

การศึกษาปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม และน้ำมันจาก ถัณมรวมของสหกรณ์โคนมในภาคตะวันออก ปี 2549 - 2552

วิณา เชื้อเงิน* ศรุดา หวังอนุรักษ์กุล

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก กรมปศุสัตว์ อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี 20220

* ผู้รับผิดชอบ โทรศัพท์ 0 3874 2116-9 โทรสาร 0 3874 2120 E-mail : vrd_ep@dld.go.th

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมในอาหารโคนม 474 ตัวอย่าง และอะฟลาทอกซิน M1 ใน
น้ำมันดิบจากถัณมรวมของสหกรณ์โคนมในภาคตะวันออก 163 ตัวอย่าง ระหว่างปี 2549 – 2552 ด้วย
เครื่อง Fluorometer มีความแม่นยำ และความเที่ยงของการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (%recovery
75 – 120% และ % RSD ไม่เกิน 8%) พบว่าอาหารโคนมทุกตัวอย่างมีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมไม่เกิน
เกณฑ์มาตรฐานคุณภาพอาหารสัตว์ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ แต่มีจำนวนอาหารโคนม
เฉลี่ย 94.6% เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานขององค์การอาหารและยา สหรัฐอเมริกา (US FDA) ปริมาณการ
ปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมสูงสุดพบในปี 2549 เท่ากับ 200 µg/kg ขณะที่จำนวนน้ำมันดิบเฉลี่ย 89.1%
พบปริมาณไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.), Codex และ US FDA โดย
ตรวจพบปริมาณอะฟลาทอกซิน M1 สูงสุดในปี 2549 และ 2550 เท่ากับ 2.6 µg/kg ปริมาณเฉลี่ย
ของอะฟลาทอกซินที่พบในตัวอย่างทั้งสองชนิดมีแนวโน้มลดลง

คำสำคัญ : อะฟลาทอกซิน อาหารโคนม น้ำมันดิบ

บทนำ

อะฟลาทอกซิน (aflatoxin, AF) เป็นสารพิษจากเชื้อรา ส่วนมากสร้างมาจากเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus flavus* และ *A. parasiticus* เป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็ง ก่อกลายพันธุ์ และกดภูมิคุ้มกัน (อรรษา และคณะ, 2533; Reddy and Waliyar, 2010) อุณหภูมิที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราและสร้างสารพิษอยู่ในช่วง 25 - 32 องศาเซลเซียส และความชื้นในอากาศสูง (เบญจมาศ, 2539) อะฟลาทอกซินเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลทางชีวภาพหรือขบวนการเมตาบอลิซึมชนิดทุติยภูมิของเชื้อรา (อภิษฐา, 2548; Reddy and Waliyar, 2010) โดยมี acetate เป็นสารตั้งต้นในขบวนการสังเคราะห์อะฟลาทอกซินทางชีวภาพ (อนงค์, 2546; Yu *et al.*, 2003; Ruiqian *et al.*, 2004) แบ่งตามโครงสร้างทางเคมีได้ 2 กลุ่ม คือ aflatoxin B และ aflatoxin G โดยชนิด B₁, B₂, G₁ และ G₂ พบตามธรรมชาติจากการผลิตของเชื้อรา พบได้ในวัตถุดิบการเกษตร เช่น ข้าวโพด ถั่วลิสง ปลายข้าว กากถั่วเหลือง ปลาป่น ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์การเกษตรที่ใช้เป็นอาหารสัตว์ AFB₁ มีความเป็นพิษสูงสุดและพบมากที่สุด รองลงมา คือ AFG₁, AFB₂ และ AFG₂ ตามลำดับ (WHO, 2004) นอกจากนี้ยังมีชนิด M₁ และ M₂ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ (metabolites) ของ B₁ และ B₂ ตามลำดับ พบได้ในน้ำมันและผลิตภัณฑ์นม อะฟลาทอกซินมีความสำคัญต่อห่วงโซ่อาหารของคนและสัตว์ สามารถทนต่อความร้อนได้ถึง 250 องศาเซลเซียส (Shapira and Paste, 2004) AFB₁ จะถูกกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในร่างกายส่วนใหญ่มักเกิดขึ้นที่ตับทำให้เกิดเป็น aflatoxin B₁ 8-9 epoxide ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่สามารถจับกับ DNA, RNA และ albumin ได้ง่าย เป็นสาเหตุให้เกิดเซลล์ผิดปกติโตขึ้นกลายเป็นเนื้องอกและเป็นมะเร็งในที่สุด (เบญจมาศ, 2543; กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์, 2553; WHO, 2002) สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเมื่อกินอาหารที่ปนเปื้อน AFB₁ จะเกิดขบวนการเมตาบอลิซึมทำให้เปลี่ยนแปลงเป็น AFM₁ และถูกขับออกทางน้ำนม บางส่วนขับออกทางปัสสาวะ และอุจจาระ สามารถตรวจพบอะฟลาทอกซินได้ทั้งในอาหาร สิ่งขับถ่าย รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น ไข่ ตับ ไต กล้ามเนื้อ เลือด (อนงค์, 2546) ความเป็นพิษที่เกิดจากสารพิษนี้ขึ้นกับชนิดสัตว์ ขนาดและระยะเวลาที่ได้รับ อายุ และพันธุ์สัตว์ (มาลินี, 2527) แม้โคที่กินอาหารปนเปื้อน AFB₁ พบว่าปริมาณ AFM₁ ที่ถูกขับออกมากับน้ำนมจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ AFB₁ ที่แม่โคกินเข้าไป (Dragacci *et al.*, 1995 อ้างถึงโดย นพดล และ เพชรรัตน์, 2551) AFM₁ สามารถตรวจพบได้ในน้ำนมภายใน 12 – 24 ชั่วโมง หลังการได้รับอาหารที่มีการปนเปื้อน AFB₁ เมื่อหยุดให้อาหารที่ปนเปื้อน AFB₁ ระดับของ AFM₁ ในน้ำนมจะลดลงจนตรวจไม่พบภายใน 72 ชั่วโมง (Van Egmond, 1989) ปัญหาการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์และน้ำนมเกี่ยวข้องทั้งโดยทางอ้อมและทางตรงกับความปลอดภัยของผู้บริโภคหากร่างกายได้รับสารพิษอย่างต่อเนื่องจะทำให้เกิดความเป็นพิษสะสมซึ่งจะเพิ่มความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งตับ การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมและน้ำนมดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมในพื้นที่ภาคตะวันออกจะได้ข้อมูลการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการวางแผนควบคุมป้องกัน และพัฒนาอุตสาหกรรมโคนมในภาคตะวันออกให้มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคตามมาตรฐานสากล

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง : อาหารโคนมสำเร็จรูปชนิดเม็ด และน้ำมันดิบในพื้นที่ภาคตะวันออกซึ่งส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออก จังหวัดชลบุรี ระหว่างปี พ.ศ. 2549 – 2552 ประกอบด้วย

- อาหารโคนมสำเร็จรูปชนิดเม็ดระยะอุ้มท้องและให้นมจากฟาร์มโคนม รวมทั้งสิ้น 474 ตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินรวม (AFB₁, AFB₂, AFG₁ และ AFG₂)
- น้ำมันดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนม รวมทั้งสิ้น 163 ตัวอย่าง วิเคราะห์หาปริมาณ AFM₁

สารเคมีและตัวทำละลาย : sodium chloride (AR grade), acetonitrile (HPLC grade), methanol (HPLC grade) และน้ำปราศจากไอออน(deionized water, DI)

เครื่องมือ : เครื่อง Fluorometer series 4 พร้อม Aflatoxin M₁ calibration standard, Mycotoxin calibration standard และ Aflatest developer (Vicam, USA); เครื่องชั่ง; เครื่อง centrifuge; เครื่องปั่นอาหารสัตว์ (blender) ความจุ 1,000 mL และ UV spectrophotometer ความยาวคลื่น 200 – 500 nm

วิธีการ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินรวม (AFB₁, AFB₂, AFG₁ และ AFG₂) ในอาหารโคนม

1.1 วิธีวิเคราะห์ : ชั่งตัวอย่างอาหารโคนม 50 g และ sodium chloride 5 g เติมน้ำ methanol : water (8:2) 100 mL ปั่นด้วย blender นาน 1 นาที กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองชนิดหยาบ (Vicam, USA) ปรับปริมาตรส่วนใสที่ได้ 10 mL ด้วย DI ให้เป็น 50 mL แล้วกรองผ่าน glass microfiber filter (Whatman® 1.5 µm) ผ่านส่วนที่กรองได้ 2 mL ลงใน immunoaffinity column (AflaTest® -P, Vicam, USA) ให้ของเหลวไหลออกจนหมด จากนั้นผ่านคอลัมน์ด้วย DI 2 ครั้งๆ ละ 5 mL ให้น้ำไหลออกหมดจนคอลัมน์แห้ง สะ AF ออกจากคอลัมน์ด้วย methanol 1 mL เก็บสารที่ได้ใน cuvette เติมน้ำ 10% developer 1 mL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นำไปวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินรวม ด้วยเครื่อง Fluorometer Vicam Series 4 ที่ผ่านการปรับเทียบ (calibrate) ด้วย Mycotoxin calibration standard

1.2 การหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ : ทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) โดยเตรียมตัวอย่างอาหารโคนมที่เติมสารมาตรฐาน Aflatoxin Mix (Supelco, USA) ประกอบด้วย AFB₁, AFB₂, AFG₁ และ AFG₂ ให้มีความเข้มข้น 3 ระดับ ใกล้เคียง 5, 20 และ 100 ng/mL (µg/kg, ppb) อย่างน้อยความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินรวมตามขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง คำนวณหา %recovery และ %relative standard deviation (%RSD) เพื่อประเมินความแม่นยำและความเที่ยง ตามลำดับ

$$\text{โดย} \quad \% \text{recovery} = \frac{\text{ปริมาณที่วิเคราะห์ได้}}{\text{ปริมาณที่มีอยู่จริง}} \times 100$$

$$\% \text{RSD} = \frac{\text{SD}}{\bar{X}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ AFM₁ ในนํ้านม

2.1 **วิธีวิเคราะห์** : ปิเปตตัวอย่างนํ้านม 50 mL เติม sodium chloride 1 g ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นำไป centrifuge อย่างน้อย 2,000 × g นาน 15 นาที แยกชั้นไขมันด้านบนออก กรองส่วนของเหลวด้วย glass microfiber filter (Whatman® 1.5 µm) นำส่วนที่กรองได้ 10 mL ผ่านลงใน immunoaffinity column ให้ไหลด้วยอัตรา 1 – 2 หยด/วินาที จนของเหลวไหลออกหมด ผ่านคอลัมน์ด้วย methanol : water (1:9) 2 ครั้งๆ ละ 10 mL ให้ของเหลวไหลออกหมดจนคอลัมน์แห้ง ชะ AF ออกจากคอลัมน์ด้วย methanol 1 mL เก็บของเหลวที่ได้ใน cuvette เติม 10% developer 1 mL ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer นำไปวัดด้วยเครื่อง Fluorometer Vicam Series 4 ที่ผ่านการปรับเทียบด้วย Aflatoxin M₁ calibration standard เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ AFM₁ ในนํ้านม

2.2 การหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์

2.2.1 **เตรียม stock standard AFM₁** : ละลายสารมาตรฐาน AFM₁ (Sigma-Aldrich, Singapore) ด้วย acetonitrile ให้ได้ความเข้มข้นไม่เกิน 10 µg/mL นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วย UV spectrophotometer บันทึกค่าดูดกลืนแสงสูงสุด นำไปคำนวณความเข้มข้น(C) ของ AFM₁ มีหน่วยเป็น µg/mL (AOAC, 2000)

$$C = \frac{A \times MW \times 1000}{\epsilon}$$

โดยที่ A = ค่าดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})
 MW = น้ำหนักโมเลกุลของ AFM₁ (MW = 328 g/mol)
 ϵ = ความสามารถในการดูดกลืนแสง (molecular absorptivity) ของ AFM₁ เมื่อละลายใน acetonitrile (ϵ = 19000)

2.2.2 **ทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)** : เตรียมตัวอย่างนํ้านมที่เติมสารมาตรฐาน AFM₁ ให้มีความเข้มข้นใกล้เคียง 0.5 ng/mL อย่างน้อย 3 ซ้ำ หาปริมาณ AFM₁ ตามขั้นตอนการวิเคราะห์ตัวอย่าง คำนวณหา %recovery และ %RSD เพื่อประเมินความแม่นยำและความเที่ยงตามลำดับ

ผล

การวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม และนํ้านมดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมในพื้นที่ภาคตะวันออก ระหว่างปี พ.ศ.2549 – 2552 ด้วยเครื่อง Fluorometer Vicam Series 4 โดยวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินรวม (AFB₁, AFB₂, AFG₁ และ AFG₂) ในอาหารโคนม 474 ตัวอย่างซึ่งเป็นจำนวนที่ส่งตรวจในแต่ละปี คือ 259, 68, 53 และ 94 ตัวอย่าง ตามลำดับ และวิเคราะห์ปริมาณ AFM₁ ในนํ้านม 163 ตัวอย่าง จำแนกรายปี คือ 44, 36, 35 และ 48 ตัวอย่าง ตามลำดับ ประเมินการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมในอาหารโคนมด้วยเกณฑ์ตามพระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2537 ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์

เรื่องกำหนดลักษณะอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพซึ่งกำหนดปริมาณสูงสุดไม่เกิน 200 µg/kg (ppb) ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมสูงสุดในอาหารโคนม จำแนกรายปี (ตรวจพบสูงสุดปีละ 1 ตัวอย่าง) คือ 200, 69, 49 และ 87 µg/kg ตามลำดับ เป็นตัวอย่างจากจังหวัดชลบุรี นครนายก และสระแก้ว (ตารางที่ 1) ในการหาประสิทธิภาพของการวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้นใกล้เคียง 5, 20 และ 100 ng/mL มีค่า %recovery ในช่วง 91.2 – 93.1%, 102.2 – 107.2% และ 106.5 - 107.5% ตามลำดับ และ %RSD ในช่วง 0.5% - 2.6%

ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณ AFM₁ ในน้ำนมดิบมีค่า %recovery ที่ความเข้มข้น 0.5 ng/mL ในช่วง 109.7 – 111.3% และ %RSD ในช่วง 0.8 – 1.5% ประเมินการปนเปื้อน AFM₁ ด้วยเกณฑ์มาตรฐานน้ำนมดิบ มกอช. (2548), มาตรฐานอาหารระหว่างประเทศ (Codex, 2001) และองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (US FDA, 2003) ซึ่งกำหนดการปนเปื้อน AFM₁ สูงสุดให้มีได้ไม่เกิน 0.5 µg/kg พบว่าระหว่างปี 2549 – 2552 มีน้ำนมดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมของภาคตะวันออกเฉียงเหนือผ่านเกณฑ์มาตรฐานจำนวน 86.4, 91.7, 88.6 และ 89.6% ตามลำดับ พบปริมาณ AFM₁ สูงสุดในแต่ละปี คือ 2.60, 2.60, 0.45 และ 1.4 µg/kg ตามลำดับ เป็นตัวอย่างจากจังหวัดจันทบุรี สระแก้ว และชลบุรี (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวม (AFB₁, AFB₂, AFG₁ และ AFG₂) ในอาหารโคนมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ระหว่างปี พ.ศ.2549 – 2552

พ.ศ.	จังหวัด	จำนวนตรวจ (474 ตัวอย่าง)	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (%)			ปริมาณ (µg/kg)	
			≤ 5 µg/kg	≤ 20 µg/kg	≤ 200 µg/kg ^a	$\bar{x} \pm SD$	พบสูงสุด
2549	จันทบุรี	81	54 (66.7)	79 (97.5)	81 (100.0)	5.31 ± 7.18	49.5
	ฉะเชิงเทรา	23	6 (26.1)	18 (78.3)	23 (100.0)	19.21 ± 26.42	120
	ชลบุรี	49	38 (77.6)	41 (83.7)	49 (100.0)	11.39 ± 31.00	200
	นครนายก	6	1 (16.7)	6 (100.0)	6 (100.0)	11.68 ± 6.45	19
	สระแก้ว	100	59 (59.0)	98 (98.0)	100 (100.0)	5.22 ± 6.11	48
	รวม	259	158 (61.0)	242 (93.4)	259 (100.0)	7.8 ± 17.0	200
2550	จันทบุรี	2	0	0	2 (100.0)	55.00 ± 14.14	65
	ชลบุรี	23	8 (34.8)	22 (95.7)	23 (100.0)	9.95 ± 9.16	44
	นครนายก	3	0	0	3 (100.0)	47.33 ± 18.82	69
	สระแก้ว	40	31 (77.5)	40 (100.0)	40 (100.0)	3.39 ± 4.23	18
	รวม	68	39 (57.4)	62 (91.2)	68 (100.0)	9.1 ± 14.1	69
2551	จันทบุรี	2	2 (100.0)	2 (100.0)	2 (100.0)	1.25 ± 0.07	1.3
	สระแก้ว	51	39 (76.5)	50 (98.0)	51 (100.0)	4.85 ± 7.25	49
	รวม	53	41 (77.4)	52 (98.1)	53 (100.0)	4.7 ± 7.2	49
2552	จันทบุรี	13	12 (92.3)	12 (92.3)	13 (100.0)	4.93 ± 10.94	41
	สระแก้ว	81	55 (67.9)	78 (96.3)	81 (100.0)	6.07 ± 12.01	87
	รวม	94	67 (71.3)	90 (95.7)	94 (100.0)	5.9 ± 11.8	87
อัตราเฉลี่ย			66.8%	94.6%	100.0%	7.3 ± 14.8	

a = ผ่านเกณฑ์มาตรฐานของประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ปี 2537

ตารางที่ 2 ผลการตรวจการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน M1 ในน้ำมันดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ.2549 – 2552

พ.ศ.	จังหวัด	จำนวนตรวจ (163 ตัวอย่าง)	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ (%)			ปริมาณ ($\mu\text{g/kg}$)	
			< 0.5 $\mu\text{g/kg}$	$\leq 0.5 \mu\text{g/kg}$ ^a	> 0.5 $\mu\text{g/kg}$	$\bar{x} \pm SD$	พบสูงสุด
2549	จันทบุรี	7	3 (42.9)	3 (42.9)	4 (57.1)	1.05 $\pm$ 0.89	2.60
	ชลบุรี	24	24 (100.0)	24 (100.0)	0	0.14 $\pm$ 0.10	0.31
	สระแก้ว	13	11 (84.6)	11 (84.6)	2 (15.4)	0.27 $\pm$ 0.21	0.76
	รวม	44	38 (86.4)	38 (86.4)	6 (13.6)	0.3 $\pm$ 0.5	2.60
2550	ชลบุรี	23	23 (100.0)	23 (100.0)	0	0.19 $\pm$ 0.10	0.47
	สระแก้ว	13	10 (76.9)	10 (76.9)	3 (23.1)	0.47 $\pm$ 0.66	2.60
	รวม	36	33 (91.7)	33 (91.7)	3 (8.3)	0.3 $\pm$ 0.4	2.60
2551	จันทบุรี	1	1 (100.0)	1 (100.0)	0	0.03	0.03
	ชลบุรี	24	24 (100.0)	24 (100.0)	0	0.20 $\pm$ 0.12	0.45
	สระแก้ว	10	6 (60.0)	6 (60.0)	4 (40.0)	0.57 $\pm$ 0.42	1.10
	รวม	35	31 (88.6)	31 (88.6)	4 (11.4)	0.3 $\pm$ 0.3	1.10
2552	ชลบุรี	34	31 (91.2)	31 (91.2)	3 (8.8)	0.18 $\pm$ 0.32	1.40*
	สระแก้ว	14	12 (85.7)	12 (85.7)	2 (14.3)	0.26 $\pm$ 0.25	0.86
	รวม	48	43 (89.6)	43 (89.6)	5 (10.4)	0.2 $\pm$ 0.3	1.40
อัตราเฉลี่ย			89.1%	89.1%	10.9%	0.3 $\pm$ 0.4	

a = ผ่านเกณฑ์ปริมาณสารปนเปื้อนสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ตามมาตรฐาน มกอช.(2548), Codex (2001) และ US FDA (2003)

* = ตรวจพบ 2 ตัวอย่าง

วิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม และน้ำมันดิบด้วยเครื่อง Fluorometer Vicam Series 4 โดยใช้ immunoaffinity column ให้ค่า accuracy และ precision อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ โดยใช้เกณฑ์ % recovery 75 – 120% และ % RSD หรือ % repeatability ไม่เกิน 8% (AOAC, 2003) อาหารโคนมในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ทำการวิเคราะห์ทั้ง 474 ตัวอย่าง มีคุณภาพผ่านเกณฑ์ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ พ.ศ. 2537 ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ซึ่งกำหนดการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวม (AFB_1 , AFB_2 , AFG_1 และ AFG_2) สูงสุดให้มีได้ไม่เกิน 200 $\mu\text{g/kg}$ ทั้งนี้หากประเมินด้วยเกณฑ์มาตรฐานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (US FDA) ซึ่งกำหนดปริมาณสูงสุดไม่เกิน 20 $\mu\text{g/kg}$ จะพบจำนวนอาหารโคนมปลอดภัยจากการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินรวมเฉลี่ย 94.6 % และจำนวนอาหารโคนมโดยเฉลี่ย 66.8 % มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวมไม่เกิน 5 $\mu\text{g/kg}$ (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามหลายประเทศได้กำหนดเกณฑ์ยอมรับการปนเปื้อนปริมาณอะฟลาทอกซิน

รวมสูงสุดในอาหารโคนม แตกต่างกัน คือ 0.01, 10, 20, 30 และ 50 µg/kg ประเทศส่วนใหญ่รวมทั้งสหรัฐอเมริกา กำหนดให้มีปริมาณปนเปื้อนได้สูงสุด (limit) 20 µg/kg บางประเทศกำหนดที่ 50 µg/kg ในขณะที่สหภาพยุโรป (EUROPEAN UNION, EU) กำหนดเกณฑ์ปนเปื้อนในอาหารโคนมเฉพาะ AFB₁ ไม่เกิน 5 µg/kg เนื่องจาก AFB₁ ซึ่งมีความเป็นพิษสูงสุด เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเปลี่ยนแปลงเป็น AFM₁ และถูกขับออกทางน้ำนมมีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคได้โดยตรง การจำกัดปริมาณ AFB₁ ในอาหารสัตว์จึงเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมปริมาณ AFM₁ ในน้ำนม EU ได้กำหนดเกณฑ์ AFM₁ ในน้ำนมไว้ในระดับต่ำ คือ ไม่เกิน 0.05 µg/kg และความชื้นในอาหารสัตว์ไม่เกิน 12% (FAO, 2004) ทั้งนี้อาหารสัตว์ที่ปนเปื้อน AFB₁ ปริมาณ 8 - 50 µg/kg ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ AFB₁ ในอาหารสัตว์จะมีความสัมพันธ์เชิงเส้น (linear relationship) กับ AFM₁ ในน้ำนม ซึ่งสามารถประมาณการพบ AFM₁ ในน้ำนมได้ โดย AFB₁ 0.3 - 6% จะเปลี่ยนเป็น AFM₁ และถูกขับออกทางน้ำนม ทั้งนี้ถ้าโคนมได้รับอาหารที่มี AFB₁ ประมาณ 40 µg/วัน จะให้น้ำนมที่มีปริมาณ AFM₁ 0.05 µg/kg (WHO, 2002) อย่างไรก็ตามการตรวจพบปริมาณอะฟลาทอกซินรวมในอาหารต่ำแต่พบ AFM₁ ในน้ำนมสูงนั้นเป็นไปได้ว่าแม่โคอาจได้รับอะฟลาทอกซินมาจากแหล่งอาหารอื่นนอกเหนือจากอาหารที่ผู้ผลิตตรวจ (ลักษณะกนก และคณะ, 2549)

การประเมินการปนเปื้อน AFM₁ ในน้ำนมดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมในพื้นที่ภาคตะวันออก ระหว่างปี 2549 - 2552 จำนวนรวม 163 ตัวอย่าง ด้วยเกณฑ์มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช. 6003 - 2548), Codex (2001) และ US FDA (2003) ซึ่งกำหนดปริมาณ AFM₁ ปนเปื้อนสูงสุดให้มีได้ในน้ำนมดิบ ≤ 0.5 µg/kg พบว่าจำนวนน้ำนมดิบ 89.1% มีปริมาณ AFM₁ ไม่เกินเกณฑ์มาตรฐานดังกล่าว โดยปี 2549 และ 2550 พบ AFM₁ ปริมาณสูงสุด 2.60 µg/kg ส่วนปี 2551 และ 2552 พบปริมาณสูงสุดใกล้เคียงกัน คือ 1.10 และ 1.40 µg/kg ตามลำดับ โดยภาพรวมค่าเฉลี่ยของปริมาณ AFM₁ ในน้ำนมดิบรายปีในช่วงดังกล่าวของภาคตะวันออกยังมีความปลอดภัยตามเกณฑ์มาตรฐาน ทั้งนี้หลายประเทศกำหนดเกณฑ์การปนเปื้อน AFM₁ แตกต่างกัน คือ ตรวจไม่พบ, 0.05, 2, 0.5, 5 และ 15 µg/kg โดยส่วนใหญ่กำหนดเกณฑ์ที่ 0.05 µg/kg รองลงมา คือ 0.5 µg/kg (FAO, 2004)

อย่างไรก็ดีการปนเปื้อนในน้ำนมดิบจากรายงานประจำปี สถาบันสุขภาพสัตว์ ปี 2549 - 2551 เป็นรายงานตัวอย่างรวมจากการตรวจนมรายตัว นมถึงรวมฟาร์ม และนมถึงรวมสหกรณ์โคนม ใช้เกณฑ์ปริมาณ AFM₁ สูงสุดที่มีได้ < 0.5 ppb ได้รายงานการปนเปื้อน AFM₁ ในภาคตะวันออกในแต่ละปีเท่ากับ 5.19% (11/212 ตัวอย่าง), 0.35% (2/557 ตัวอย่าง) และ 2.01% (6/298 ตัวอย่าง) ตามลำดับ โดยภาพรวมของการตรวจพบปริมาณ AFM₁ ในน้ำนมดิบสูงกว่าเกณฑ์ดังกล่าว คือ พ.ศ. 2549 พบมากที่สุดที่ภาคตะวันออก 5.19% (11/212 ตัวอย่าง) รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 3.57% (1/28 ตัวอย่าง), พ.ศ. 2550 พบมากที่สุดที่ภาคตะวันตก 11.94% (8/67 ตัวอย่าง) รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 10.00% (31/310 ตัวอย่าง) และ พ.ศ. 2551 พบมากที่สุดที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง 12.20% (5/41 ตัวอย่าง) รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน 8.18% (13/159 ตัวอย่าง) จะเห็นได้ว่า

การตรวจพบ AFM₁ ในน้ำมันดิบจากตัวอย่างรวมทุกประเภทของภาคตะวันออกเฉียงเหนือในเกณฑ์ที่ต่ำกว่าภาคอื่น ทั้งนี้ปริมาณเฉลี่ยของอะฟลาทอกซินที่ตรวจพบในตัวอย่างอาหารโคนมและน้ำมันดิบจากถังนมรวมของสหกรณ์โคนมในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในช่วงปี 2549 – 2552 มีแนวโน้มลดลง

การนำข้อมูลหรือผลรายตัว หรือระดับฟาร์มมาร่วมพิจารณาในกรณีตรวจพบการปนเปื้อนในถังนมรวมของสหกรณ์โคนมจะทำให้การวางแผน การแก้ไขปัญหา และการจัดการฟาร์มมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทั้งนี้ความสัมพันธ์ของการที่สัตว์ได้รับอาหารที่ปนเปื้อน การควบคุมและป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อราในอาหารสัตว์ให้ได้ผลดีต้องกระทำในหลายขั้นตอนนับตั้งแต่การเพาะปลูกพืชไร่ การผลิตอาหารสัตว์ การเลี้ยงโคนม และยังคงอาศัยความร่วมมือและรับผิดชอบจากบุคลากรที่เกี่ยวข้องในขั้นตอนดังกล่าวทั้งภาครัฐและเอกชนอีกด้วย (เบญจมาศ, 2539) การสุ่มตัวอย่างอาหารที่ใช้เลี้ยงโคนม และน้ำมันดิบเพื่อตรวจเฝ้าระวังการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินอย่างต่อเนื่องโดยใช้เกณฑ์ปริมาณสูงสุดที่กำหนดให้มีได้ตามมาตรฐานสากล นอกเหนือจากการดำเนินการให้ผู้เลี้ยงโคนมตระหนักถึงอันตรายและความเสียหายที่เกิดขึ้นเนื่องจากการปนเปื้อนสารพิษดังกล่าวเป็นอีกบทบาทที่สำคัญในการควบคุมและลดปริมาณการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมและผลิตภัณฑ์จากโคนมเป็นการพัฒนาอุตสาหกรรมการเลี้ยงโคนมสู่มาตรฐานสากล เพิ่มคุณภาพและความปลอดภัยต่อสุขภาพของผู้บริโภคในการลดความเสี่ยงการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนของสารก่อมะเร็ง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.สพ.สมชวน รัตนมังคลานนท์ ผู้อำนวยการศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่มีส่วนร่วมสนับสนุนในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์. 2553. สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins). [Online]. Available : <http://www.dld.go.th/qcontrol/images/stories/gfeed/knowledge-toxin.pdf> (14 กุมภาพันธ์ 2553).
- กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์. 2545. การวิจัยเพื่อสำรวจปริมาณอะฟลาทอกซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เลี้ยงโคนม ใน : การแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนม ตามโครงการแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหาร และอาหารสัตว์แบบครบวงจรในส่วนรับผิดชอบของกรมปศุสัตว์ ปีงบประมาณ 2539 - 2543. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 66.
- กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์. 2545. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่องกำหนดลักษณะของอาหารสัตว์เสื่อมคุณภาพ พ.ศ. 2537. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 102.
- นพดล มีมาก และ เพชรรัตน์ ศักดินันท์. 2551. อะฟลาทอกซินในอาหารโคนมสำเร็จรูปจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. [Online]. Available : <http://kuon.lib.ku.ac.th/Fulltext/KC4603033.pdf> (23 กุมภาพันธ์ 2553).

- เบญจมาศ มโหสถนันท์. 2539. สารพิษเชื้อราในอาหารโคนม. ประมวลความรู้เกี่ยวกับโคนม. พีระศักดิ์ จันทรประทีป. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. หน้า 117 – 123.
- เบญจมาศ มโหสถนันท์. 2543. สารพิษเชื้อราในน้ำนม. เอกสารฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องคุณภาพน้ำนม และการตรวจสอบสารพิษจากเชื้อรา ระหว่างวันที่ 20 – 21 กรกฎาคม 2543 ณ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. หน้า 1 – 19.
- มาลินี ลิ้มโกคา. 2527. สารพิษจากเชื้อรา. พิษวิทยาและปัญหาที่พบในสัตว์. โรงพิมพ์จรัสสินทวงศ์, กรุงเทพฯ. หน้า 256 – 271.
- ลักษณะกนก สิ้นธุ์ประสพชัย, พนม ไสยจิตร และ ละณี สุขถิ่นไทย. 2549. ความสัมพันธ์ของปริมาณ อะฟลาทอกซินในอาหารโคต่อค่าที่ตรวจพบในน้ำนม. วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ 1(2) : 153 – 161. [Online]. Available : http://www.dld.go.th/niah/eJournal/index_v1n2.htm (23 กุมภาพันธ์ 2553).
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2549. รายงานประจำปี 2549. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 105.
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2550. รายงานประจำปี 2550. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 92.
- สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ. 2551. รายงานประจำปี 2551. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ ศูนย์อ้างอิงโรคปากและเท้าเปื่อยภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทยจำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 90.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2548. มาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ มกษ. 6003-2548. : น้ำนมดิบ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. หน้า 8.
- อภิษฐา ช่างสุพรรณ. 2540. อะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ในผลผลิตทางการเกษตร. [Online]. Available : http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp_1_2548_aflatoxin.pdf (8 ธันวาคม 2552).
- อรุษา อรุณสกุล, วิภา เชื้อเงิน, ละณี สุขถิ่นไทย และ รุจิรัตน์ วรสิงห์. 2533. ผลของแอลฟาทีออกซินต่อการสร้างแอนติบอดีของโรคนิวคาสเซิลในไก่กระທ. วารสารสงขลานครินทร์ 12(4) : 419 – 422.
- อนงค์ บิณฑวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อรา. อะฟลาทอกซิน. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ. หน้า 6.
- AOAC. 2000. Chapter 49. Natural Toxins. 49.2.03 AOAC Official Method 971.22, Standards for Aflatoxins. p.4.
- AOAC. 2003. Validation : An invisible component of measurement. [Online]. Available : <http://www.aoac.org/dietsupp6/Dietary-Supplement-web-site/HorwitzValid.pdf> (February 25, 2010).

- FAO. 2004. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003. p.12 – 23 [Online]. Available : <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5499e/y5499e00.pdf> (February 16, 2010).
- Reddy, S.V. and Waliyar, F. Properties of aflatoxin and it producing fungi. [Online]. Available : [http// www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp](http://www.aflatoxin.info/aflatoxin.asp) (December 8, 2009).
- Ruiqian, L., Qian, Y., Thanaboripat, D. and Thansukon, P. 2004. Biocontrol of *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. [Online]. Available : [http://www.kmitl.ac.th/ejkmitl/vol4no1/ biocontrol.pdf](http://www.kmitl.ac.th/ejkmitl/vol4no1/biocontrol.pdf) (June 8, 2010).
- Shapira, R. and Paster, N. 2004. Control of mycotoxins in storage and techniques for their decontamination. In : Mycotoxins in food detection and control, edited by N. Magan and M. Olsen. Woodhead Publishing, Cambridge, England. p.196.
- Van Egmond, H.P. 1989. Aflatoxin M1 : occurrence, toxicity, regulation. In : Mycotoxins in Diary Products. Edited by H.P. Van Egmond. Elsevier Applied Science., London, England. p.11 - 56.
- WHO. 2002. Evaluation of certain mycotoxins in food. WHO Technical Report Series 906. p.14.
- WHO. 2004. Annex 2 : Toxins. In : Public health response to biological and chemical weapons : WHO guidance 2nd ed.. [Online]. Available : <http://www.who.int/csr/delibepidemics/annex2.pdf> (January 11, 2010).

Determination of aflatoxins in dairy cattle feed and raw milk collected from Milk Collection Centers in Eastern Thailand, 2006 – 2009

Weena Choe-ngern* Saruda Wanganurakkul

Veterinary Research and Development Center (Eastern Region), Department of Livestock Development,
Ban Bueng, Chonburi 20220, Thailand.

* Corresponding author Tel. +66 (0) 3874 2116-9 Fax. +66 (0) 3874 2120 E-mail : vrd_ep@dld.go.th

Abstract

During 2006 - 2009 determination of total aflatoxins in 474 dairy cattle feeds and aflatoxin M₁ (AFM₁) in 163 raw cow milk collected from Milk Collection Centers in Eastern Thailand were analysed by Fluorometry. The accuracy and precision of measurement showed within acceptance criteria. All of the dairy cattle feeds met the regulatory levels of total aflatoxins issued by Ministry of Agriculture and Cooperative, whereas 94.6% of which met the regulatory levels of total aflatoxins issued by US FDA. In 2006, the presence of total aflatoxins was detected in dairy cattle feeds at maximum level of 200 µg/kg while 89.1% of raw cow milk were not exceeded to Thai Agricultural Commodity and Food Standard (TACFS), Codex and US FDA. It was found that aflatoxin M₁ contamination reached the maximum level of 2.6 µg/kg in 2006 and 2007. The average amount of aflatoxins in both dairy cattle feeds and raw cow milk tended to decrease.

Key words : aflatoxin, dairy cattle feed, raw cow milk