการทดลอง..... 31
บทที่ 6
สรุปและข้อเสนอแนะ..... 36
บรรณานุกรม..... 42
ภาคผนวก..... 48
ประวัตินักวิจัย..... 49

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 แสดงสูตรโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของอะฟลาท็อกซิน..... 5

2.2 ผลการวิเคราะห์ อะฟลาท็อกซิน ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปี 2538 และ2539..... 9

2.3 ผลการวิเคราะห์อะฟลาท็อกซิน ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปี 2539 และ 2540..... 10

2.4 ปริมาณอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์ที่จัดว่าเป็นอาหารสัตว์ที่เสื่อมคุณภาพ..... 11

2.5 ข้อกำหนดอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนม และผลิตภัณฑ์นม ของประเทศต่างๆ..... 13

3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1..... 20

3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1..... 25

4.1 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1) 28

4.2 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2) 29

4.3 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ น้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)..... 29

4.4 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ น้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)..... 30

4.5 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม..... 30

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน B_1, B_2, G_1, G_2, B_{2a} และ G_{2a}..... 3-4

2.2 โครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน M_1 และ M_2..... 4

2.3 การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาท็อกซิน B_1 ภายในร่างกายสัตว์..... 7

3.1 เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)..... 17

3.2 Standard curve ของสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1..... 21

3.3 Standard curve ของสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1..... 26

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารพิษอะฟลาท็อกซินเป็นกลุ่มสารเมทาบอไลท์ที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็ง ก่อกลายพันธุ์ และก่อลูกวิรูป สามารถทำให้เกิดอาการเป็นพิษต่อคนและสัตว์ อะฟลาท็อกซินที่ได้รับส่วนใหญ่มาจากการบริโภคอาหารที่มีราและสารพิษปนเปื้อน สำหรับการปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์ สามารถเกิดขึ้นได้ทุกขั้นตอนระหว่างกระบวนการผลิต ตั้งแต่การเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา การลำเลียง และระหว่างขั้นตอนของการผลิต ในประเทศไทยวัตถุดิบที่เป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ได้จากการผลิตภายในประเทศ และการนำเข้าจากต่างประเทศ วัตถุดิบหลักประเภทธัญพืช ได้แก่ ข้าวโพด ข้าวฟ่าง และ ปลายข้าว วัตถุดิบประเภทโปรตีนจากพืช ได้แก่ กากถั่วลิสง กากทานตะวัน และกากพืชชนิดอื่นๆ ที่นำมาทดแทนกากถั่วเหลือง และวัตถุดิบประเภทโปรตีนจากสัตว์ ได้แก่ ปลาป่น เนื้อกระดูกป่น และอื่นๆ ซึ่งวัตถุดิบต่าง ๆ ที่นำมาประกอบเป็นอาหารสัตว์อาจมีสารพิษอะฟลาท็อกซินปนเปื้อน เพราะประเทศไทยมีสภาวะอากาศร้อนชื้น เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตและการสร้างสารพิษของรา เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และคณะ (2540) รายงานว่ากากถั่วลิสงที่ผลิตในประเทศมีอะฟลาท็อกซินปนเปื้อนในระดับที่สูงมากคือ 200-1,500 ppb และเมื่อสัตว์ได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน เกิดการถ่ายทอดสู่ผลผลิต เช่น ในเนื้อสัตว์ ไข่ และน้ำนม (อนงค์ บิณฑวิหค, ดานิศ ทวีติยานนท์, ศุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล, วรา พานิชเกรียงไกร และอรวรรณ จำรัสฉาย, 2540)

ถึงแม้ว่าราที่ผลิตสารพิษอะฟลาท็อกซินอาจถูกทำลายในระหว่างขั้นตอนของกระบวนการผลิต แต่สารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์ยังสามารถคงสภาพอยู่ได้เป็นระยะเวลานาน แม่โคที่ได้รับอาหารที่มีสารพิษอะฟลาท็อกซินปนเปื้อนเป็นประจำ มีโอกาสสูงที่จะถ่ายทอดสารพิษสู่น้ำนมได้ (Marth, 1990; Van Egmond, 1989) ดังนั้น ปัญหาเกี่ยวกับการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมในประเทศไทยเป็นสิ่งที่ควรได้รับความสนใจยิ่ง เพราะสามารถส่งผลกระทบทางด้านสุขภาพของผู้บริโภค ทำให้ผลผลิตไม่ได้มาตรฐานสากลเพราะปริมาณสารพิษที่ตกค้างก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจระดับประเทศ ถ้าปริมาณอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมในประเทศสูง ย่อมเป็นช่องทางให้เกิดการนำเข้าน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมจากต่างประเทศมากขึ้น การส่งออกของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมจากประเทศไทยก็เป็นไปได้ยาก และอาจถูกส่งกลับถ้าไม่ได้มาตรฐาน ทำให้เกิดความเสียหาย ก่อให้เกิดผลกระทบ

ต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและอุตสาหกรรมด้านโคนม ดังนั้นเพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับปริมาณการตกค้างของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์และในน้ำนม และทราบอัตราส่วนของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมที่ถูกถ่ายทอดสู่น้ำนม อันมีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค และช่วยพัฒนาอุตสาหกรรมโคนมของประเทศไทยให้ได้มาตรฐานสากล โครงการวิจัยนี้จึงศึกษาเกี่ยวกับสภาวะการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราในอาหารโคนมและในผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน ตลอดจนปริมาณการถ่ายทอดของสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

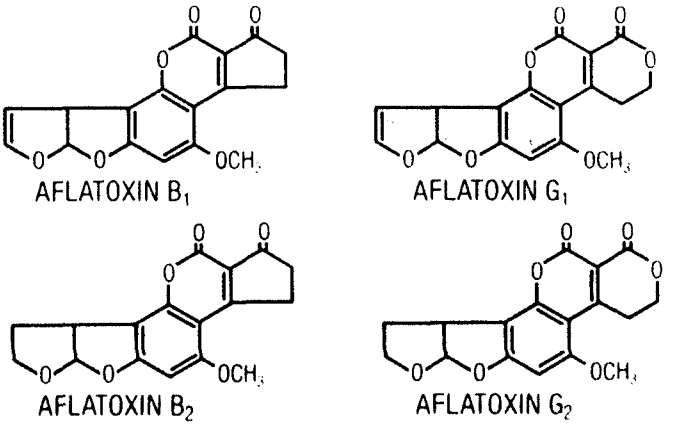
เพื่อศึกษาปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในอาหารโคนม น้ำนมดิบ และผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม และศึกษาเปอร์เซ็นต์การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินจากอาหารโคนมสู่น้ำนมพร้อมดื่มที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน

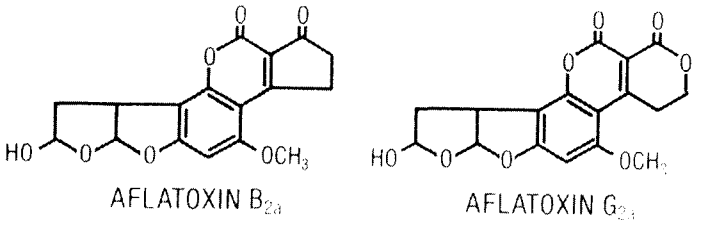
บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชนิดและโครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน

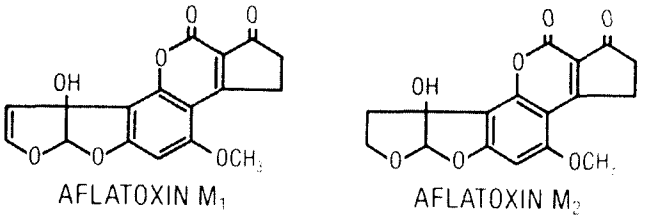
อะฟลาท็อกซินเป็นสารพิษที่สร้างจากเชื้อรา (mycotoxins) สามารถก่อให้เกิดอาการเป็นพิษต่อร่างกายของคนและสัตว์ ราที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตอะฟลาท็อกซินคือ *Aspergillus flavus, A. parasiticus* และ *A. nomius* (Kurtzman, Horn and Hesseltine, 1987; Hocking, 1997; Steyn and Stander, 1999) นอกจากนี้รา *A. ruber, A. wenti, A. oryzae, A. niger, A. ostianus, A. ochraceus, A. tamarii, Penicillium puberrulum, P. variable, P. citrinum, P. frequentanus* และ *Rhizopus* sp. สามารถผลิตอะฟลาท็อกซินได้เช่นกัน (คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์ และ อดิลักษ์ เล็บนาค, 2539; Goto, Wicklow and Ito, 1996)

สารพิษอะฟลาท็อกซินมีหลายชนิด คือ สารพิษอะฟลาท็อกซินชนิด B_1, B_2, B_{2a}, G_1, G_2, G_{2a}, M_1, M_2, P_1, Q_1 และ R_0 ชนิดที่มีความเป็นพิษร้ายแรงได้แก่ อะฟลาท็อกซิน ชนิด B_1, B_2, G_1 และ G_2 (รูปที่ 2.1) รา *A. flavus* และ *A. parasiticus* สามารถผลิตสารพิษอะฟลาท็อกซิน B_1 ในปริมาณที่สูงกว่าสารพิษชนิดอื่นๆ อะฟลาท็อกซิน B_1 มีพิษร้ายแรงมากที่สุด และเป็นสารพิษที่ทำให้เกิดมะเร็งตับของสัตว์ทดลองได้ดีที่สุด รองลงมาคือ G_1, B_2 และ G_2 (ศุภกิจ อังศุภากร, วิทยา ธรรมวิทย์ และ สมพงศ์ สหพงศ์, 2520) สำหรับอะฟลาท็อกซิน M_1 และ M_2 (รูปที่ 2.2) เป็นเมทาบอไลท์ของอะฟลาท็อกซิน B_1 และ B_2 มักพบในน้ำนมและปัสสาวะของสัตว์ที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน B_1 และ B_2 (ชาญยุทธ จรูญเกรียรติกำจร และ อุทัย คันโธ, 2538ก)





รูปที่ 2.1 โครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน B_1, B_2, G_1, G_2, B_{2a} และ G_{2a}
ที่มา: Palmgren and Hayes (1987)



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน M_1 และ M_2
ที่มา: Palmgren and Hayes (1987)

โครงสร้างของอะฟลาท็อกซินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นอนุพันธ์ของ coumarin ต่อกับ bifuran ring (รูปที่ 2.1) ในกรณีของอะฟลาท็อกซิน B_1 มี cyclopentanone ring จับกับ coumarin ทางด้านขวา ในกรณีของ อะฟลาท็อกซิน G_1 จะมี 6-member lactone ring จับกับ coumarin ทางด้านขวา เมื่อ furan ring ของ อะฟลาท็อกซิน B_1 และอะฟลาท็อกซิน G_1 เกิด saturation ด้วย ไฮโดรเจน 2 อะตอม ได้เป็น อะฟลาท็อกซิน B_2 และอะฟลาท็อกซิน G_2 ซึ่งความเป็นพิษต่ำกว่าอะฟลาท็อกซิน B_1 และ อะฟลาท็อกซิน G_1 สำหรับอะฟลาท็อกซิน M_1 และ อะฟลาท็อกซิน M_2 เกิดจากการเติมหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ เข้าที่ตำแหน่งที่ 4 ของ furan ring ใน อะฟลาท็อกซิน B_1 และอะฟลาท็อกซิน B_2 ตามลำดับ (รูปที่ 2.2) แต่ถ้าเติมหมู่ไฮดรอกซิลดังกล่าวเข้าตำแหน่งที่ 2 ของ furan ring ในอะฟลาท็อกซิน B_1 และอะฟลาท็อกซิน G_1 จะเกิดเป็นอะฟลาท็อกซิน B_{2a} และอะฟลาท็อกซิน G_{2a} (รูปที่ 2.1) ตามลำดับ (ศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช, 2540; Steyn and Stander, 1999)

2.2 คุณสมบัติของอะฟลาท็อกซิน (ไมตรี สุทธจิตต์, 2531) มีดังนี้คือ

2.2.1 สามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตที่ความยาวช่วงคลื่น 256-365 nm อะฟลาท็อกซิน B_1 และ B_2 เรืองแสงสีน้ำเงิน ส่วนอะฟลาท็อกซิน G_1 และ G_2 เรืองแสงสีเขียว

2.2.2 ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เคมีหลายชนิด เช่น เมทานอล เอทานอล อะซีโตน และคลอโรฟอร์ม แต่ไม่ละลายในอีเทอร์

2.2.3 มีอุณหภูมิหลอมเหลวสูง (ตารางที่ 2.1) ดังนั้นการใช้ความร้อนในรูปของการต้ม อบ คั่ว นึ่ง หรือการใช้ความดันไอเพื่อทำลายอะฟลาท็อกซิน มักไม่ค่อยได้ผล

2. 2.4 สามารถถูกทำลายได้โดย ไฮโปคลอไรท์ แอมโมเนีย ด่างแก่ และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และเสื่อมสลายภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แสงแดด และรังสีแกมมา

ตารางที่ 2.1 แสดงสูตรโมเลกุล น้ำหนักโมเลกุล และจุดหลอมเหลวของอะฟลาท็อกซิน

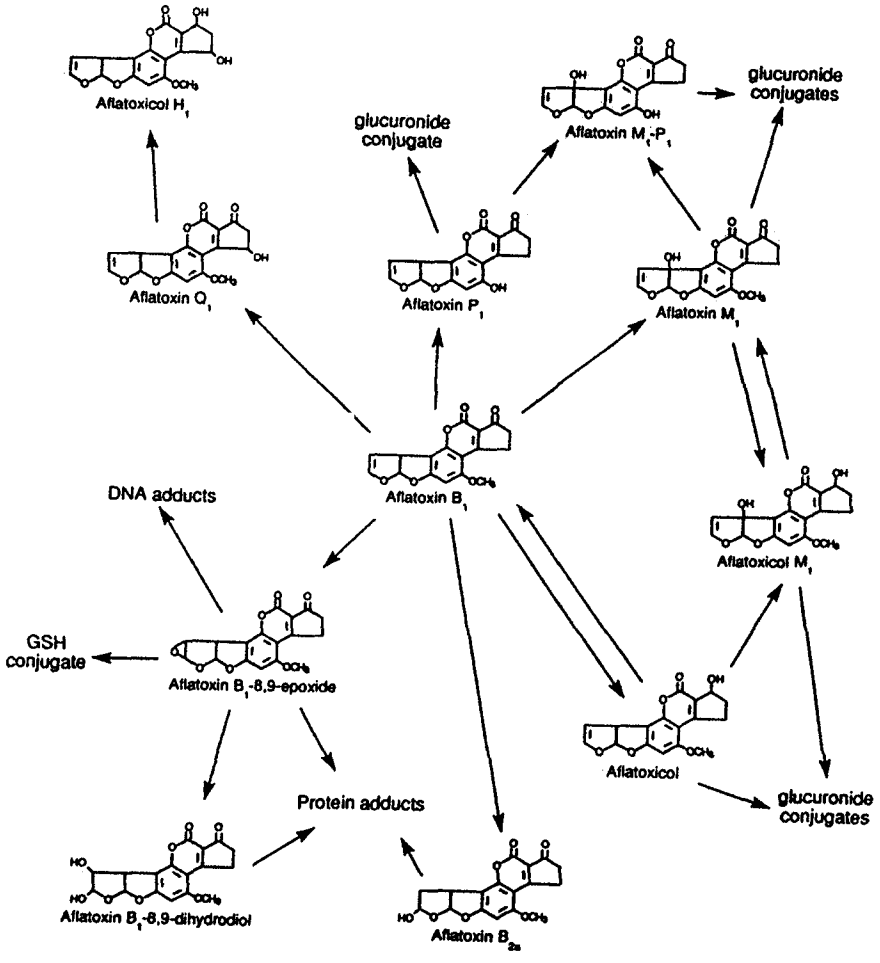
ชนิดของอะฟลาท็อกซิน	สูตรโมเลกุล	น้ำหนักโมเลกุล	จุดหลอมเหลว (°C)
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293

ที่มา: Marth (1990)

2.3 การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาท็อกซินภายในร่างกาย

อะฟลาท็อกซินเมื่อเข้าสู่ร่างกายสัตว์จะถูกดูดซึมทางลำไส้เล็กประมาณ 10-20% และถูกกำจัดออกจากร่างกายประมาณ 80-90% โดยถูกกำจัดทางมูลมากที่สุดประมาณ 50-60% และทางปัสสาวะประมาณ 20-30% การสะสมในร่างกายพบมากที่สุดในตับ และไต ส่วนในอวัยวะอื่นมีปริมาณต่ำกว่า 0.1% ดังนั้น อะฟลาท็อกซินจึงเป็นพิษต่อตับมากที่สุด เมื่อสัตว์ได้รับอะฟลาท็อกซินเข้าไปเพียงครั้งเดียว ร่างกายสามารถกำจัดได้เกือบหมดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยไม่เกิดการสะสม แต่ถ้าได้รับอะฟลาท็อกซินอย่างต่อเนื่อง อาจเกิดการสะสมภายในร่างกาย (อุรธิดา เพ็งปาน, 2543; Sawney, Vodehra and Baker, 1973; Shank and Wogan, 1965; Wogan, 1966)

ภายหลังการถูกดูดซึม อะฟลาท็อกซินสามารถรวมตัวกับอัลบูมิน (albumin) ในซีรัม (serum) สารบางส่วนถูกขับออกทางปัสสาวะ น้ำดี และอุจจาระ บางส่วนอาจถูกเก็บไว้ในเซลล์ตับ อะฟลาท็อกซิน B_1 ถูกเปลี่ยนแปลงในไซโตซอล (cytosol) เป็นอะฟลาท็อกซิคอล (aflatoxicol) ในไมโครโซม (microsome) อะฟลาท็อกซิน B_1 ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นอะฟลาท็อกซินชนิด M_1, P_1, Q_1 และอิปอกไซด์ (epoxide) (รูปที่ 2.3) อะฟลาท็อกซิน 8, 9-อีปอกไซด์ (aflatoxin 8,-9 epoxide) มีความไวสูง สามารถรวมตัวกับสารชีวโมเลกุลทีมีขนาดใหญ่ (macromolecules) ต่างๆ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีนอย่างรวดเร็ว เกิดเป็น DNA adducts และ albumin adducts โดยกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์ ดังนั้น สามารถใช้สารที่ตรวจพบ AFB_1-N7-guanine และ AFB_1-serum albumin adduct เป็น biomarker ในเนื้อเยื่อและซีรัมของกลุ่มประชากรที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน (Gaylor, Kadlubar and Beland, 1992; Groopman, Wild, Hasler, Junshi, Wogan and Kensler, 1993; Groopman, Wogan, Roebuck and Kenler, 1994; Shibamoto and Bjeldanes, 1993) เมื่อเกิดการสร้าง adducts ระหว่างอะฟลาท็อกซินกับดีเอ็นเอ หรือโปรตีน อาจทำให้การทำหน้าที่ทางชีวภาพของดีเอ็นเอหรือโปรตีนเปลี่ยนแปลง ส่งผลให้เอนไซม์นิวคลิอิกแอซิด-พอลีเมอเรส (nucleic acid polymerase)ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ การสังเคราะห์ หรือการทำหน้าที่ของโปรตีนต่างๆหยุดชะงัก (Ueno, 1983) ในสัตว์ทดลองการเกิด conjugation ระหว่างกลูตาไธโอน (glutathione) กับ 8,-9 อีปอกไซด์ของอะฟลาท็อกซินโดยเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรส (glutathione S-tranferase) เป็นกลไกสำคัญในการลดการเกิดเนื้องอก และลดความเสียหายต่อดีเอ็นเอ เนื่องจากมนุษย์มีการทำงานของเอนไซม์กลูตาไธโอนเอสทรานเฟอเรสน้อยกว่าหนู (rat) และหนูเม้าส์ (mouse) ทำให้มนุษย์มีความสามารถในการทำลายพิษของ 8,-9 อีปอกไซด์ของอะฟลาท็อกซินได้น้อย (ไมตรี สุทธจิตต์, 2543)



รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาท็อกซิน B_1 ภายในร่างกายสัตว์

ที่มา: Eaton, Ramsdell and Neal (1994)

2.4 ความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินในสัตว์ทดลองและในคน

อะฟลาท็อกซินเป็นพิษในสัตว์ทดลองทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง ค่า LD_{50} แตกต่างกันมากแล้วแต่ชนิดของสัตว์ทดลอง อะฟลาท็อกซิน B_1 จัดเป็นสารก่อมะเร็งและสารก่อกลายพันธุ์ (มาลินี ลิ้มโภคา, 2527) ความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน มีพิษรุนแรงต่อตับ ทำให้เกิดโรคตับอักเสบที่รุนแรงในสัตว์หลายชนิดรวมทั้งคน และทำให้เกิดมะเร็งที่ตับ สัตว์แต่ละชนิดอาจแสดงอาการและความไวต่ออะฟลาท็อกซินต่างกัน ขึ้นกับชนิด สายพันธุ์ อายุของสัตว์ รวมทั้งสภาวะ แวดล้อมและปริมาณของอะฟลาท็อกซินที่ได้รับพวกสัตว์ปีก เช่น เป็ด ไก่ ไก่งวง มีความไวต่ออะฟลาท็อกซินมากที่สุด รองลงมาได้แก่ สุกร สุนัข ปลาเรนโบว์เทราท์ (rainbow trout) หนู

และคน ส่วนสัตว์เคี้ยวเอื้องมีความต้านทานต่ออะฟลาท็อกซินมากกว่าสัตว์อื่น ยกเว้นในลูกสัตว์เหล่านี้มีความไวต่ออะฟลาท็อกซินมากกว่าสัตว์ที่โตเต็มวัย (เบญจมาศ มโหสถนันทน์, 2539)

ประเทศอังกฤษในปี พ.ศ. 2503 เกิดการตายของไก่งวงจำนวนมากด้วยโรค Turkey-X disease เนื่องจากกินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินปนเปื้อน (Shibamoto and Bjeldanes, 1993) สัตว์ขนาดใหญ่ เช่นหนูพุก หนูตะเภา หนูแฮมสเตอร์ หมู แกะ วัว และลิง เมื่อได้รับอะฟลาท็อกซินเกิดอาการไขมันคั่งในเซลล์ตับ เกิดอาการตับแข็งและอักเสบ ท่อน้ำดีมีขนาดใหญ่ขึ้น เลือดออกในตับ และตายในที่สุด (ไมตรี สุทธจิตต์, 2543) ไก่ที่ได้รับอะฟลาท็อกซินมีอาการบวมน้ำ มีจุดไขมันในเซลล์ตับ ตับมีขนาดใหญ่ เซลล์ตับถูกทำลาย เกิดโรคกระดูกอ่อน ผิวหนังถลอก เนื้อยุ่ย เส้นเลือดฝอยเปราะ ทำให้เลือดออกตามอวัยวะภายใน ในสุกรจะเกิดอาการแท้ง ดีซ่าน โลหิตจาง เกิดมะเร็งตับ และภูมิต้านทานลด ในโคเกิดพังผืดในตับ (fibrosis) และเส้นเลือดฝอยเปราะ (พันธิพา พงษ์เพียจันทร์, 2539; มาลินี ลิ้มโภคา, 2527; ศุภกิจ อังศุภากร, 2526; ศุภกิจ อังศุภากร และคณะ 2520; อรุณศรี วงษ์อุไร, 2540)

ในคน อะฟลาท็อกซินจัดเป็นสารก่อมะเร็งในตับ ถ้ามีการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินอย่างต่อเนื่อง สามารถก่อให้เกิดการสะสมของไขมันที่ตับ ถ้ามีปริมาณมากจะเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของตับจากสีม่วงแดงเป็นสีเหลืองแดง เกิดอาการตับอักเสบ ตับแข็ง เนื้องอกในตับ มะเร็งตับ และตายในที่สุด (อรุณศรี วงษ์อุไร, 2540; สุรีลักษณ์ รอดทอง, 2538) อะฟลาท็อกซินสามารถผ่านจากมารดาสู่ทารกในครรภ์โดยทางรกทั้งในคนและในสัตว์ และสามารถก่อให้เกิดผลเสียต่อตัวอ่อนได้ เช่น การตายในครรภ์ การเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ การเกิดทารกวิรูป และการเกิดเนื้องอกในตัวอ่อน (มุกดา ศรีสกุล, 2536)

อาการเป็นพิษเฉียบพลันเนื่องจากอะฟลาท็อกซินเกิดขึ้นเฉพาะในเด็ก ส่วนอาการพิษเรื้อรัง เช่น การเกิดไขมันมากในตับ (fatty liver) ตับอักเสบ พังผืดในตับ ตับแข็ง (cirrhosis) และมะเร็งตับ (hepatoma) พยาธิสภาพดังกล่าวจะเกิดขึ้นในผู้ใหญ่ เป็นการสะสมพิษที่ละน้อยจนเกิดพิษขึ้นมา (ไมตรี สุทธจิตต์, 2543; Sutabhaha, Suttajit and Niyomca, 1992) ในประเทศไทยมีรายงานการตายของเด็กทุกปีเนื่องจากผลของสารพิษอะฟลาท็อกซิน (Hayes, 1992) ตัวอย่างการเกิดพิษเฉียบพลันเนื่องจากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในประเทศไทยมีรายงานในจังหวัดอุดรธานี ราชบุรี และนครปฐม (ทิพยา ปาณะโตษะ, ศิริวรรณ เอี่ยมรุ่งโรจน์, วารุณี เสนสุภา และทรงพล รัตนพันธุ์, 2530; shank, Bhammarapravati, Gordon and Wogan, 1972)

2.5 วิธีการตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน

วิธีการตรวจหาปริมาณอะฟลาท็อกซินที่นิยมใช้คือวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Gas Liquid Chromatography (GLC) และ Gas Chromatography ร่วมกับ Mass Spectrometry (GC-MS) และวิธีทางด้าน radioimmunoassay (RIA) และ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (โสภณ วงศ์แก้ว และคณะ, 2542; Scott, 1990; Trucksess and Wood, 1995; Chu, 1989)

2.6 การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์

ปริมาณอะฟลาท็อกซินที่พบในวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้าจากต่างประเทศและในประเทศไทยไม่แตกต่างกันมากนัก ยกเว้นวัตถุดิบที่นำเข้าจากประเทศอินเดียที่พบอะฟลาท็อกซินในระดับค่อนข้างสูงกว่าประเทศอื่น ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ผลการวิเคราะห์อะฟลาท็อกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปี 2538 และ2539

วัตถุดิบอาหารสัตว์	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน (ppb)	
	ปี 2538	ปี 2539
ข้าวโพด	ND - <20	ND - 45
ข้าวฟ่าง	-	ND - 69
ปลายข้าว	ND - <2	<2-3
รำสด	7	2-4
รำสกัดน้ำมัน	2-13	ND - 32
กากมะพร้าว	-	8-560
รำข้าวสาลี	ND – 12	<2-10
กากฝ้าย	-	-
ถั่วนึ่ง	-	ND - 6
กากถั่วเหลืองไทย	2-39	ND - 5
กากถั่วเหลืองบราซิล	ND – 9	<2-3
กากถั่วเหลืองอินเดีย	ND - <2	ND - <2
กากถั่วเหลืองอเมริกา	<2-3	<2-6
กากถั่วลิสงอินเดีย	44-139	55-342
กากทานตะวันอาเยนตินา	2-18	<2-11
ปลาป่นเปรู	ND – 3	-

หมายเหตุ: ND = Non Detectable

ที่มา: คัดแปลงจาก ภัทนีย์ เล็กศรีสมพงษ์ (2540)

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และคณะ (2540) รายงานผลการวิเคราะห์วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มหาวิทยาลัยขอนแก่น ติดต่อกันเป็นระยะเวลา 22 ปี พบว่ากากถั่วลิสงที่ผลิตในประเทศมีปัญหาการปนเปื้อนของสารอะฟลาท็อกซินในระดับสูงคือ 200-1,500 ppb กากถั่วลิสงส่วนใหญ่มักถูกนำมาใช้เป็นอาหารโคเนื้อและโคนม จากการสุ่มเก็บตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์จากโรงงานอาหารสัตว์ ฟาร์มสุกร และไก่ไข่ ทั้งจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง มาวิเคราะห์หาอะฟลาท็อกซิน (ตารางที่ 2.3) พบว่าข้าวโพดมีอะฟลาท็อกซินสูงมากในช่วงฤดูร้อนและฤดูฝน ปลายข้าวมีระดับของอะฟลาท็อกซินในปริมาณต่ำ รำละเอียดในปี 2539 และปี 2540 มีอะฟลาท็อกซิน 68-186 ppb และ 48-210 ppb ตามลำดับ กากถั่วเหลืองที่ผลิตในประเทศและนำเข้านั้นมีอะฟลาท็อกซินในระดับใกล้เคียงกัน ปลาป่นที่ผลิตในประเทศและนำเข้าในปี 2540 มีอะฟลาท็อกซินสูง คือ 0-368 ppb และ 12-150 ppb ตามลำดับ กากถั่วลิสงในประเทศ และนำเข้าจากต่างประเทศ ในปี 2540 มีอะฟลาท็อกซิน 480-920 ppb และ 198-393 ppb ตามลำดับ ศรีสิทธิ์ การุณยะวณิช, ดวงจันทร์ สุประเสริฐ, อุมา บริบูรณ์, สุวัฒน์ โปษยะวัฒนากุล และนพาภรณ์ ปัญจะ (2538) ได้รวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์อะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ที่ใช้เป็นอาหารในประเทศไทย ตั้งแต่ปี 2525-2536 จำนวน 660 ตัวอย่าง พบว่าถั่วลิสงมีการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินอยู่ในช่วง 0.1-3,528.7 ppb

ตารางที่ 2.3 ผลการวิเคราะห์อะฟลาท็อกซิน ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในปี 2539 และ 2540

วัตถุดิบอาหารสัตว์	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน (ppb)	
	ปี 2539	ปี 2540
ข้าวโพด	48-471	30-290
ปลายข้าว	ND - 20	ND – 60
รำละเอียด	68-186	48-210
กากถั่วเหลืองในประเทศ	10-36	12-42
กากถั่วเหลืองนำเข้า	0-34	0-31
ปลาป่นในประเทศ	0-39	0-368
ปลาป่นนำเข้า	12-54	12-150
กากถั่วลิสงในประเทศ	761-890	480-920
กากถั่วลิสงนำเข้า	286-368	198-393

หมายเหตุ: ND = Non Detectable

ที่มา: คัดแปลงจาก เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และคณะ (2540)

ที่มา: ดัดแปลงจาก เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และคณะ (2540)

ทางกรมปศุสัตว์ได้กำหนดปริมาณอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์ที่จัดเป็นอาหารสัตว์ประเภทเสื่อมคุณภาพ ดังค่าที่แสดงใน ตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 ปริมาณอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์ที่จัดว่าเป็นอาหารสัตว์ที่เสื่อมคุณภาพ

วัตถุดิบและอาหารสัตว์	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน (ppb)
กากถั่วเหลือง	<50
กากถั่วลิสง	<500
ปลาป่น	<40
รำละเอียด, รำหยาบ, รำสกัดน้ำมัน	<50
ข้าวโพดเมล็ด, ข้าวโพดป่น	<100
อาหารไก่	<50
อาหารเป็ด	<40
อาหารสุกร	<50
อาหารโค-กระบือ	<100

ที่มา: ดัดแปลงจาก กรมปศุสัตว์ (2539)

2.5 การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ในน้ำนม

อาหารที่มีการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินมักจะมีอะฟลาท็อกซิน B_1 สูงกว่าอะฟลาท็อกซินชนิดอื่น สารเมทาโบไลท์ของอะฟลาท็อกซินส่วนมากที่พบในร่างกายจึงเป็นเมทาบอไลท์ที่มาจากอะฟลาท็อกซิน B_1 และสารที่มาจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในร่างกาย สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่กินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซินปนเปื้อนสามารถขับสารเมทาบอไลท์ของอะฟลาท็อกซินทางน้ำนม แม่โคที่ได้รับอาหารที่มีสารพิษจากราปนเปื้อนเป็นประจำจึงมีโอกาสสูงที่จะถ่ายทอดสารพิษสู่น้ำนม โดยอัตราการขับออกของอะฟลาท็อกซินขึ้นอยู่กับปริมาณอะฟลาท็อกซินที่ได้รับ เบญจมาศ มโหสถนันทน์ (2544) พบว่าอัตราส่วนระหว่างปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมกับปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 1:100 - 1:300 Van Egmond (1989) รายงานว่าปริมาณของอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ถูกขับออกทางน้ำนมเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารที่แม่โคกินเข้าไป Marth (1990) รายงานว่าโคที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน B_1 ปนเปื้อนในอาหารสามารถถ่ายทอดอะฟลาท็อกซิน M_1 ไปยังน้ำนมใน

อัตราส่วน 1-3% Devegowda, Raju, Afzali and Swamy (1998) รายงานว่าอัตราส่วนของปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ถูกขับออกทางน้ำนมต่อปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารที่ใช้เลี้ยงแม่โคมีค่าโดยเฉลี่ยประมาณ 1:65-100 เบญจมาศ มโหสถนันทน์ (2539) พบว่าแม่โคที่กินอาหารที่มีอะฟลาท็อกซิน B_1 ปนเปื้อนในปริมาณ 100 μg/อาหาร 1 kg ให้น้ำนมที่มีอะฟลาท็อกซิน M_1 ปนเปื้อนในปริมาณ 1 μg/liter สุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒิวงศ์ (2540) พบว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาท็อกซิน B_1 ปนเปื้อนตามธรรมชาติ มีการถ่ายทอดอะฟลาท็อกซิน M_1 ออกมากับน้ำนมซึ่งมีค่า carry-over rate เฉลี่ย 2.01% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม ระยะการให้นมของแม่โค ปริมาณการให้นมของแม่โค และสรีรวิทยาของแม่โคแต่ละตัว (เบญจมาศ มโหสถนันทน์, 2544) สุเทพ เรืองวิเศษ และเบญจมาศ มโหสถนันท์ (2539) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1ในน้ำนมดิบและอะฟลาท็อกซิน M_1 ในอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนม พบว่าความสัมพันธ์ขึ้นอยู่กับระยะการให้นมของแม่โค โดยมีอัตราส่วนเท่ากับ 0.02 ± 0.007 ในระยะแรกของการให้นม และลดลงตามลำดับถึง 0.007 ± 0.001 ในระยะหลังของการให้นม

การปนเปื้อนอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมเป็นสิ่งที่ควรให้ความสนใจและเฝ้าระวัง เพราะการศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าอะฟลาท็อกซิน M_1 มีฤทธิ์เป็นสารก่อมะเร็ง โดยความรุนแรงของการก่อมะเร็งน้อยกว่าสารตั้งต้นอะฟลาท็อกซิน B_1 ประมาณ 10 เท่า นอกจากนี้ยังพบว่าอะฟลาท็อกซิน M_1 มีพิษต่อสารพันธุกรรม และมีพิษต่อ ตับ ไต และระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ทดลองด้วย รัฐบาลของนานาประเทศได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของปัญหา จึงมีการควบคุมการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในน้ำนม ผลิตภัณฑ์นม และในวัตถุดิบที่นำมาประกอบเป็นอาหารสัตว์ รวมทั้งกำหนดระดับปนเปื้อนสูงสุดที่ยอมรับได้ (Maximum Residual Limit; MRL) ของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมขึ้น เพื่อใช้ในการเฝ้าระวังการปนเปื้อน ในต่างประเทศ เช่น องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration, US FDA) กำหนดค่า MRL ของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมไม่ให้เกิน 0.5 μg/kg (ppb) และในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ต้องมีปริมาณอะฟลาท็อกซินไม่เกิน 20 ppb (Price, Lovell and Mc Chesney, 1993) ประเทศในสหภาพยุโรป กำหนด MRL ไว้ที่ระดับต่ำมากคือ 0.01-0.05 ppb สำหรับประเทศไทย ในปัจจุบันยังไม่มีการกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม เพียงแต่ระบุในประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529 เกี่ยวกับเรื่องมาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินว่าไม่ให้เกิน 20 μg/อาหาร 1 kg สำหรับนมและผลิตภัณฑ์นมซึ่งจัดเป็นอาหารควบคุม กำหนดให้ไม่มีสารที่เป็นพิษเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่เป็นอันตราย

ต่อสุขภาพ และสำหรับอาหารโค กรมปศุสัตว์ (2539) ได้กำหนดค่ามาตรฐานของปริมาณอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนไม่ให้เกิน 100 ppb ในปัจจุบันค่า MRL ที่กำหนดโดยคณะกรรมาธิการโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Committee) ยังไม่เป็นที่ตกลงว่าจะกำหนดที่ 0.05 หรือ 0.5 ppb (เบญจมาศ มโหสถนันทน์, 2544) ตารางที่ 2.5 แสดงตัวอย่างข้อกำหนดอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนม และผลิตภัณฑ์นมของประเทศต่างๆ

ตารางที่ 2.5 ข้อกำหนดอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนม และผลิตภัณฑ์นม ของประเทศต่างๆ

ประเทศ	ชนิดของผลิตภัณฑ์	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ต้องมีค่าน้อยกว่า
สวิสเซอร์แลนด์	นมสด นมผง นมข้น ครีม	0.05
	นมสำหรับทารก	0.02
สหรัฐอเมริกา	นมสด นมพร่องมันเนย	0.5
รัสเซีย	นมสดและผลิตภัณฑ์นม	0.5
	อาหารเด็กอ่อน	0
สวีเดน	ผลิตภัณฑ์นม	0.05
เนเธอร์แลนด์	นมสด นมผง และอาหารทารก	0.05
เยอรมัน	นมสด	0.01
ฝรั่งเศส	นมสด นมผงสำหรับทารก	0.05
อาร์เจนตินา	นมสด นมผง	0.01
เบลเยี่ยม	นมสด	0.05
อียิปต์	นมสด ผลิตภัณฑ์นม	0.05
ไทย	นมสด ผลิตภัณฑ์นม	-

ที่มา: ญาณี วรรณสถิตย์, วนิดา ขาวเธียร, มยุรี เนาวรัตโนภาส และตรีรัตน์ รุ่งโรจน์ชัยพร (2534) และ Boutrif and Canet (1998)

2.6 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ตรวจพบในประเทศไทย

ในระหว่างปี พ.ศ. 2532-2534 สำนักคณะกรรมการอาหารและยา ได้นำตัวอย่างน้ำนมดิบจากเกษตรกร และตัวอย่างน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์ที่จำหน่ายตามท้องตลาด มาวิเคราะห์หาปริมาณ

บทที่ 3
วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การเก็บตัวอย่าง

3.1.1 การสุ่มตัวอย่างอาหารโคนมสำเร็จรูป* จำนวน 2 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่าง โดยออกเก็บตัวอย่างครั้งแรกในเดือนพฤษภาคม และครั้งที่ 2 ในเดือนกันยายน

1) จากฟาร์มโคนมขององค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (อสค.)

2) จากฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3) จากฟาร์มโคนมของเกษตรกรรายย่อย เขตอำเภอขามทะเลสอ จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 4 ฟาร์ม

3.1.2 การสุ่มตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนการแปรรูปด้วยความร้อน** จำนวน 1 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่าง

1) จากฟาร์มโคนมของ อสค.

2) จากฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3) จากฟาร์มโคนมของเกษตรกรรายย่อย เขตอำเภอขามทะเลสอ จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 4 ฟาร์ม

3.1.3 การสุ่มตัวอย่างน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน** จำนวน 1 ครั้ง ครั้งละ 1 ตัวอย่างจากฟาร์มโคนมของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

3.1.4 การสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์น้ำนมพร้อมดื่มที่วางขายตามท้องตลาด สุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 10 ยี่ห้อ จากบริษัทที่แตกต่างกัน ยี่ห้อละ 1 ตัวอย่าง

---

*การสุ่มตัวอย่างอาหารโคนม สุ่มจากหลายกระสอบที่ใช้ในการเลี้ยงโคนมจากชุดการผลิตเดียวกัน นำมาผสมรวมกัน (pooled sample) แล้วทำการสุ่มอีกครั้ง (sub-sampling) ให้เป็น 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมด (representative sample) ในชุดการผลิตเดียวกัน (Suksombat, 1993)

** การสุ่มตัวอย่างน้ำนม สุ่มจากหลายถังจากชุดการผลิตเดียวกัน นำมาผสมรวมกัน (pooled sample) แล้วทำการสุ่มอีกครั้ง (sub-sampling) ให้เป็น 1 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมด (representative sample) ในชุดการผลิตเดียวกัน (Suksombat, 1993)

ในการสุ่มตัวอย่างจะเลือกสุ่มอาหารโคนม น้ำนมดิบก่อนการแปรรูปและน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อนจากชุดที่มีขั้นตอนการผลิตเดียวกัน สำหรับผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มที่วางขายตามท้องตลาด สุ่มจากชุดการผลิตเดียวกัน จำนวน 2 กล่อง กล่องละ 2 ซ้ำ

นำตัวอย่างอาหารโคนมมาสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ด้วยวิธี high performance liquid chromatography (HPLC) ตามวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC (Scott, 1990) และตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนการแปรรูป หลังการแปรรูปด้วยความร้อน และผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มมาสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีการวิเคราะห์ของกองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (อุษา บริบูรณ์ และดวงจันทร์ สุประเสริฐ, 2537)

3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC (Scott, 1990) โดยทำการสกัดและวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างเป็นจำนวน 3 ซ้ำ

3.2.1 เครื่องมือ

1) เครื่อง HPLC ของบริษัท Thermo Separation Products (TSP) ซึ่งประกอบไปด้วย pump รุ่น P4000, เครื่องฉีดอัตโนมัติ (auto-injection) รุ่น AS3000 และ fluorescence detector รุ่น FL3000 (รูปที่3.1)

2) Liquid chromatography column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 mm x ความยาว 25 cm ของบริษัท Waters Spherisorb

3) Chromatography column

4) เครื่องเขย่า (shaker)

3.2.2 สารเคมี

1) สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 (Sigma)

2) Chloroform

3) Anhydrous sodium sulphate

4) Silica gel 60 ขนาด 0.063-0.2 mm

5) Hexane

6) Diethyl ether

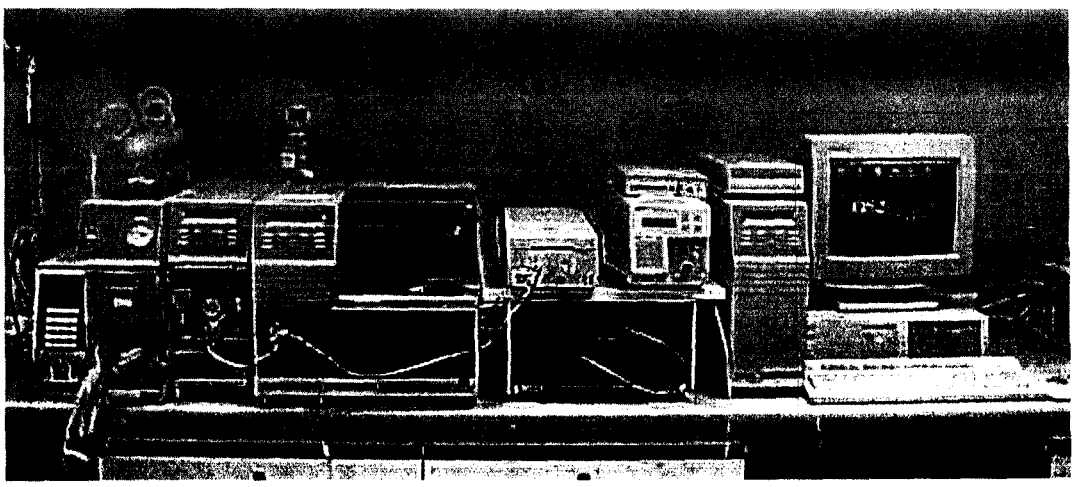
7) Methanol

8) Benzene

9) Acetonitrile

10) Trifluoroacetic acid (TFA) ความเข้มข้น 98%

11) Diatomaceous earth



รูปที่ 3.1 เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

3.2.3 การสกัดอะฟลาท็อกซิน B_1

1) บดตัวอย่างอาหารโคนมให้ละเอียด

2) ชั่งอาหารโคนม 50 กรัม (gram, g) ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml

3) เติมน้ำ 25 ml ใส่ diatomaceous earth 25 g

4) เติม chloroform 250 ml

5) ปิดขวดให้สนิทนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 30 นาที

6) กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บสารที่สกัดได้ 50 ml นำไปผ่าน chromatography column เพื่อชะล้างสารที่สกัดได้ให้สะอาด

3.2.4 การชะล้างสารสกัดด้วย chromatography column

การเตรียม column

1) ใช้ chromatography column ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 22 mm ความยาว 300 mm ที่มี stopcock บุปลายล่างของ column ด้วยสำลี

2) เติม chloroform ประมาณครึ่ง column

3) ใส่ anhydrous sodium sulphate 5 g เพื่อรองรับ silica gel

4) ใส่ silica gel 10 g กวนให้เข้ากันกับ chloroform

5) ชะล้าง silica gel ที่ติดอยู่ข้าง column ด้วย chloroform ปล่อยให้ silica gel ตกลงสู่ก้นของ column เมื่ออัตราเร็วของการตกตะกอนของ silica gel ลดลง ปล่อย chloroform ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของชั้น silica gel ประมาณ 5-7 cm

6) ใส่ anhydrous sodium sulphate 15 g

7) ปล่อยให้ chloroform ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของ anhydrous sodium sulphate ประมาณ 1 cm

การชะล้าง column

1) นำตัวอย่างสารที่สกัดได้ 50 ml ผ่าน column

2) ล้าง column ด้วย hexane 150 ml ปล่อยให้สารชะล้างออกจนหมด

3) เติม diethyl ether 150 ml ปล่อยให้สารชะล้างออกจนหมด

4) ชะล้างอะฟลาท็อกซิน B_1 ออกจาก column โดยใช้สารผสมระหว่าง chloroform: methanol (97:3 v/v) 150 ml เก็บสารที่ถูกชะออกจาก column จนหมด

5) นำไประเหยบนอ่างน้ำเดือด ลดปริมาตรจนเกือบแห้ง

6) ล้างด้วย chloroform ถ่ายลงสู่หลอดแก้วขนาดเล็ก แล้วระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

7) เติม 98% TFA 50 ไมโครลิตร (microliter, μl) ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

8) เติม methanol 1 ml ถ่ายลงสู่หลอดแก้วขนาดเล็กเพื่อเตรียมวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1

3.2.5 การวิเคราะห์ด้วย HPLC

การเตรียม mobile phase

1) เตรียม 0.05% TFA: acetonitrile: methanol (65:20:15 v/v/v) โดยใช้ปริมาณสารดังนี้ ปิเปต 98% TFA 0.5 ml ใส่ในน้ำกลั่น 1,000 ml ได้ 0.05% TFA ใช้ปริมาตรของ 0.05% TFA 650 ml: acetonitrile 200 ml: methanol 150 ml

2) นำ mobile phase กรองผ่านชุดกรองสารละลายขนาดอนุภาค 0.45 μm

การปรับตั้งค่าของเครื่อง HPLC

1) เตรียม column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 mm x ความยาว 25 cm ต่อเข้ากับเครื่อง HPLC

2) ตั้งค่า flow rate ของ mobile phase 1 ml/min

3) ล้าง column ด้วย mobile phase ประมาณ 5 ชั่วโมง

4) ตั้งค่า fluorescence detector ตรวจวัดที่ excitation wavelength 364 nm และ emission wavelength 424 nm

5) ระยะเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1

1) ละลายสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 1 mg ใน benzene: acetonitrile (98:2 v/v) ปริมาตร 100 ml ทำให้สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 มีความเข้มข้น 10 μg/ml

2) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน 20 μl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

3) เติม 98% TFA 50 μl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

4) ละลายสารละลายมาตรฐานด้วย methanol 2 ml ได้สารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น 100 ppb

5) เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ10 ppb ในตัวทำละลาย methanol ความเข้มข้นละ 1 ml โดยวิธีการเจือจางจากสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 ตั้งต้นที่มีความเข้มข้น 100 ppb ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 ตั้งต้น 100 ppb (µl)	ปริมาตร methanol (µl)
2	20	980
4	40	960
6	60	940
8	80	920
10	100	900

การหาปริมาณอะฟลาท็อกซินในตัวอย่าง

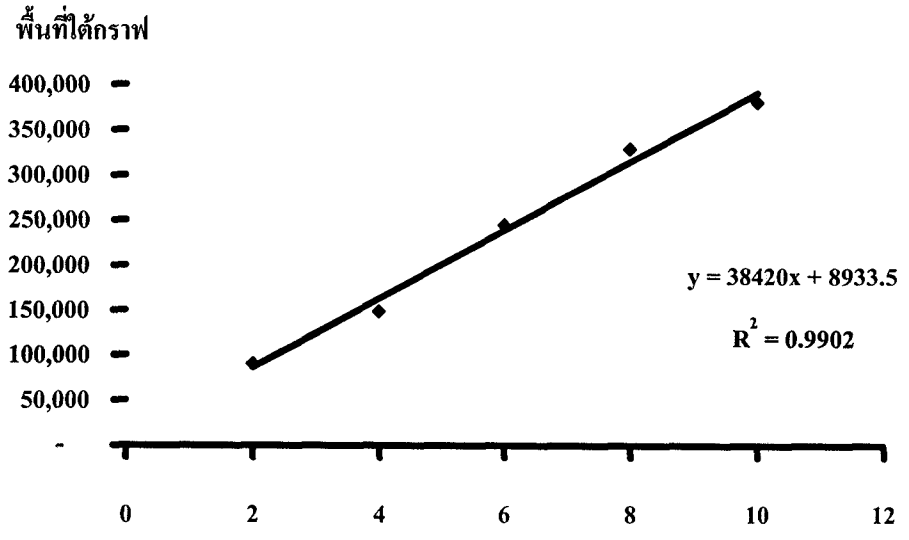
1) ฉีดสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 ความเข้มข้นละ 40 µl สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1 ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 9 นาที

2) Plot standard curve ระหว่างค่าความเข้มข้นอะฟลาท็อกซิน B_1ของสารละลายมาตรฐาน และค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน

3) ฉีดสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ตัวอย่างละ 40 µl

4) นำค่าพื้นที่ใต้กราฟสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ในแต่ละตัวอย่างมาหาความเข้มข้นอะฟลาท็อกซิน B_1 ในตัวอย่างจาก standard curve ที่ได้ (รูปที่ 3.2)

5) วิธีการสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 มีค่า % recovery มีค่าเท่ากับ 76%



รูปที่ 3.2 Standard curve ของสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน B_1

3.3 การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีการวิเคราะ กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (อุษา บริบูรณ์ และดวงจันทร์ สุประเสริฐ, การสกัดและวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างกระทำเป็นจำนวน 3 ซ้ำ

3.3.1 เครื่องมือ

1) เครื่อง HPLC ของบริษัท Thermo Separation Products (TSP) ซึ่งประกอบด้วย pump รุ่น P4000, เครื่องฉีดอัตโนมัติ (auto-injection) รุ่น AS3000 และ fluorescence detector รุ่น FL3000

2) Liquid chromatography column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 mm x ความยาว 25 cm ของบริษัท Waters Spherisorb

3) Chromatography column

4) เครื่องเขย่า (shaker)

3.3.2 สารเคมี

1) สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 (บริษัท Sigma)

2) Chloroform

3) Anhydrous sodium sulphate

4) Silica gel 60 ขนาด 0.063-0.2 mm

5) Hexane

6) Diethyl ether

7) Methanol

8) Benzene

9) Acetonitrile

10) Sodium chloride

11) Acetic acid

12) Toluene

3.3.3 การสกัดอะฟลาท็อกซิน M_1 นำตัวอย่างน้ำนมดิบก่อนการแปรรูปด้วยความร้อน น้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน และผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม สกัดอะฟลาท็อกซิน M_1 ดังนี้

1) นำตัวอย่างน้ำนม 50 ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml

2) เติม sodium chloride 1 g และ chloroform 120 ml

3) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1 นาที ทิ้งให้แยกชั้น (ถ้าเกิด emulsion นำไป centrifuge ที่ 3,500 rpm เป็นเวลา 15 นาที)

4) ปิเปตส่วนใสที่อยู่ชั้นล่าง ซึ่งเป็นชั้นของ อะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ถูกสกัดโดย chloroform นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง

5) ปิเปตสารที่กรองได้ 10 ml นำไปผ่าน chromatography column เพื่อชะล้างสารที่สกัดได้ให้สะอาด

3.3.4 การชะล้างสารที่สกัดให้สะอาดด้วย chromatography column

การเตรียม column

1) ใช้ chromatography column ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 22 mm x ความยาว 300 mm ที่มี stopcock บุปลายล่างของ column ด้วยสำลี

2) เติม chloroform: hexane (1: 1 v/v) ประมาณครึ่ง column

3) ใส่ anhydrous sodium sulphate 2 g เพื่อรองรับ silica gel

4) ใส่ silica gel 10 g กวนให้เข้ากันกับ chloroform: hexane ที่อยู่ภายใน column

5) ชะล้าง silica gel ที่ติดอยู่ข้าง column ด้วย chloroform: hexane (1: 1 v/v) ปล่อยให้ silica gel ตกลงสู่ก้นของ column เมื่ออัตราเร็วของการตกตะกอนของ silica gel ลดลง ปล่อย chloroform ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของชั้น silica gel ประมาณ 5-7 cm

6) ใส่ anhydrous sodium sulphate 3 g

7) ปล่อย chloroform: hexane ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของ anhydrous sodium sulphate ประมาณ 1 cm

การชะล้าง column

1) นำตัวอย่างสารที่สกัดได้ 10 ml ผ่าน column

2) เติม toluene: acetic acid (9: 1 v/v) 30 ml ปล่อยให้ชะล้างออกจนหมด

3) เติม hexane 30 ml ปล่อยให้ชะล้างออกจนหมด

4) เติม hexane: diethylether: acetone (5: 4: 1 v/v/v) 30 ml ปล่อยให้ชะล้างออกจนหมด

5) ชะล้างด้วย chloroform: acetone (4: 1 v/v) 60 ml เก็บสารที่ถูกชะออกจาก column จนหมด

6) นำไประเหยบนอ่างน้ำเดือด ลดปริมาตรจนเกือบแห้ง

7) ชะล้างด้วย methanol 1 ml ถ่ายลงสู่หลอดแก้วขนาดเล็กเพื่อเตรียมวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1

3.3.5 การวิเคราะห์ด้วย HPLC

การเตรียม mobile phase

1) เตรียม mobile phase อัตราส่วน น้ำกลั่น: acetonitrile: methanol (68: 24: 8 v/v/v) ดังนี้ น้ำกลั่น 680 ml acetonitrile 240 ml และ methanol 80 ml

2) นำ mobile phase ไปกรองผ่านชุดกรองสารละลายขนาดอนุภาค 0.45 μm

การปรับตั้งค่าของเครื่อง HPLC

1) เตรียม column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 mm x ความยาว 25 cm ต่อเข้ากับเครื่อง HPLC

2) ตั้งค่า flow rate ของ mobile phase 1 ml/min

3) ล้าง column ด้วย mobile phase ประมาณ 5 ชั่วโมง

4) ตั้งค่า fluorescence detector ตรวจวัดที่ excitation wavelength 360 นาโนเมตร (nanometer, nm) และ emission wavelength 440 nm

5) ระยะเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1

1) ละลายสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 1 mg ใน benzene: acetonitrile (9: 1 v/v) ปริมาตร 100 ml ได้สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่มีความเข้มข้น 10 μg/ml

2) ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 20 μl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

3) เติม 98% TFA 50 μl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

4) ละลายสารละลายมาตรฐานด้วย methanol 2 ml ได้สารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น 100 ppb

5) เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ10 ppb ในตัวทำละลาย methanol ความเข้มข้นละ 1 ml โดยวิธีการเจือจางจากสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 ตั้งต้น ที่มีความเข้มข้น 100 ppb ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 ตั้งต้น 100 ppb (μl)	ปริมาตร methanol (μl)
2	20	980
4	40	960
6	60	940
8	80	920
10	100	900

การหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในตัวอย่าง

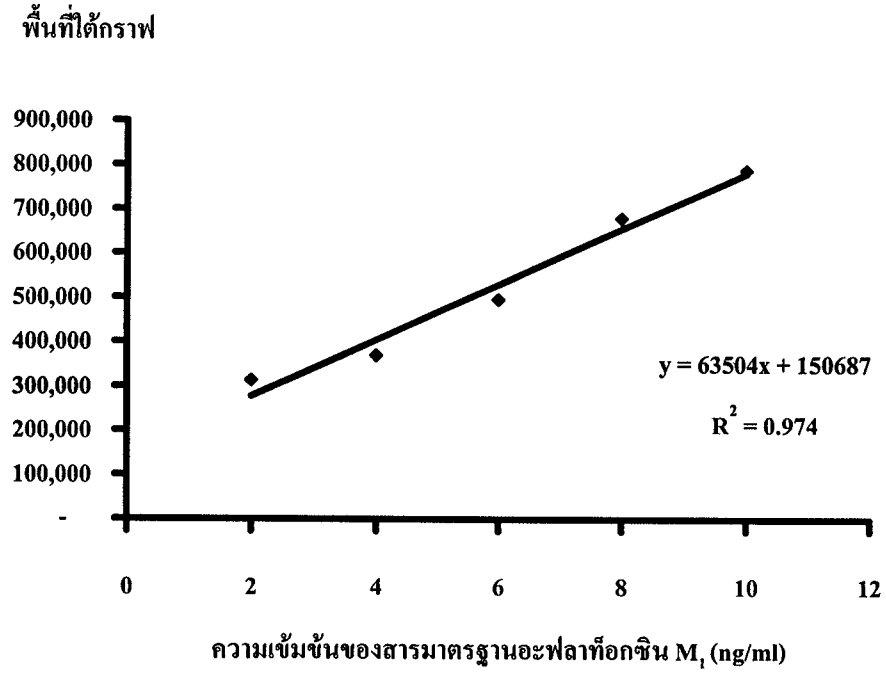
1) ฉีดสารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 ความเข้มข้นละ 40 μl สารละลายมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1 ถูกชะล้างออกมาที่เวลา 7 นาที

2) Plot standard curve ระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานของอะฟลาท็อกซิน M_1 และค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน

3) ฉีดสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ตัวอย่างละ 40 μl

4) นำค่าพื้นที่ใต้กราฟสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ในแต่ละตัวอย่างมาหาค่าความเข้มข้นของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในสารตัวอย่างจาก standard curve ที่ได้ (รูปที่ 3.3)

5) วิธีการสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 มีค่า % recovery เท่ากับ 74%



รูปที่ 3.3 Standard curve ของสารมาตรฐานอะฟลาท็อกซิน M_1

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม และปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมก่อนการแปรรูปด้วยความร้อน นำมาคำนวณหา % การถ่ายทอด (% carry over) ของอะฟลาท็อกซินจากอาหารสู่น้ำนม ดังนี้

$$\% \text{ carry over} = \frac{\text{ปริมาณอะฟลาท็อกซิน } M1}{\text{ปริมาณอะฟลาท็อกซิน } B1} x100$$

ข้อมูลปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมก่อนการแปรรูปและปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน นำมาคำนวณหา % carry over ของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมก่อนการแปรรูปสู่น้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน ดังนี้

$$\% \text{ carry over} = \frac{\text{ปริมาณอะฟลาท็อกซิน } M1 \text{ ในน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อน}}{\text{ปริมาณอะฟลาท็อกซิน } M1 \text{ ในน้ำนมก่อนการแปรรูปด้วยความร้อน}} x100$$

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณอะฟลาท็อกซิน ที่ปนเปื้อนในอาหารโคนม และการถ่ายทอดสู่น้ำนมดิบ

การออกเก็บตัวอย่างอาหารโคนม และน้ำนมดิบเพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมและอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ กระทำในฟาร์มโคนม จำนวน 6 ฟาร์ม และออกเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง ในเดือนพฤษภาคม และเดือนกันยายน ผลการวิเคราะห์จากการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 1 แสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าฟาร์มที่ 1 มีการปนเปื้อนของ อะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 45.36 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.16 ppb ซึ่งมี % การถ่ายทอด (% carry over) จากอาหารโคนมไปยังน้ำนมดิบ 0.35% ฟาร์มที่ 2 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 37.47 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.38 ppb และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 1.02% ฟาร์มที่ 3 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 44.37 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.32 ppb และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.72% ฟาร์มที่ 4 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 131.31 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.50 ppb และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.38% ฟาร์มที่ 5 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 138.19 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.62 ppb และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.45% ฟาร์มที่ 6 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 201.38 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.75 ppb และการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.37% ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่าในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมของทั้ง 6 ฟาร์ม ซึ่งอยู่ในช่วง 37.47-201.38 ppb ในส่วนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบของทั้ง 6 ฟาร์ม อยู่ในช่วง 0.16-0.75 ppb เมื่อนำมาคำนวณ % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมไปยังน้ำนมดิบ พบว่าอยู่ในช่วง 0.35-1.02%

ตารางที่ 4.1 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบและ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)

ฟาร์ม	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม[1]	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ[1]	% carry over
ฟาร์มที่1	45.36 ± 2.51	0.16 ± 0.05	0.35
ฟาร์มที่2	37.47 ± 1.62	0.38 ± 0.01	1.02
ฟาร์มที่3	44.37 ± 3.49	0.32 ± 0.06	0.72
ฟาร์มที่4	131.31 ± 13.36	0.50 ± 0.03	0.38
ฟาร์มที่5	138.19 ± 9.50	0.62 ± 0.07	0.45
ฟาร์มที่6	201.38 ± 2.34	0.75 ± 0.03	0.37

หมายเหตุ: [1]Mean ± SD ของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

ผลวิเคราะห์ของปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม และปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบจากการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มโคนมเดิม จำนวน 6 ฟาร์ม ในครั้งที่ 2 แสดงในตารางที่ 4.2 พบว่า ฟาร์มที่ 1 มีการปนเปื้อนของ อะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 46.99 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.29 ppb ซึ่งมี % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินจากอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบ 0.55% ฟาร์มที่ 2 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 44.05 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.16 ppb และมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.37% ฟาร์มที่ 3 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 50.51 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.18 ppb และมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.36% ฟาร์มที่ 4 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 82.28 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.19 ppb และมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.23% ฟาร์มที่ 5 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 163.65 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.33 ppb และมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.20% ฟาร์มที่ 6 มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนม 91.11 ppb ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.34 ppb และมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน 0.38%

จะเห็นได้ว่ามีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมของทั้ง 6 ฟาร์ม ซึ่งอยู่ในช่วง 44.05-163.65 ppb ในส่วนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบของทั้ง 6 ฟาร์มอยู่ในช่วง 0.16-0.34 ppb เมื่อนำมาคำนวณ % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมไปยังน้ำนมดิบพบว่าอยู่ในช่วง 0.20-0.55%

ตารางที่ 4.2 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ และ %carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)

ฟาร์ม	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 (ppb) ในอาหารโคนม	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ	% carry over
ฟาร์มที่ 1	46.99 ± 3.93	0.26 ± 0.01	0.55
ฟาร์มที่ 2	44.05 ± 5.65	0.16 ± 0.00	0.37
ฟาร์มที่ 3	50.51 ± 3.56	0.18 ± 0.01	0.36
ฟาร์มที่ 4	82.28 ± 0.77	0.19 ± 0.01	0.23
ฟาร์มที่ 5	163.65 ± 10.60	0.33 ± 0.01	0.20
ฟาร์มที่ 6	91.11± 12.47	0.34 ± 0.01	0.38

หมายเหตุ: [1]Mean ± SD ของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

การทดลองที่ 4.2 การศึกษาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M1 ในน้ำนมดิบก่อนการแปรรูป น้ำนมดิบหลังการแปรรูป และผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม

การศึกษาการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบสู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งมีกระบวนการผลิตจากชุดการผลิตเดียวกัน กระทำโดยการเก็บตัวอย่างจากฟาร์มที่ 1 เป็นจำนวน 2 ครั้ง ในเดือนพฤษภาคม และเดือนกันยายน ผลการวิเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 พบว่าน้ำนมดิบมีอะฟลาท็อกซิน M_1 ปนเปื้อนในปริมาณ 0.16 ppb และน้ำนมหลังการแปรรูปด้วยความร้อนปนเปื้อนในปริมาณ 0.10 ppb เมื่อคำนวณเป็น % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบสู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ มีค่าเท่ากับ 62.5% ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 1)

ฟาร์ม	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ[1]	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ [1]	% Carry over
ฟาร์มที่1	0.16 ± 0.05	0.1 ± 0.01	62.5

หมายเหตุ: [1]Mean ± SD ของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

ผลการวิเคราะห์การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบจากฟาร์มที่ 1 สู่น้ำนมดิบหลังการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งกระทำในครั้งที่ 2 พบว่าน้ำนมดิบมีอะฟลาท็อกซิน M_1 ปนเปื้อน 0.26 ppb และน้ำนมหลังการพาสเจอรไรซ์ปนเปื้อนในปริมาณ 0.18 ppb เมื่อคำนวณ % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบไปยังน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าเท่ากับ 68.58% ดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไซ์ และ % carry over (เก็บตัวอย่างครั้งที่ 2)

ฟาร์ม	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมดิบ	ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 (ppb) ในน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไซ์	%Carry over
ฟาร์มที่ 1	0.26 ± 0.01	0.18 ± 0.01	68.58

หมายเหตุ: [1]Mean $\pm$ SD ของตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์จำนวน 3 ซ้ำ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มตามท้องตลาดจำนวน 10 ตัวอย่าง พบอะฟลาท็อกซิน M_1 จำนวน 2 ตัวอย่าง ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ระหว่าง 0.03-0.135 ppb ดังตารางที่ 4.5 เมื่อจำแนกตามผลิตภัณฑ์ ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1 ในนมพาสเจอร์ไรซ์รสจืด 1 ตัวอย่าง จากจำนวน 5 ตัวอย่าง ในปริมาณ 0.135 ppb และนมพาสเจอร์ไรซ์ รสหวาน ตรวจพบ 1 ตัวอย่าง จากจำนวน 2 ตัวอย่าง ในปริมาณ 0.03 ppb สำหรับนม UHT ทั้ง 3 ตัวอย่าง ไม่พบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1

ตารางที่ 4.5 ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม

ชนิดของผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1	ปริมาณที่ตรวจพบ (ppb)
นมพาสเจอร์ไรซ์ รสจืด	5	1	0.135
นมพาสเจอร์ไรซ์ รสหวาน	2	1	0.030
นม UHT รสจืด	3	-	-

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาปริมาณอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในอาหารโคนม และการถ่ายทอดสู่น้ำนมดิบ

จากการทดลองเก็บตัวอย่างเป็นจำนวน 2 ครั้ง ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมในตัวอย่างทั้งหมดที่เก็บจากทั้ง 6 ฟาร์ม ซึ่งมีค่าปนเปื้อนแตกต่างกัน อยู่ในช่วง 37.47-201.38 ppb ในการสุ่มตัวอย่างครั้งที่ 1 และมีค่าระหว่าง 44.05-163.65 ppb ในการสุ่มตัวอย่างครั้งที่ 2 (ตารางที่ 4.1 และ 4.2) ผลที่ได้จากการเก็บตัวอย่างทั้ง 2 ครั้ง ให้ผลที่สอดคล้องกัน โดยค่าปริมาณอะฟลาท็อกซินในฟาร์มที่ 4, 5 และ 6 ยังคงมีค่าสูงกว่าฟาร์มที่ 1, 2 และ 3 ทั้ง 2 ครั้ง และค่าปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ไม่ค่อยมีความแตกต่างกันมากนัก ยกเว้นบางฟาร์ม (4 และ 6) ที่มีค่าปริมาณอะฟลาท็อกซิน B1 น้อยกว่าเดิมในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 ซึ่งอาจเป็นผลจากอากาศที่เย็นและแห้งขึ้นในเดือนกันยายน ทำให้การเจริญและการสร้างสารพิษจากราลดลง ปริมาณอะฟลาท็อกซินที่แตกต่างกันของทั้ง 6 ฟาร์มน่าจะสืบเนื่องมาจากเป็นอาหารโคนมที่แตกต่างกัน ผลิตจากวัตถุดิบที่ใช้ในการประกอบเป็นอาหารโคนมซึ่งแตกต่างกัน และแต่ละฟาร์มมีวิธีการเก็บรักษาวัตถุดิบที่แตกต่างกัน อาหารโคนมในฟาร์มที่ 1 ใช้อาหารสำเร็จรูปที่ผลิตโดยบริษัทในประเทศ ฟาร์มที่ 2 ใช้อาหารสำเร็จรูปร่วมกับอาหารที่ผสมเองบางส่วน ส่วนในฟาร์มที่เหลือส่วนใหญ่ใช้อาหารที่ผสมเองทั้งหมด หรือใช้หัวอาหารผสมกับอาหารที่ผสมเองจากวัตถุดิบประเภทต่าง ๆ เป็นหลัก วัตถุดิบที่ใช้ผสมเป็นอาหารที่ใช้เลี้ยงโคส่วนใหญ่ ได้แก่ หญ้าและวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น กากมันสัมปะหลัง กากถั่วลิสง กากถั่วเหลือง และข้าวโพด เป็นต้น ถ้าวัตถุดิบมีคุณภาพต่ำโดยมีราปนเปื้อน สามารถก่อให้เกิดการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมในปริมาณที่สูง ราสามารถสร้างสารพิษขึ้นมาในช่วงอุณหภูมิ 12-40 ^{0}C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80-85% ความชื้น 17% และอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 24-35 ^{0}C (เบญจมาศ มโหสถนันท์, 2539; Ayerst, 1969) ประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนชื้นจึงเกิดปัญหาการปนเปื้อนของราและอะฟลาท็อกซินได้ง่าย นอกจากนั้นอะฟลาท็อกซิน B_1 มีจุดหลอมเหลวสูงถึง 268-269 ^{0}C (Marth, 1990) การใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ จึงไม่สามารถทำลายอะฟลาท็อกซิน B_1 ถึงแม้ว่าราที่ผลิตอะฟลาท็อกซินอาจถูกทำลายด้วยขั้นตอนต่างๆ ระหว่างกระบวนการผลิตอาหารสัตว์ แต่สารพิษอะฟลาท็อกซินยังคงสภาพอยู่ได้นาน และปนเปื้อนอยู่ในอาหารโคนม ซึ่งช่วยอธิบายการตรวจพบอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมของฟาร์มทั้ง 6 ที่สุ่มเก็บตัวอย่าง และพบเป็นปริมาณสูงขึ้นในฟาร์มที่ใช้วัตถุดิบผสมอาหารโคนมเอง ถ้าขาดการบริหารและการจัดการอย่างเหมาะสม

ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ที่ตรวจพบสอดคล้องกับรายงานของ เยาวมาลย์ ค้าเจริญ และคณะ (2540) ซึ่งพบว่ากากถั่วลิสงที่ผลิตในประเทศมีอะฟลาท็อกซินปนเปื้อนในระดับสูงมาก คือ 200-1,500 ppb ศรีสิทธิ์ การุณยะวณิช และคณะ (2538) ตรวจวิเคราะห์อะฟลาท็อกซินในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ที่ใช้เป็นอาหารในประเทศไทย จำนวน 660 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในช่วง 0.1-3,528 ppb ภัทนีย์ เล็กศรีสมพงษ์ (2540) รายงานว่าวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ และวัตถุดิบภายในประเทศ พบอะฟลาท็อกซินในระดับที่ไม่แตกต่างกันมากนัก วัตถุดิบที่ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน เช่น กากมะพร้าวมีปริมาณอะฟลาท็อกซิน 8-560 ppb กากถั่วลิสงอินเดียมีปริมาณอะฟลาท็อกซิน 55-342 ppb ซึ่งสูงเมื่อเทียบกับประเทศอื่น (ตารางที่ 2.3)

อาหารโคที่จัดว่าเป็นอาหารเสื่อมคุณภาพ มีปริมาณอะฟลาท็อกซินมากกว่า 100 ppb (กรมปศุสัตว์, 2539) จากการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารโคนมในครั้งที่ 1 มาวิเคราะห์พบเพียง 3 ตัวอย่างที่เกินกว่ามาตรฐานที่กำหนด คือ 131.31, 138.19 และ 201.38 ppb ในฟาร์มที่ 4, 5 และ 6 ตามลำดับ ส่วนการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 พบเพียงตัวอย่างในฟาร์มที่ 5 ที่มีค่าสูงกว่ามาตรฐานที่กำหนดคือ 163.65 ppb ซึ่งอาจจะเป็นเพราะว่าการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 2 อยู่ในช่วงต้นหนาว

สำหรับอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบของทั้ง 6 ฟาร์ม ในการเก็บตัวอย่างครั้งที่ 1 พบการปนเปื้อนปริมาณค่อนข้างสูง คือมีปริมาณอยู่ในช่วง 0.16-0.75 ppb และครั้งที่ 2 อยู่ในช่วง 0.16-0.34 ppb สาเหตุที่ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบอาจมาจากแม่โคได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน โดยเฉพาะอะฟลาท็อกซิน B_1 เป็นระยะเวลานาน เกิดการสะสมที่ตับ และเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของอะฟลาท็อกซิน B_1 เป็นอะฟลาท็อกซิน M_1 ก่อนถูกขับออกมาทางน้ำนม (เบญจมาศ มโหสถนันทน์, 2539; อนงค์ บิณฑวิหค และคณะ, 2534; Van Egmond, 1989)

จากการศึกษาปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมสู่น้ำนมมีค่า carry over อยู่ในช่วง 0.35-1.02% ในครั้งที่ 1 และมีค่าลดลงเป็น 0.20-0.55 ในครั้งที่ 2 ซึ่งค่าที่ได้ต่ำกว่าค่าที่เคยมีการรายงานเล็กน้อย สุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒิวงศ์ (2540) ระบุว่าค่า carry over เท่ากับ 2.01% Devegowda *et al* (1998) รายงานว่าอัตราส่วนของปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ถูกขับออกทางน้ำนมต่อปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมที่โคได้รับมีค่าเฉลี่ย 1:65-100 และมีค่า carry over เท่ากับ 1-1.54% รายงานของ เบญจมาศ มโหสถนันท์ (2539) รายงานว่าโคที่ได้รับอาหารที่มีอะฟลาท็อกซิน B_1 ปนเปื้อนในปริมาณ 100 ppb จะให้น้ำนมที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในปริมาณ 1 ppb ซึ่งมีค่า carry over เท่ากับ 1% และ Marth (1990) รายงานว่าโคที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน B_1 ปนเปื้อนในอาหารจะสามารถถ่ายทอดอะฟลาท็อกซิน M_1 ไปยังน้ำนมในอัตรส่วน

1-3% เนื่องจากค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1ในน้ำนมดิบและอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนมขึ้นอยู่กับระยะการให้นมของแม่โค โดยมีอัตราส่วนเท่ากับ 0.02 หรือ 2 % ในระยะแรกของการให้นม และลดลงตามลำดับจนถึง 0.007 หรือ 0.7% ในระยะหลังของการให้นม (สุเทพ เรืองวิเศษ และเบญจมาศ มโหสถนันท์, 2539) ดังนั้น ค่า % carry over ของอะฟลาท็อกซินจากอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบที่ได้จากโครงการวิจัยนี้จึงจัดว่าไม่ต่างอย่างมีนัยสำคัญจากค่าที่รายงานโดยนักวิจัยอื่น

ในโครงการวิจัยนี้ การศึกษาการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบสู่นมพาส-เจอร์ไรซ์กระทำในฟาร์มที่ 1 เท่านั้น เพราะเฉพาะฟาร์มที่ 1 ที่คณะวิจัยสามารถเก็บตัวอย่างนมในชุดการผลิตเดียวกันได้ ซึ่งหมายถึงตัวอย่างของนมพาสเจอร์ไรซ์ได้มาจากน้ำนมดิบชุดเดียวกันกับที่นำมาวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ผลการวิจัยพบว่าน้ำนมดิบมีอะฟลาท็อกซิน M_1 ปนเปื้อนในปริมาณ 0.16 ppb และน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ พบในปริมาณ 0.10 ppb ดังนั้น การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบไปยังน้ำนมหลังการแปรรูปโดยความร้อนด้วยวิธี pasteurization (72°C, 16 วินาที) มีค่า 62.5% ในการสุ่มตัวอย่างครั้งที่ 1 และมีค่า 68.58% ในการสุ่มตัวอย่างครั้งที่ 2 แสดงว่าเมื่อเกิดการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1ในน้ำนมดิบ ถึงแม้จะผ่านกระบวนการ pasteurization ก็ยังคงมีปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ในผลิตภัณฑ์พร้อมดื่มในระดับสูง โดยมี % carry over สูงถึง 62.5 หรือ 68.58%

จากการสืบค้นข้อมูล พบว่าประเทศไทยในปัจจุบันยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 จากน้ำนมดิบสู่ผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มในชุดเดียวกัน มีเพียงการศึกษาปริมาณการถ่ายทอดของ อะฟลาท็อกซิน B_1 จากอาหารโคนมสู่น้ำนม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาครั้งแรกในประเทศไทยที่รายงานเกี่ยวกับปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินจากอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม ที่วางแผนการทดลองในการเก็บตัวอย่างจากชุดการผลิตเดียวกัน ตั้งแต่การหาปริมาณอะฟลาท็อกซิน B1 ในอาหารโคนม อะฟลาท็อกซิน M1 ในน้ำนมดิบจากโคที่กินอาหารชุดเดียวกับที่สุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ และหาอะฟลาท็อกซิน M1 ในน้ำนมที่ผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์น้ำนมดิบของชุดการผลิตเดียวกัน ทำให้การหาค่าปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน หรือ % carry over มีความหมายและถูกต้องยิ่งขึ้น ซึ่งต่างจากโครงการวิจัยอื่นที่สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มและอาหารโคนมอย่างอิสระ ไม่มีความสัมพันธ์กันโดยตรงและไม่ต่อเนื่องกันในการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในตัวอย่างนมพาสเจอร์ไรซ์ รสจืด และรสหวาน พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 0.03-0.135 ppb ส่วนนม UHT ไม่พบการปนเปื้อน ระดับการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มมีค่าต่ำกว่าค่ามาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งกำหนดไว้ที่ 20 ppb และต่ำกว่าค่ามาตรฐานของ US FDA ที่กำหนดไว้ที่ 0.5 ppb (Price *et al.*, 1993) สำหรับค่าที่เป็นมาตรฐานสากล ซึ่งกำหนดโดยคณะกรรมาธิการโคเด็กซ์ (Codex Alimentarius Committee) นั้นในปัจจุบันยังไม่ได้กำหนดแน่นอนว่าจะเป็น 0.05 หรือ 0.5 ppb (เบญจมาศ มโหสถนันทน์, 2544)

ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M1 ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มในโครงการวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมของสำนักคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งพบอะฟลาท็อกซิน M_1 ในนมพาสเจอร์ไรซ์ 9 ตัวอย่าง จาก 15 ตัวอย่าง ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง 0.22-6.56 ppb (ญาณี วรรณสถิตย์ และคณะ, 2534) กฤษณ์ ถิรพันธุ์เมธี และวัชราภรณ์ เจนสุริยะกุล (2539) ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมพาสเจอร์ไรซ์และ UHT จำนวน 6 บริษัท บริษัทละ 3 รุ่นการผลิต และการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 0.01-0.14 ppb อุษา บริบูรณ์ และดวงจันทร์ สุประเสริฐ (2537) วิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 และ M_2 ในน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์นมต่างๆ ที่จำหน่ายในท้องตลาด พบว่าน้ำนมดิบที่เก็บจากฟาร์มทั้งหมด 45 ตัวอย่าง มี 12 ตัวอย่างที่ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1ในระดับ 0.15-0.8 ppb นมพาสเจอร์ไรซ์ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง มี 9 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M_1ในระดับ 0.22-6.56 ppb และนมผงธรรมดาทั้งหมด 11 ตัวอย่าง มีเพียง 1 ตัวอย่างที่พบอะฟลาท็อกซิน M_1ในระดับ 1.42 ppb สุเทพ เรืองวิเศษ (2541) ตรวจวิเคราะห์นมพาสเจอร์ไรซ์รสช็อคโกแลต 8 บริษัท บริษัทละ 5 รุ่นการผลิตและนม UHT 5 บริษัท บริษัทละ 5 รุ่นการผลิต พบอะฟลาท็อกซิน M_1 ปนเปื้อนในปริมาณน้อยกว่า 0.01–0.243 ppb สำหรับนมพาสเจอร์ไรซ์ และน้อยกว่า 0.01-0.141 ppb สำหรับนม UHT และไม่พบอะฟลาท็อกซิน B_1 ในน้ำนมทุกตัวอย่าง

ผลจากการวิจัยในโครงการนี้พบปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 จากน้ำนมดิบสู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ มีค่าสูงถึง 62.5 และ 68.58% ในการสุ่มตัวอย่างเดือนพฤษภาคมและกันยายนตามลำดับ การตรวจพบอะฟลาท็อกซิน M1 ใน20% ของผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนไม่เหนือความคาดหมาย เพราะอะฟลาท็อกซิน M_1 มีจุดหลอมเหลวสูงถึง 299 ^{0}C (Marth, 1990) การใช้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์เซชันและ UHT สามารถทำลายอะฟลาท็อกซิน M_1 ได้เพียงบางส่วน Purchase และ Steyn (1972) พบว่าวิธีพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 ^{0}C นาน 30 นาที สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมได้ 30% และที่อุณหภูมิ 72 ^{0}C นาน 45 วินาที สามารถลดปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ได้ 45% ดังนั้นปริมาณการปนเปื้อนของ

อะฟลาท็อกซิน M_1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มจึงขึ้นกับกระบวนการที่ใช้ในการแปรรูปด้วยความร้อน เนื่องจากจำนวนตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มที่ศึกษาในงานวิจัยครั้งนี้มีค่าน้อย จึงไม่อาจสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยวิธี UHT ไม่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 เมื่อเทียบกับนมพาสเจอร์ไรซ์ แต่คณะผู้วิจัยได้ตั้งข้อสังเกตว่าการที่ไม่พบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ในนม UHT ในการวิจัยครั้งนี้ หรือระดับการปนเปื้อนของนม UHT น้อยกว่านมพาสเจอร์ไรซ์ในรายงานวิจัยอื่น (สุเทพ เรืองวิเศษ 2541) อาจไม่ได้ขึ้นกับวิธีการในกระบวนการของการแปรรูปด้วยความร้อนเพียงอย่างเดียว แต่อาจเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นม UHT ใช้นมผงที่นำเข้าจากต่างประเทศซึ่งมีปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินต่ำกว่าน้ำนมดิบภายในประเทศที่ใช้ผลิตนมพาสเจอร์ไรซ์ อย่างไรก็ดี ข้อสังเกตดังกล่าวควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต เพื่อเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ระหว่างผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มที่ผ่านกระบวนการแปรรูปที่แตกต่างกัน การแก้ไขปัญหาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่ม ควรเริ่มต้นจากการป้องกันการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมตั้งแต่เริ่มแรก เพื่อให้ได้น้ำนมดิบที่มีคุณภาพ เพราะกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนสามารถลดระดับการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M1 ในผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มได้เพียงบางส่วน และปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M1 จากน้ำนมดิบสู่ผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนมีค่าสูงถึง 62.5 และ 68.58%

บทที่ 6
สรุปและข้อเสนอแนะ

6.1 ข้อสรุป

การสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารโคนม และน้ำนมดิบ จำนวน 6 ฟาร์มในครั้งที่ 1 พบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมของทั้ง 6 ฟาร์ม อยู่ในช่วง 37.47-201.38 ppb อะฟลาท็อกซิน M_1 ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบทั้ง 6 ฟาร์ม อยู่ในช่วง 0.16-0.75 ppb ค่า % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบ อยู่ในช่วง 0.35-1.02% และตรวจพบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.16 ppb และน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ 0.10 ppb จากฟาร์มที่ 1 ซึ่งมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบไปสู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ 62.5% สำหรับการเก็บตัวอย่างในครั้งที่ 2 ในสถานที่เดียวกับการเก็บตัวอย่างครั้งแรก พบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมของทั้ง 6 ฟาร์ม อยู่ในช่วง 44.05-163.65 ppb การปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน ในน้ำนมดิบของทั้ง 6 ฟาร์ม อยู่ในช่วง 0.16-0.34 ppb และ % การถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมสู่น้ำนมดิบ อยู่ในช่วง 0.20-0.55% และตรวจพบการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบ 0.26 ppb และน้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์ 0.18 ppb จากฟาร์มที่ 1 ซึ่งมีการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมดิบไปสู่น้ำนมหลังการพาสเจอร์ไรซ์สูงถึง 68.58%

ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในตัวอย่างนมพาสเจอร์ไรซ์ รสจืด และรสหวาน พบการปนเปื้อนอยู่ในช่วง 0.03-0.135 ppb ส่วนนม UHT ไม่พบการปนเปื้อน

6.2 ข้อเสนอแนะทั่วไป

1. คณะผู้วิจัยขอเสนอว่านอกจากการหาปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนมเพียงอย่างเดียว น่าจะเพิ่มการวิเคราะห์อะฟลาท็อกซิน B_1 ในน้ำนมด้วย เนื่องจากอาจจะมีอะฟลาท็อกซิน B_1 ที่ยังไม่ถูกเมทาบอไลท์ ซึ่งถูกถ่ายทอดสู่น้ำนมได้ นอกจากนั้นน่าจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเปรียบเทียบปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินระหว่างผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนในวิธีต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ใช้ประโยชน์ในการป้องกันอันตรายจากการบริโภคนมในระยะยาว โดยเฉพาะในกลุ่มเด็กที่มีการบริโภคนมในปริมาณสูงอย่างต่อเนื่อง
2. เนื่องจากผลการวิจัยชี้ชัดว่าปริมาณการถ่ายทอดของอะฟลาท็อกซิน M1 จากน้ำนมดิบสู่นมพาสเจอร์ไรซ์มีค่าสูงกว่า 60% ดังนั้นการลดการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินควร

เริ่มจากอาหารโคนมที่ไม่มีการปนเปื้อน หรือมีการปนเปื้อนน้อยที่สุด เพื่อให้ได้น้ำนมดิบที่มีคุณภาพ ซึ่งหมายถึงการควบคุมและการป้องกันการปนเปื้อนของราในวัตถุดิบอาหารสัตว์ในทุกขั้นตอน เริ่มจากขั้นตอนการคัดเลือกพันธุ์พืช การเพาะปลูกพืช การเก็บเกี่ยว การขนย้าย และการเก็บรักษาวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารโค ขั้นตอนต่างๆ ในกระบวนการผลิตอาหารโค การเลี้ยงโคนม และการควบคุมการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในน้ำนมดิบก่อนการแปรรูป การควบคุมขั้นตอนเหล่านี้จำเป็นต้องอาศัยความร่วมมือและความรับผิดชอบจากกลุ่มบุคลากรที่เกี่ยวข้องทั้งในภาครัฐและเอกชน

3. เนื่องจากสภาพแวดล้อมในประเทศไทยเอื้ออำนวยต่อการเจริญของราที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารพิษจากราชนิดต่าง ๆ ปัญหาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในวัตถุดิบที่เป็นอาหารโคจึงยากที่จะหลีกเลี่ยง ดังนั้นจึงควรส่งเสริมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการแปรรูปนมดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มด้วยวิธีต่าง ๆ ที่ช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในผลิตภัณฑ์ และควรส่งเสริมงานวิจัยที่ใช้เทคนิคต่าง ๆ ด้านเคมี กายภาพ หรือชีวภาพในการลดการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์ โดยเฉพาะด้านผลิตภัณฑ์ดูดซับสารพิษจากรา
4. ถึงแม้ปริมาณอะฟลาท็อกซิน B1 ที่ตรวจพบในอาหารโคนมในฟาร์มส่วนใหญ่มีค่าไม่เกินค่าที่กรมปศุสัตว์จัดว่าเป็นอาหารสัตว์ที่เสื่อมคุณภาพ (100 ppb) แต่อาหารที่ใช้เลี้ยงโคนมอาจมีสารพิษจากราชนิดอื่นปนเปื้อนด้วย เช่น fumonisin, zearalenone, vomitoxin และ ochratoxin เป็นต้น ดังนั้นควรมีการวิเคราะห์หาปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษเหล่านี้ ที่อาจตกค้างในอาหารโคนมร่วมด้วยในอนาคต รวมทั้งศึกษาปริมาณการถ่ายทอดสู่น้ำนม เพื่อเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการป้องกันและแก้ไขการปนเปื้อนสารพิษจากราในอาหารโคนม และน้ำนม ทั้งนี้เพราะถึงแม้ระดับการปนเปื้อนของสารพิษจากราเพียงชนิดเดียว อาจจะไม่เกินค่ากำหนดมาตรฐานความปลอดภัย แต่ถ้ามีการปนเปื้อนของสารพิษจากรามากกว่า 1 ชนิด อาจจะสามารถเสริมฤทธิ์เพิ่มความรุนแรงของสารพิษจากราชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดพิษรุนแรงต่อสุขภาพได้หลายเท่าตัวโดยเฉพาะพิษที่เกิดในระยะยาว หรือพิษเรื้อรัง (chronic toxicity) ดังนั้นการหาปริมาณสารพิษจากราหลายชนิดที่อาจเกิดการปนเปื้อนพร้อมกันในอาหารโคนมและน้ำนมน่าจะมีประโยชน์มากกว่าการวิเคราะห์หาสารพิษจากราเพียงชนิดเดียว

5. หน่วยงานรัฐบาลควรมีการเก็บตัวอย่างอาหารโคนม และน้ำนมดิบ และผลิตภัณฑ์นมจากแหล่งผลิตและแหล่งจำหน่ายทั่วประเทศไทย เพื่อครอบคลุมขอบเขตของปัญหา และเพื่อคุ้มครองผู้บริโภคให้มีความปลอดภัยจากการบริโภคนม และมีการกำหนดระดับของอะฟลาท็อกซินในผลิตภัณฑ์นมที่มีระดับความปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยอิงกับมาตรฐานสากล เพราะว่าในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีการกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนม และผลิตภัณฑ์นม มีเพียงการกำหนดค่าการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารของคนว่าไม่ควรเกิน 20 ppb ไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 พ.ศ. 2529

6.3 ข้อเสนอแนะด้านการป้องกันและควบคุมการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมแก่ผู้ที่เกี่ยวข้อง

6.3.1 ผู้เพาะปลูก โรงงานผลิตอาหารสัตว์ ฟาร์มโคนม และในเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมรายย่อย

เนื่องจากการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมและการถ่ายทอดสู่ผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนมีสาเหตุหลักจากการใช้วัตถุดิบที่ปนเปื้อน แนวทางการป้องกันและการควบคุมการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมจึงควรเริ่มที่คุณภาพของวัตถุดิบ การควบคุม และการเก็บรักษาวัตถุดิบที่ใช้ ข้อแนะนำสำหรับการลดโอกาสการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในวัตถุดิบที่ใช้เตรียมอาหารโคนมต้องดำเนินการแบบครบวงจร นับตั้งแต่ผู้เพาะปลูกธัญพืช โรงงานผู้ผลิตอาหารโคนม ผู้เลี้ยงโคนมในฟาร์มและในเกษตรกรรายย่อย ดังมีรายละเอียดดังนี้คือ

1. คัดเลือกสายพันธุ์ของพืชไร่ที่ใช้ปลูกเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารโคนม โดยเลือกสายพันธุ์ที่ดี มีความต้านทานต่อราและแมลงสูง
2. ป้องกันและกำจัดแมลงที่เป็นศัตรูพืช เพราะแมลงที่เจาะทำลายเมล็ดธัญพืช อาจเป็นตัวนำสปอร์ของราให้แพร่กระจายในพืชได้อย่างรวดเร็ว
3. การเก็บเกี่ยวต้องระมัดระวังการแตกหักของเมล็ดธัญพืช หลีกเลี่ยงการทำให้ฝักหรือเมล็ดถูกทำลายในระหว่างขั้นตอนการเก็บเกี่ยว เมล็ดและฝักที่สมบูรณ์ช่วยลดโอกาสที่ราจะเจริญและแทรกตัวในเนื้อเยื่อพืช
4. คัดเลือกเมล็ดพันธุ์พืชที่ปราศจากราเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารโคนม โดยคัดเมล็ดที่มีรา หรือมีลักษณะลีบเล็ก น้ำหนักเบา หรือเปลี่ยนสีจากเดิมออกจากกอง เพราะเมล็ดที่มี

ลักษณะดังกล่าวมักมีอะฟลาท็อกซินปนเปื้อน

5. ขั้นตอนการขนย้ายวัตถุดิบต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตอาหารโคนม ต้องหลีกเลี่ยงไม่ให้วัตุดิบเปียกชื้น เพื่อป้องกันโอกาสการเติบโตของราและปัญหาการสร้างสารพิษจากราที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการขนย้าย
6. เก็บวัตถุดิบอาหารสัตว์ในที่ร่มและแห้ง โดยทั่วไปถ้าเป็นวัตถุดิบจำพวกเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่างหรือถ้าเป็นพืช เช่น มันสำปะหลัง ที่นิยมใช้ในอาหารโคนม ต้องป้องกันการปนเปื้อนตั้งแต่หลังการเก็บเกี่ยว (post harvest) โดยทำการตาก (sun dried) หรืออบ (hot air) ให้แห้ง จนวัตถุดิบมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 13 หลังจากนั้นจึงเก็บรักษาไว้ในไซโลหรือบรรจุกระสอบ ควรลอกหรือเคาะเอากากที่ติดกับผนังหรือก้นของไซโลออกให้หมดก่อนเติมวัตถุดิบใหม่ลงไป สำหรับวัตถุดิบที่บรรจุในกระสอบควรเก็บในโรงเก็บที่มีการระบายอากาศได้ดี ไม่ชื้นแฉะ ไม่ควรวางกระสอบบรรจุวัตถุดิบกับพื้นคอนกรีตโดยตรง ควรมีแผงไม้หรือวัสดุอย่างอื่น (pallet) รองก่อนวางกระสอบ ส่วนวัตถุดิบชนิดอื่น อาทิ กากเมล็ดพืชน้ำมันที่ได้จากโรงงานอุตสาหกรรมสกัดน้ำมันนั้น ทางโรงงานจะลดความชื้นในวัตถุดิบจนมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 13 ก่อนวางจำหน่าย และส่วนใหญ่มักบรรจุในกระสอบเรียบร้อยแล้ว ควรเก็บรักษาไว้เช่นเดียวกับกรณีของข้าวโพดหรือมันสำปะหลังตากแห้ง
7. การควบคุมการปนเปื้อน ต้องคอยป้องกันวัตถุดิบไม่ให้มีความชื้นสูงกว่าร้อยละ 13 โดยการเก็บรักษาดังกล่าวข้างต้น ในกรณีเกิดเหตุสุดวิสัย เช่น ฝนตก หลังคารั่ว และวัตถุดิบเปียกฝน ทำให้มีความชื้นสูง ต้องรีบนำออกผึ่งแดดทันที ถ้าในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง เกิดราขึ้น ไม่ควรนำวัตถุดิบนั้นมาใช้ เพราะการเกิดราทำให้มีโอกาสเกิดการสร้างสารพิษสูง
8. ในกรณีวัตถุดิบที่ซื้อมามีสารพิษปนเปื้อนอยู่แล้ว ซึ่งมักเกิดขึ้นบ่อย เพราะวัตถุดิบที่ปราศจากการปนเปื้อนของสารพิษมักจะถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารไก่และอาหารสุกร ส่วนวัตถุที่คุณภาพไม่ดี อาจมีสารพิษปนเปื้อน มักถูกพ่อค้านำมาจำหน่ายให้เป็นวัตถุดิบอาหารโค ผู้ใช้อาจแก้ปัญหาโดยการใช้สารดูดซับสารพิษซึ่งมีจำหน่ายอยู่หลายชนิด ได้แก่ aluminosilicate, mono-oligosaccharides และ yeast culture (live yeast) เป็นต้น โดยการผสมสารดูดซับลงไปในวัตถุดิบ หรือผสมในระหว่างกระบวนการ

ผลิตอาหารโคนม สารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการดูดซับสารพิษโดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์ที่บริโภค ถ้าใช้ในปริมาณที่ถูกต้อง

9. ในโรงงานที่ผลิตอาหารสัตว์ ควรมีวิธีตรวจการปนเปื้อนของสารพิษจากราในวัตถุดิบและคัดส่วนที่ปนเปื้อนออกทิ้งก่อนเข้าสู่กระบวนการผลิต และมีการสุ่มตรวจอีกครั้งในผลิตภัณฑ์สำเร็จก่อนออกวางจำหน่าย ซึ่งหากพบการปนเปื้อน ควรคัดออกเช่นกัน ดังตัวอย่างในโรงงานบางแห่งใช้การฉายแสงอัลตราไวโอเลตบนเมล็ดเพื่อตรวจหาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน และคัดเลือกเมล็ดที่เรืองแสงสีเขียวหรือสีฟ้าออก อย่างไรก็ดี วิธีนี้ใช้ได้เฉพาะเมล็ดที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในปริมาณสูง และอยู่ที่ผิวของเมล็ดเท่านั้น
10. ในการซื้อวัตถุดิบเพื่อเตรียมอาหารโคนมหรือผลิตภัณฑ์สำเร็จจากโรงงานผลิต หรือจากแหล่งผลิตอื่นของเกษตรกรรายย่อย ควรสอบถามทางผู้ขายเกี่ยวกับที่มาของวัตถุดิบ ระยะเวลาที่เก็บก่อนออกจำหน่าย รวมถึงข้อมูลเกี่ยวกับปริมาณการปนเปื้อนของราหรือสารพิษ

6.3.2 หน่วยงานรัฐบาลที่ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์

ข้อแนะนำสำหรับกรมปศุสัตว์ซึ่งเป็นหน่วยงานรัฐบาลที่รับผิดชอบโดยตรงเกี่ยวกับคุณภาพอาหารสัตว์ และหน่วยงานอื่นของรัฐบาลที่อาจเกี่ยวข้องโดยทางอ้อมมีดังนี้คือ

1. ใช้มาตรการที่เข้มงวดและจริงจังในมาตรฐานของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นำเข้าจากต่างประเทศและวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่เพาะปลูกและเก็บเกี่ยวในประเทศไทย ให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้หรือใกล้เคียงกับมาตรฐานสากลให้มากที่สุดที่พึงกระทำได้
2. ในปัจจุบัน กรมปศุสัตว์มีการสุ่มตรวจการปนเปื้อนของสารพิษจากราในวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์เฉพาะกลุ่มโรงงานผู้ผลิต แต่ไม่ได้สุ่มตรวจในฟาร์มโคนมหรือในกลุ่มเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมรายย่อย ซึ่งปัญหาการปนเปื้อนในอาหารสัตว์อาจเกิดขึ้นระหว่างการขนส่ง หรือการเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้องหลังจากซื้อจากโรงงานผู้ผลิต ทางรัฐบาลจึงควรมีมาตรการบางอย่างหรือมีแผนรองรับเพื่อป้องกันหรือลดโอกาสการปนเปื้อนของราและสารพิษจากราในกลุ่มผู้ใช้ด้วย
3. เนื่องจากการควบคุมการปนเปื้อนของสารพิษจากราในฟาร์มโคนมขึ้นอยู่กับเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมเป็นหลัก รัฐบาลจึงควรฝึกอบรมเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมให้มีพื้นฐานความรู้

และความเข้าใจที่ถูกต้องเกี่ยวกับการปนเปื้อนของสารพิษจากรา การคัดเลือกซื้ออาหารสัตว์หรือวัตถุดิบที่นำมาผสมเป็นอาหาร การเก็บรักษาอาหารสัตว์ด้วยวิธีที่ถูกต้อง คณะผู้วิจัยตระหนักดีว่าในปัจจุบันมีหน่วยงานรัฐบาลที่สนับสนุนการเลี้ยงโคนมและได้มีการจัดฝึกการอบรมให้เกษตรกรผู้เลี้ยงอยู่บ้าง แต่การฝึกอบรมยังไม่เพียงพอ ควรขยายให้กระจายอย่างทั่วถึงทั้งประเทศ โดยหน่วยงานของรัฐอาจทำงานร่วมกับสถาบันการศึกษาของท้องถิ่นเพื่อช่วยงานด้านการฝึกอบรม

4. รัฐบาลควรส่งเสริมงานวิจัยด้านวิธีการลดการปนเปื้อนสารพิษจากรา เช่นการพัฒนาผลิตภัณฑ์สารดูดซับต่าง ๆ เพื่อกำจัดสารพิษจากราที่ปนเปื้อนในอาหารหรือในวัตถุดิบ โดยเฉพาะการใช้ผลิตภัณฑ์ดูดซับที่เป็นวัสดุพื้นบ้าน หรือกากของเสียต่าง ๆที่ต้องการกำจัด ทั้งนี้เพื่อหลีกเลี่ยงการสั่งซื้อผลิตภัณฑ์ดูดซับจากต่างประเทศที่มีราคาแพง และเป็นการแก้ไขปัญหามลภาวะจากกากของเสียภายในท้องถิ่น นอกจากนั้นควรส่งเสริมงานวิจัยที่ศึกษาปัจจัยทางสภาวะแวดล้อมที่ช่วยลดการสร้างสารพิษของรา รวมทั้งวิธีการตรวจหาสารพิษจากราในวัตถุดิบ หรือผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์ที่โรงงานขนาดเล็กหรือเกษตรกรรายย่อยสามารถปฏิบัติได้ โดยใช้เทคนิคที่ไม่ยุ่งยากและราคาไม่แพง เป็นต้น

คณะผู้วิจัยเชื่อมั่นว่าหากผู้ที่เกี่ยวข้องปฏิบัติตามข้อเสนอแนะข้างต้น น่าจะสามารถป้องกัน ควบคุม และลดปัญหาการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารโคนมและการถ่ายทอดสู่น้ำนมดิบ และผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อนต่าง ๆ ได้ ผู้บริโภคก็จะปลอดภัย

บรรณานุกรม

กรมปศุสัตว์. (2539). ไร้สารพิษอะฟลาท็อกซิน ไร้โรคภัย ประชาชนสุขใจ. **สัตว์เศรษฐกิจ.** 13(298): 76-78.

กฤษณ์ ถิรพันธุ์เมธี และวัชราภรณ์ เจนสุริยะกุล. (2539). **การปนเปื้อนอะฟลาท็อกซิน M_1 และ B_1 ในนมพาสเจอร์ไรซ์และยูเอชที รสจืดและรสช็อคโกแลต.** โครงการพิเศษปีการศึกษา 2539. ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

คนึงนิจ ก่อธรรมฤทธิ์ และ อดิลักษ์ เล็บนาค. (2539). ผลการตรวจสารพิษอะฟลาท็อกซินในอาหารสัตว์. **สาส์นไก่.** 43(10): 47-62.

ชาญยุทธ จรูญเกียรติกำจร และ อุทัย คันโธ. (2538ก). ผลของอะฟลาท็อกซินต่อสัตว์เลี้ยง. **สัตว์เศรษฐกิจ.** 12(268): 73-76.

ญาณี วรรณสถิตย์, วนิดา ขาวเธียร, มยุรี เนาวรัตโนภาส และตรีรัตน์ รุ่งโรจน์ชัยพร. (2534). **โครงการศึกษาวิจัยปริมาณอะฟลาท็อกซินในนม.** สำนักคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข.

ทิพยา ปาณะโตษะ, ศิริวรรณ เอี่ยมรุ่งโรจน์, วารุณี เสนสุภา และทรงพล รัตนพันธุ์. (2530). **รายงานการศึกษาวิจัย การปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินในอาหารสำเร็จรูปที่ทำจากถั่ว.** ฝ่ายค้นคว้าและวิจัยทางวิชาการ. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.

เบญจมาศ มโหสถนันทน์. (2539). สารพิษเชื้อราในอาหารโคนม. ใน พีระศักดิ์ จันทร์ประทีป (บรรณาธิการ). **ประมวลความรู้เกี่ยวกับโคนม** (หน้า 117-123). กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เบญจมาศ มโหสถนันทน์. (2544). เล่าสู่กันฟัง "อะฟลาท็อกซิน M_1" ในน้ำนม. **จดหมายข่าวโคนม.** 5(5): 4-6.

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. (2539). **หลักการอาหารสัตว์.** กรุงเทพฯ: โอเอสพริ้นติ้งเฮ้าส์.

ภัทนีย์ เล็กศรีสมพงษ์. (2540). สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารสัตว์. ใน เปล่งศรี อิงคนินันท์ (บรรณาธิการ). **การประชุมทางวิชาการในวาระ 80 ปีแห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เรื่อง สารพิษจากเชื้อรา: ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ ระหว่าง วันที่ 13-14 มีนาคม 2540** (หน้า 83-89). กรุงเทพฯ: คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาลินี ลิ้มโภคา. (2527). **พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์.** (พิมพ์ครั้งที่2). ภาควิชาเภสัชวิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มุกดา ศรีสกุล. (2536). **การติดตามการได้รับอะฟลาท็อกซินระหว่างอยู่ในครรภ์ของเด็กแรกเกิด.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ไมตรี สุทธจิตต์. (2531). **สารพิษรอบตัวเรา.** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ไมตรี สุทธจิตต์. (2543). **สารเคมีก่อมะเร็ง.** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เยาว์มาลย์ ค้าเจริญ, สาโรช ค้าเจริญ, เชิดชัย รัตนเศรษฐกุล, ภาวดี ภักดี, วินัย ใจขาน, อรุณีพงศ์ ศรีสถาพร, พรรณศรี สากิยะ, พิทักษ์ ศรีประย่า, สมพงษ์ ฉายพุทธ และ บุญตา ธรรมบุตร (2540). **รายงานการวิจัยเรื่อง ความปลอดภัยจากอาหารที่ผลิตจากถั่วลิสงในระบบที่ควบคุมการเกิดอะฟลาท็อกซิน (โครงการย่อยที่ 3).** คณะเกษตรศาสตร์: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศรีสิทธิ์ การุณยะวณิช. (2540). มาตรการควบคุมอะฟลาท็อกซินในอาหารประเภทถั่ว กระทรวงสาธารณสุข โครงการรณรงค์การลดปัญหาอะฟลาท็อกซินในถั่วลิสง. ใน สุกัญญา กองเงิน, นันนทวรรณ สุโรบล, ชูทิพย์ ชนะเสนีย์ และสมศักดิ์ สุริโย. (บรรณาธิการ). **คู่มือวิชาการเรื่องอะฟลาท็อกซินในถั่วลิสง.** (หน้า 66-82). กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร.

ศรีสิทธิ์ การุณยะวณิช, ดวงจันทร์ สุประเสริฐ, อุมา บริบูรณ์, สุวัฒน์ โปษยะวัฒนากุล และนพาภรณ์ ปัญจะ. (2538). อะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ในประเทศไทย. **วารสารวิทยาศาสตร์การแพทย์.** 37(1): 19-32.

ศุภกิจ อังศุภากร. (2526). โรคสัตว์ที่เกิดจากสารพิษจากเชื้อรา. **สัตวแพทย์สาร.** 34(1): 75-86.

ศุภกิจ อังศุภากร, วิทยา ธรรมวิทย์ และ สมพงศ์ สหพงศ์. (2520). โรคของสัตว์เศรษฐกิจที่เกิดจากพิษของเชื้อรา. **เวชชสารสัตวแพทย์.** 7(2): 127-143.

สุเทพ เรืองวิเศษ. (2541). **การปนเปื้อนและสาเหตุการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซิน B_1 และ M_1 ในนมปรุงแต่งพาสเจอร์ไรซ์ และยูเอชที รสช็อคโกแลต.** รายงานการวิจัย ทุนโครงการวิจัยงบประมาณแผ่นดินประจำปี 2539.

สุเทพ เรืองวิเศษ และเบญจมาศ มโหสถนันท์. (2539). **ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมและปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 ในน้ำนม.** รายงานผลการวิจัย ทุนรัชดาภิเษกสมโภช. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุธาทิพย์ วิทย์ชัยวุฒิวงศ์. (2540). **การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของอะฟลาท็อกซิน B_1 ในอาหารโคนมเป็น อะฟลาท็อกซิน M_1.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาวิทยาศาสตร์คณะโภชนศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สุรีลักษณ์ รอดทอง. (2538). **จุลินทรีย์และโรคซึ่งเกิดจากอาหาร.** สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

โสภณ วงศ์แก้ว สุขุมา ชะนะภักดิ์ และสนั่น จอกลอย (2542). การวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซิน โดยวิธีอีไลซ่า. ในเอกสารการอบรมเรื่อง **การปฏิบัติการผลิตที่ดีและการวิเคราะห์อันตรายและการควบคุมจุดวิกฤตสำหรับโรงงานแปรรูปผลิตภัณฑ์ถั่วลิสง** วันที่ 2-4 มีนาคม 2542 (หน้า 94-98). กรุงเทพฯ: คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อนงค์ บิณฑวิหค, ดานิศ ทวีติยานนท์, ศุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล, วรา พานิชเกรียงไกร และ อรวรรณ จำรัสฉาย. (2540). การตรวจวิเคราะห์สารพิษอะฟลาท็อกซิน และเมทาโบไลท์ในเนื้อเยื่อของสัตว์เศรษฐกิจในประเทศไทย. **ธุรกิจอาหารสัตว์.** 14(56): 53-61.

อนงค์ บิณฑวิหค, ประพิศ คล้ายนิล, รัมภา อินทรรักษา และ สมบูรณ์ สุธีรัตน์. (2534). การลดความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซินโดยใช้มัยโคอินฮิบิเตอร์. ใน **ประมวลเรื่องการประชุมทางวิชาการด้านปศุสัตว์ ครั้งที่ 10 วันที่ 13-16 กันยายน 2534.** (หน้า 521-532). กรมปศุสัตว์: กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

อรุณศรี วงษ์อุไร. (2540). อะฟลาท็อกซินในถั่วลิสง. ใน สุกัญญา กองเงิน, นันนทวรรณ สุโรบล, ชูทิพย์ ชนะเสนีย์ และสมศักดิ์ สุริโย. (บรรณาธิการ). **คู่มือวิชาการเรื่องอะฟลาท็อกซินในถั่วลิสง.** (หน้า 41-47). กองส่งเสริมพืชไร่นา กรมส่งเสริมการเกษตร.

อุษา บริบูรณ์ และดวงจันทร์ สุประเสริฐ. (2537). การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาท็อกซิน M_1 และ M_2 ในนมและผลิตภัณฑ์นม. **วารสารกระทรวงสาธารณสุข.** 13(7-9): 108-114.

อุรธิดา เพ็งปาน. (2543). **การวิเคราะห์ติดตามการได้รับอะฟลาท็อกซินในคน.** วิทยานิพนธ์ **ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. ภาควิชาพิษวิทยา คณะวิทยาศาสตร์** มหาวิทยาลัยมหิดล.

Ayerst, G. (1969). The effect of moisture and temperature on growth and spore germination in some fungi. J. Stored. Prod. Res. 5:127-141.

Boutrif, E. and Canet, C. (1998). Mycotoxin prevention and control: FAO programes. Revue. Med. Vet. 149(6): 681-694.

Chu, F. S. (1989). Current immunological methods for analysis of aflatoxin in groundnuts and groundnut products. In ICRSAT 1989. Aflatoxin contamination of groundnut. Proc. Of Int. Workshop, 6-9 Oct 1987. India: ICRISAT

Devegowda, G., Raju, M. V. L. N., Afzali, N. and Swamy, H. V. L. N. (1998). Mycotoxin picture world: novel solutions for their counteraction. In Lyons, T. P. and Jacques, K. A.(eds.). **Biotechnology in the feed industry. Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium** (pp. 241-255). Leics,UK: Nottingham University.

Eaton, D. L., Ramsdell, H. S. and Neal, G. E. (1994). Biotransformation of aflatoxins. In Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (eds.). **The toxicology of aflatoxins.** (pp. 45-72). San Diego: Academic Press.

Gayler, D. W., Kadlubar, F. F. and Beland, F. A. (1992). Application of biomarkers to risk Assessment. **Environ. Health. Perspect.** 98: 139-141.

Goto, T., Wicklow, D. T. and Ito, Y. (1996). Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. **Appl. Environ. Microbiol.** 62(11): 4036-4038.

Groopman, J. D., Wild, C. P., Hasler, J., Junshi, C., Wogan, G. N. and Kensler, T. W. (1993). Molecular epidemiology of aflatoxin exposures: validation of aflatoxin-N7-guanine levels in urine as a biomarker in experimental rat models and human. **Environ. Health. Perspect.** 99: 107-113.

Groopman, J. D., Wogan, G. N., Roebuck, B. D. and Kensler, T. W. (1994). Molecular biomarker for aflatoxins and their application to human cancer prevention. **Cancer. Res.** 54: 1907-1911.

Hocking, A. D. (1997). Toxigenic *Aspergillus* species. In Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montrille, T. J. (eds.). **Food microbiology fundamentals and frontiers.** (pp. 393-405).Washington D.C.: ASM press.

Kurtzman, C. P., Horn, B. W. and Hesseltine, C. W. (1987). *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarii*. **J. Microbiol.** 53: 147-158.

Marth, E. H. (1990). Mycotoxins. In. Cliver, D. O. (ed.). **Foodborne disease.** (pp. 137-157). California: Academic Press.

Palmgren, M. S. and Hayes, A. W. (1987). Aflatoxins in food. In Krogh, P. (ed.). **Mycotoxins in food.** (pp. 65-95). London: Academic press.

Price, W. D., Lovell, R. A. and Mc Chesney, D. G. (1993). Naturally Occurring Toxins in Feedstuffs: Center for Veterinary Medicine Perspective. **J. Anim. Sci.** 71: 2556-2562.

Purchase, I. F. H. and Steyn, M. (1972. Reduction of the aflatoxin M1 content of milk by Processing. **J. Food Cosmet. Toxicol.** 10: 383-387.

Sawney, D. S., Vodehra , D. C. and Baker, R. C. (1973). The metabolism of C^{14} aflatoxins in laying hens. **Poultry Sci.** 52: 1302-1309.

Scott, P. M. (1990). Natural Poisons. In Helrich, K. (ed.). **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists** (15^{th} ed., pp. 1184-1213). Virginia: Arlington.

Shank, R.C., Bhamarapravati, N., Gordon, J.E. and Wogan, G.N. (1972). Dietary aflatoxin and human liver cancer. IV. Incidence of primary liver cancer in two municipalpopulations of Thailand. **Fd. Cosmet. Toxicol.** 10: 171-179.

Shank, R.C. and Wogan, G.N. (1965). Distribution and excretion of C^{14} -labelled aflatoxin B_1 in the rat. **Fed. Proc.** 24: 627.

Shibamoto, T. and Bjeldanes, L.F. (1993). **Introduction of food toxicology.** Sandiego: Academic press.

Steyn, P. S. and Stander, M. A. (1999). Mycotoxins with special reference to the carcinogenic mycotoxins: aflatoxins, ochatoxins and fumonisins. In Ballantyne, B., Marrs, T. and Syversen, T. (eds.). **General and applied toxicology.** (2^{nd} ed. pp. 2145-2176). London: Macmillan reference.

Suksombat, W. (1993). **Effect of concentrate supplementation on dairy cow performance with emphasis on tropical forages.** Ph.D. Animal Science, University of Massey, New Zealand.

Sutabhaha, S., Suttajit, M. and Niyomca, P. (1992). Studies of aflatoxins in Chiang Mai, Thailand. **Kitasato. Arch. of Exp. Med.** 65(1): 45-52.

Ueno, Y. (1983). **Mycotoxins.** Bangkok: Mahidol University.

Van Egmond, H. P. (1989). Aflatoxin M_1: Occurrence, Toxicity, Regulation. In Van Egmond, H. P. (ed.). **Mycotoxins in dairy product** (pp. 11-55). London: Elsevier Applied Science.

Wogan, G. N. (1966). Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. **Bacteriol. Rev.** 30: 460.

ภาคผนวก

การสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารโคนมและน้ำนมดิบของเกษตรกรรายย่อย

การสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารโคนมและน้ำนมดิบ สุ่มเก็บตัวอย่างในฟาร์มของเกษตรกรรายย่อย ในเขตอำเภอขามทะเลสอ จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งมีจำนวนฟาร์มประมาณ 100 ฟาร์ม ทำการสุ่มเก็บโดยหาจำนวนของฟาร์มที่ทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง จากสมการ (ดำเริง จันทร์สุวรรณ, 2537) ดังนี้

$$M = \frac{N}{(1 + Nd^2)}$$

เมื่อ M = จำนวนฟาร์มที่จะทำการสุ่มเก็บตัวอย่าง

d = 0.05 หรือ 5%

N = จำนวนฟาร์มของเกษตรกรรายย่อยทั้งหมด ในเขตอำเภอขามทะเลสอ จังหวัดนครราชสีมา

$$M = \frac{100}{(1 + 100(0.05^2))}$$

$$= 4$$

ดังนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารสัตว์และน้ำนมดิบจำนวน 4 ฟาร์ม

ประวัตินักวิจัย

ผศ. ดร. เบญจมาศ จิตรสมบูรณ์ จบการศึกษาปริญญาตรีสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป (เคมี-ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (พ.ศ. 2520) ปริญญาโทสาขาวิชา Environmental Health (Toxicology)ที่ University of Michigan ประเทศสหรัฐอเมริกา (พ.ศ. 2523) และปริญญาเอกสาขาวิชา Toxicology ของมหาวิทยาลัย Utah State University ประเทศสหรัฐอเมริกา (พ.ศ. 2529) ก่อนปฏิบัติงานที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เคยเป็นผู้ช่วยวิจัย สาขาวิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยมหิดล นักวิจัยสถาบันวิจัยสภาวะแวดล้อม จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย postdoctoral fellow ที่ Medical College of Virginia, special fellow ที่ Cleveland Clinic Foundation, และ research associate ที่ Case Western Reserve University ประเทศสหรัฐอเมริกา ปัจจุบันดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาชีววิทยา สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผศ. ดร. สุนทร กาญจนทวี จบการศึกษาระดับปริญญาตรี (เกียรตินิยม) สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร จากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (พ.ศ. 2525) ปริญญาโทสาขาวิชา Agricultural Engineering จาก Asian Institute of Technology (พ.ศ. 2528) และปริญญาเอกสาขาวิชา Biotechnology จาก Massey University ประเทศนิวซีแลนด์ ปัจจุบัน ดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

รศ. ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ จบการศึกษาระดับปริญญาตรี (B.Sc.) สาขาวิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2520) ปริญญาโท (M. Agr. Sc.) สาขาวิชา Dairy Production และปริญญาเอก สาขาวิชา Dairy Production and Nutrition จาก Massey University ประเทศนิวซีแลนด์ ก่อนปฏิบัติงานที่มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี เคยปฏิบัติงานหลายตำแหน่งที่องค์การส่งเสริมกิจการโคนมแห่งประเทศไทย (พ.ศ. 2521-2537) ปัจจุบัน ดำรงตำแหน่งรองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี