

วารสารศึกษาศาสตร์

The Journal of Education
ISSN 0858-5626 (Print) ISSN 2502-5307 (Online)



Proceeding

The 7th National Conference on Technology
and Innovation 2019

NCT 75th Anniversary Executive Center, NECTEC

Special Issue



0858-5626



การประชุมพิษวิทยาแห่งชาติครั้งที่ 3
“วิกฤตด้านพิษวิทยากับการพัฒนาประเทศไทย”

การประชุมสามัญประจำปี ๒๕๕๓ ของ
สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย

และ

สมาคมพิษวิทยาคลินิกแห่งประเทศไทย



วารสารพิษวิทยา

Thai Journal of Toxicology

ISSN 0857-264X

เจ้าของ สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย

สำนักงาน สถาบันคลังสมองของชาติ ๕๓๘/๒ อาคารมหานครยิบซัมชั้น ๑๕

ถนนศรีอยุธยา ราชเทวี กรุงเทพฯ ๑๐๔๐๐

โทรศัพท์. ๐๒ ๖๔๐-๐๔๖๑ ต่อ ๑๑๐ โทรสาร ๐๒ ๖๔๐-๐๔๖๕

คณะที่ปรึกษา

รศ.ดร. ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต

ศ.เกียรติคุณ ดร. ไมตรี สุทธจิตต์

ศ.ดร. ชีระยุทธ กลิ่นสุคนธ์

ดร. วรณี คูสำราญ

ดร. นวลตา ม่วงน้อยเจริญ

ดร. สุมล ปวีตรานนท์

รศ.ดร. พาลาก สิงหเสนี

กองบรรณาธิการ

ดร. จินตนา ศิริวราศัย

ศ. ดร. วรนนท์ สุภพิพัฒน์

รศ. ดร. จุฑามาศ สัตยวิวัฒน์

ดร. วรณี คูสำราญ

คุณบุษบา พฤษัยธาราธิกุล

ผศ.ดร. เวณิกา เบ็ญจพงษ์

รศ. ปัญญา เต็มเจริญ

รศ.ดร. ศรีศักดิ์ สุนทรไชย

รศ.ดร.พรพิมล กองทิพย์

ดร. สุมล ปวีตรานนท์

ดร. พิมพกา วนสวัสดิ์

รศ.ดร. อนงค์ บิณฑวิหค

สพ.ญ. เพียงใจ คูประดินันท์

ผศ.ดร. อภิชัย ดาวราย

ศ.เกียรติคุณ ดร. มาลิน จุลศิริ

ดร. รจนา ชุมหพันธ์

รศ. ดร. วงศ์วิวัฒน์ ทัศนียกุล

บรรณาธิการ ดร.ศุภพร แสงกระจ่าง

สถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

๒๖๘/๑ ถ.พระราม ๖ เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร ๑๐๔๐๐

โทรศัพท์ ๐๒ ๓๕๔-๓๐๒๕ ต่อ ๑๔๐๕ โทรสาร ๐๒ ๓๕๕-๓๐๒๕ ต่อ ๑๔๑๔

Email: suleesa@yahoo.com

ฝ่ายการเงิน รศ.ดร. สพญ. อนงค์ บิณฑวิหค

ฝ่ายจัดการ คุณพัชยา มาสมบุญ

กำหนดออก ปีละ ๒ ฉบับ

พิมพ์ที่ พิมพ์พินิจการพิมพ์ โทรศัพท์ ๐๒ ๓๕๔-๑๐๖๕

THAI JOURNAL OF TOXICOLOGY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

We invite contributions of original unpublished research, review, and general article in the area of toxicology. Three copies of manuscript (2 without authors/address/ acknowledgments for peer review) should be submitted to the editor by mail. The cover letter should include name, address, telephone, fax number and e-mail address. All authors listed on the cover page must sign a statement indicating that they have approved of the contents of the submitted manuscript. A diskette or CD should be submitted together with hard copy of manuscript. Submission can be made via e-mail with attached file.

Correspondence and Mailing Information:

Suleeporn Sangrajrang
Editor, Thai Journal of Toxicology
National Cancer Institute
268/1 Rama VI Road, Bangkok 10400, Thailand
Tel: 02 354 7025 ext 1405
Fax: 02 354 7025 ext 1414
Email: suleesa@yahoo.com

Preparing a Manuscript:

1. The manuscript could be written in English or Thai. The maximum length of the article is 15 pages including tables, figures, references and abstracts/key words. Thai and English versions of abstracts must be submitted and limited to 250 words. Type the abstract in 1-2 paragraphs.
2. The manuscript should be typed with 1-inch margins at all sides, on one side of A-4 paper. A current copy of the Thai Journal of Toxicology will show the correct format and style.
3. **Fonts:**
Thai – Angsana 16 – single line spacing
English – Times New Roman 12 – 1.5 line spacing
4. **Tables and Figures:** Table and figure should be typed on separate pages.
5. **References:** Number references in superscript in the order cited in the text. References must be verified by the author(s) against the original documents. For articles printed in a language other than English, indicate the language in parentheses after the article title. For more than 3 authors, list the first 3 and add “*et al*”. The title of journal should be abbreviated according to the *List of Journals*

Indexed in Index Medicus. Telescope page numbers, e.g. 125-9, 181-95.

Examples of Reference Style:

Journal article

Cromwell L, Lindemann MD, Randolph JH, *et al*. Soybean meal from roundup ready or conventional soybeans in diets for growing-finishing swine. *J Anim Sci* 2002; 80: 708–15.

Brake DG, Evenson DP. A generational study of glyphosate-tolerant soybeans on mouse fetal, postnatal, pubertal and adult testicular development. *Food Chem Toxicol* 2004;42: 29–36.

Book

Olson KR. Poisoning & drug overdose. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 2006: 52-8.

Joint FAO/IAEA/WHO. High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 kGy. WHO Technical Report Series 890. Geneva: WHO, 1999.

Bradley C. Measuring quality of life in diabetes. In: Marshall SM, Home PD, Rizza RA, eds. *The Diabetes Annual 10*. Amsterdam: Elsevier Science, 1996: 207-24.

Conference proceedings

Harley NH. Comparing radon daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, eds. *Indoor air and human health. Proceedings of the 7th Life Sciences Symposium; 1984 Oct 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis; 1985, 69-78.*

Website

Morse SS. Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 1995;1: 7-15. Available at <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>, accessed Jun 5, 1996.

FAO/WHO. Evaluation of allergenicity of genetically modified foods. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology, 2001. Available at http://www.who.int/foodsafety/publication/s/biotech/en/ec_jan2001.pdf, accessed Aug 10, 2005.

Articles accepted will also be published online at www.thaitox.org



*บทความคัดย่อและบทความ
การประชุมพิษวิทยาแห่งชาติครั้งที่ 3*

ปัญหาความเป็นพิษของขยะมูลฝอยในประเทศไทย (Toxicity of Waste in Thailand)

นายรังสรรค์ ปิ่นทอง

ผู้อำนวยการสำนักจัดการกากของเสียและสารอันตราย กรมควบคุมมลพิษ

บทคัดย่อ

พระราชบัญญัติการสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๐ กำหนดนิยามมูลฝอย หมายความว่า เศษ กระดาษ เศษผ้า เศษอาหาร เศษสินค้า เศษวัสดุ กุ้งพลาสติก ภาชนะที่ใส่อาหาร เถ้า มูลสัตว์ ซากสัตว์ หรือสิ่งอื่นใดที่เก็บกวาดจากถนน ตลาด ที่เลี้ยงสัตว์ หรือที่อื่น และหมายความรวมถึงมูลฝอยติดเชื้อและมูลฝอยที่เป็นพิษ หรืออันตรายจากชุมชน

ขยะมูลฝอยมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นทุกปี อันเนื่องมาจากการเพิ่มของจำนวนประชากร และการขยายตัวทางเศรษฐกิจและอุตสาหกรรม จึงนับเป็นปัญหาที่สำคัญที่ต้องมีการจัดการอย่างเหมาะสม ในปี ๒๕๕๑ ประเทศไทยมีปริมาณขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้นในเขตกรุงเทพมหานคร เทศบาล เมืองพัทยา และองค์การบริหารส่วนตำบล ประมาณ ๔๑,๐๖๔ ตันต่อวัน ส่วนในปี ๒๕๕๒ มีปริมาณขยะมูลฝอยเกิดขึ้นในเขตดังกล่าวประมาณ ๔๑,๔๑๐ ตันต่อวัน คิดเป็นอัตราการเพิ่มขึ้นร้อยละ ๐.๘๔ จากการศึกษาของกรมควบคุมมลพิษเมื่อปี ๒๕๔๗ พบว่า ร้อยละ ๖๔ ของขยะมูลฝอยที่เกิดขึ้นเป็นขยะอินทรีย์ รองลงมาร้อยละ ๓๐ เป็นขยะรีไซเคิล และร้อยละ ๖ เป็นของเสียอันตรายและขยะอื่นๆ

ปัจจุบัน องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นทั่วประเทศเก็บรวบรวมขยะมูลฝอยประมาณร้อยละ ๘๔ ของปริมาณที่เกิดขึ้น แล้วนำไปกำจัดอย่างถูกต้องร้อยละ ๔๗ โดยการฝังกลบอย่างถูกหลักสุขาภิบาล การเผาในเตาเผาขยะมูลฝอย การหมักทำปุ๋ย และการจัดการขยะมูลฝอยแบบผสมผสาน ส่วนร้อยละ ๕๓ ยังมีการกำจัดอย่างไม่ถูกต้องโดยการเผากลางแจ้งและการฝังกลบอย่างไม่ถูกหลักสุขาภิบาล สำหรับของเสียอันตราย มีการจัดการอย่างถูกต้องเพียงร้อยละ ๔๐ โดยวิธีการจัดการของเสียอันตรายที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ ได้แก่ การรีไซเคิล (ของเสียอันตรายที่สามารถรีไซเคิลได้ ได้แก่ หลอดฟลูออเรสเซนต์ แบตเตอรี่ โทรศัพท์เคลื่อนที่ ถ่านไฟฉาย และแบตเตอรี่รถยนต์) การเผาไหม้ในเตาเผาปูนซีเมนต์ การทำลายฤทธิ์ด้วยการเผาด้วยอุณหภูมิสูง การทำลายฤทธิ์ด้วยวิธีทางเคมี-ฟิสิกส์ และการฝังกลบอย่างปลอดภัย ส่วนร้อยละ ๖๐ ของของเสียอันตรายยังไม่มีการจัดการอย่างถูกต้อง เช่น การเก็บรวบรวมและขนส่งยังไม่ถูกต้องเหมาะสม การขาดการบำบัดหรือกำจัดอย่างถูกวิธี และการลักลอบทิ้งของเสียอันตรายในสถานที่สาธารณะ

การจัดการขยะมูลฝอยทั่วไปที่ไม่ถูกต้อง ย่อมก่อให้เกิดปัญหาต่อสุขภาพอนามัยและสิ่งแวดล้อม ดังนี้

1. อากาศเสีย เกิดจากการเผาขยะมูลฝอยกลางแจ้ง ก่อให้เกิดควันและสารพิษทางอากาศ โดยเฉพาะการเผาขยะมูลฝอยที่มีสารคลอรีนเป็นส่วนประกอบ จะก่อให้เกิดสารไดออกซินซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งและสามารถตกค้างยาวนานในสิ่งแวดล้อม

2. น้ำเสีย เกิดจากกองขยะมูลฝอยบนพื้น เมื่อฝนตกลงมาบนกองขยะมูลฝอยจะเกิดน้ำเสีย มีความสกปรกมาก ซึ่งจะไหลลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้น้ำในแหล่งน้ำเน่าเสีย และหากน้ำชะขยะซึมลงสู่หน้าดิน ก็จะทำให้เกิดการปนเปื้อนน้ำใต้ดินได้

3. การปนเปื้อนในดิน เกิดจากสารพิษทางอากาศที่ถูกฝนชะลงมาหรือตกสะสมบนดิน และเกิดจากน้ำชะขยะมูลฝอยไหลลงสู่ดิน

4. แหล่งพาหะนำโรค เกิดจากการกองขยะมูลฝอยบนพื้นซึ่งจะเป็นแหล่งเพาะพันธุ์พาหะนำโรค เช่น หนูและแมลงวัน เป็นต้น ซึ่งทำให้มีผลกระทบต่อสุขภาพอนามัยของประชาชน

5. เหตุรำคาญและความไม่น่าดู เกิดจากการเก็บขนขยะมูลฝอยไม่หมด รวมทั้งการกองขยะมูลฝอยบนพื้น ซึ่งจะส่งกลิ่นเหม็นรบกวนประชาชนและเกิดภาพที่ไม่น่าดู

ของเสียอันตรายซึ่งมักมีส่วนประกอบสำคัญเป็นสารเคมีประเภทโลหะหนัก สารฆ่าแมลง หรือตัวทำละลาย หากมีการจัดการที่ไม่ถูกต้อง จะทำให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม โดยกลุ่มคนที่เสี่ยงต่อการได้รับอันตรายมากที่สุด คือ เจ้าหน้าที่เก็บรวบรวมขยะมูลฝอย ซึ่งมักสัมผัสกับขยะมูลฝอยโดยตรงเป็นเวลานาน และส่วนใหญ่ไม่สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล โดยสารพิษที่อยู่ในของเสียอันตรายสามารถเข้าสู่ร่างกายได้ ๓ ทาง คือ ๑) ทางปาก โดยการรับประทานอาหารและดื่มน้ำหรือเครื่องดื่มที่มีสารพิษบางชนิดเป็นส่วนผสม ซึ่งเราเข้าไปโดยไม่รู้ตัว สารพิษเหล่านี้จะเข้าไปสะสมอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เช่น ยารักษาโรคบางชนิดที่หมดอายุแล้ว หรือที่ระบุว่ามีความอันตราย เป็นต้น ๒) ทางระบบทางเดินหายใจ สารพิษจากของเสียอันตรายบางชนิดที่สามารถระเหยได้ง่ายและแพร่กระจายสู่บรรยากาศ เมื่อเราหายใจเข้าไปก็จะเข้าไปสะสมอยู่ในบริเวณปอด และก่อให้เกิดปัญหาแก่ระบบทางเดินหายใจของสิ่งมีชีวิต เช่น สี ทินเนอร์ ตัวทำละลาย และน้ำมันรถยนต์ เป็นต้น ๓) ทางผิวหนัง โดยการสัมผัสหรือดูดซึม สารประกอบในผลิตภัณฑ์บางชนิดมีคุณสมบัติที่สามารถทำลายชั้นไขมันที่ทำหน้าที่ป้องกันการดูดซึมของสารเคมีเข้าสู่ร่างกาย และเข้าไปอยู่ในเส้นเลือดและแพร่กระจายเข้าสู่ร่างกายอย่างรวดเร็ว เช่น สารตะกั่ว และสารฆ่าแมลง เป็นต้น ทั้งนี้ อันตรายที่เกิดขึ้นอาจเกิดขึ้นโดยทันทีหรือเกิดขึ้นภายหลัง ดังนี้

๑) อันตรายที่เกิดขึ้นทันที มีความรุนแรงตั้งแต่เล็กน้อยถึงมาก เช่น เกิดการระคายเคืองที่ผิวหนังหรือดวงตา เกิดบาดแผลจากการโดนบาดด้วยเศษแก้ว เศษโลหะ ซึ่งหากมีเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคและไม่ได้รับการดูแลรักษาที่ถูกต้องก็เป็นอันตรายได้ ทั้งนี้ ความรุนแรงอาจมีมากถึงขั้นทำให้ตาบอดได้

๒) อันตรายที่เกิดขึ้นได้ในภายหลัง เช่น การติดเชื้อจากขยะมูลฝอยทำให้เป็นโรคตาแดง ท้องร่วง ท้องเดิน รวมทั้งการได้รับสารพิษที่ปนเปื้อนมากับขยะมูลฝอยอย่างต่อเนื่อง ก็จะทำให้เกิดการสะสมได้

ของเสียอันตรายซึ่งมีสารพิษเป็นส่วนประกอบสำคัญ ก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์สูงกว่าขยะมูลฝอยประเภทอื่น จึงควรมีการดำเนินการสร้างความตระหนักของประชาชนเกี่ยวกับความอันตรายของของเสียอันตรายและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ให้ความรู้แก่ประชาชนในการคัดแยกขยะมูลฝอยอย่างถูกต้อง ให้ความรู้และฝึกอบรมเจ้าหน้าที่เก็บรวบรวมขยะมูลฝอยเพื่อให้เกิดความระมัดระวังในการทำงานและให้มีการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล และส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

การจัดการขยะอุตสาหกรรม (Industrial Waste Management)

ดร. นลินี ศรีพวง

ศูนย์พัฒนาวิชาการอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม จังหวัดระยอง

(สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข)

บทคัดย่อ

ประเทศไทยมีการนำเข้าสารเคมีและการผลิตสารเคมีในประเทศเป็นจำนวนมากซึ่งก่อให้เกิดขยะอุตสาหกรรมที่เป็นกากของเสียของสารเคมีจากอุตสาหกรรม ขยะอุตสาหกรรมเหล่านี้มีส่วนประกอบทั้งสารอินทรีย์ สารอนินทรีย์ และสารกัมมันตรังสีที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย ซึ่งมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและผลกระทบต่อสุขภาพ โดยอาจมีผลทำให้ประชาชนเป็นโรคพิษจากสารเคมีและประสบอันตรายจากอุบัติเหตุสารเคมีได้ ปัจจุบันมีมาตรการและกลไกทางกฎหมายหลายฉบับและมีหลายหน่วยงานในประเทศไทยที่ดำเนินการจัดการขยะอันตราย โดยกระทรวงสาธารณสุขกำกับดูแลเกี่ยวกับขยะมูลฝอยติดเชื้อ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยกรมควบคุมมลพิษ กระทรวงอุตสาหกรรม โดยกรมโรงงานอุตสาหกรรมและการนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย กำกับดูแลเกี่ยวกับขยะอุตสาหกรรม โดยเฉพาะกรมควบคุมมลพิษนั้นเป็นศูนย์ประสานงานพันธกรณีระหว่างประเทศที่สำคัญเกี่ยวกับขยะอันตราย ได้แก่ อนุสัญญาบาเซล และอนุสัญญาสต็อกโฮล์ม และกระทรวงสาธารณสุขเป็นศูนย์ประสานงานองค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทย

อย่างไรก็ตามปัญหาขยะอุตสาหกรรมโดยเฉพาะกากของเสียอันตรายนั้นพบว่ามีปัญหาเนื่องจากจำนวนโรงงานหรือหน่วยงานที่รับกำจัดและการบำบัดของเสียอันตรายมีน้อย และบางแห่งมีการดำเนินการด้วยวิธีที่ไม่ถูกต้อง มีการลักลอบเอาของเสียไปทิ้งตามที่สาธารณะและชุมชนต่างๆ ไม่มีการคัดแยกขยะของเสียอันตรายออกจากขยะอื่นๆ เจ้าหน้าที่ นักวิชาการ บุคลากรที่ใช้สารเคมีและประชาชนทั่วไปยังขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการกำจัดกากของเสียอันตรายและขาดความตระหนักถึงอันตรายที่มีต่อสิ่งแวดล้อมและผลกระทบต่อสุขภาพทั้งของตนและของชุมชน นอกจากนี้ยังขาดมาตรการในภาครัฐทั้งส่วนกลางและส่วนท้องถิ่นในการกำจัดของเสียอย่างเป็นระบบ รวมทั้งไม่มีระบบตรวจสอบติดตามคุณภาพของโรงงานหรือหน่วยงานที่รับกำจัดของเสียอันตราย ขาดระบบกลไกทางกฎหมายที่ชัดเจน ไม่มีการดำเนินการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ (HIA) จากขยะอันตรายอย่างเป็นรูปธรรม และขาดการร่วมมือร่วมใจของเครือข่ายในพื้นที่ต่างๆ ในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว

ความหมาย

ความหมายของคำว่า “ขยะ” นั้นมีหลายความหมาย ตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานฉบับ พ.ศ. 2525 ได้บัญญัติไว้ว่า “ขยะ หมายถึง หยากเยื่อ มูลฝอย” ความหมายตามพระราชบัญญัติการสาธารณสุข พ.ศ. 2535 ได้บัญญัติว่า “มูลฝอย หมายถึง สิ่งต่างๆที่เราไม่ต้องการ ที่เป็นของแข็งหรืออ่อน มีความชื้น ได้แก่ เศษกระดาษ เศษผ้า เศษอาหาร เศษมูลสัตว์ หรือซากสัตว์ รวมตลอดถึงวัตถุอื่น สิ่งใดที่เก็บกวาดได้จาก ถนน ตลาด ที่เลี้ยงสัตว์หรือที่อื่น” ส่วนความหมายตามพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535 ได้บัญญัติไว้ว่า “ของเสีย หมายความว่า ขยะมูลฝอย สิ่งปฏิกูล น้ำเสีย อากาศเสีย มลสารหรือวัตถุอันตรายสิ่งใด ซึ่งถูกปล่อยทิ้งหรือมีที่มาจากแหล่งกำเนิดมลพิษ รวมทั้งกากตะกอนหรือสิ่งตกค้างจากสิ่งเหล่านั้น ที่อยู่ในสภาพของแข็งของเหลวหรือก๊าซ อย่างไรก็ตามขยะอุตสาหกรรมนั้นมักนิยมเรียกกันว่า “กากของเสียอันตราย” ซึ่งกรมควบคุมมลพิษได้ให้ความหมาย “ของเสียอันตราย(Hazardous Waste)” ไว้ว่า หมายถึง ของเสียที่มีองค์ประกอบหรือปนเปื้อนหรือมีลักษณะที่เป็นอันตราย ได้แก่ ระเบิดได้ ไวไฟ ก่อให้เกิดปฏิกิริยารุนแรง(ออกซิไดซ์และเปอร์ออกซิไดซ์) มีพิษ ก่อให้เกิดโรค กัมมันตรังสี ก่อให้เกิดความเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมกัดกร่อน ก่อให้เกิดการระคายเคือง และอันตรายอย่างอื่นไม่ว่าจะเป็นเคมีภัณฑ์ หรือสิ่งอื่นใดที่อาจทำให้เกิดอันตรายแก่บุคคล สัตว์ พืช ทรัพย์สิน หรือสิ่งแวดล้อม

สถานการณ์ปัญหาขยะอุตสาหกรรม

ในประเทศไทยนั้นได้มีการพัฒนาประเทศทางด้านอุตสาหกรรมและเกษตรกรรมเชิงอุตสาหกรรมอย่างครบวงจร ทั้งการผลิต การขนส่ง และการจำหน่ายทั้งในประเทศและต่างประเทศ จากข้อมูลการสำรวจสำมะโนอุตสาหกรรมของสำนักงานสถิติแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2550 พบว่า มีจำนวนสถานประกอบการในประเทศทั้งสิ้นประมาณ 2.2 ล้านแห่ง ในจำนวนนี้เป็นสถานประกอบการที่ตั้งอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมากที่สุด คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 30.3 ของจำนวนสถานประกอบการทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ ในสัดส่วนร้อยละ 18.2, 15.5 และ 14.5 ตามลำดับ ส่วนกรุงเทพมหานครและปริมณฑลนั้นมีจำนวนสถานประกอบการอุตสาหกรรมร้อยละ 13.5 และ 8.0 ตามลำดับ และในประเทศไทยยังมีนิคมอุตสาหกรรมทั้งสิ้น 37 แห่ง ในเขตจังหวัดกรุงเทพมหานคร สมุทรปราการ สระบุรี พระนครศรีอยุธยา สมุทรสาคร ราชบุรี ฉะเชิงเทรา ชลบุรี ระยอง พิจิตร ขอนแก่น ลำพูน และสงขลา ซึ่งพบว่ามี การนำเข้าสู่สารเคมีและการใช้สารเคมีในอุตสาหกรรมต่างๆอย่างแพร่หลายในทุกพื้นที่ของประเทศ

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนนิคมอุตสาหกรรมในประเทศไทย จำแนกตามรายจังหวัด

จังหวัด	ชื่อนิคมอุตสาหกรรม
กรุงเทพมหานคร	นิคมอุตสาหกรรมบางชัน นิคมอุตสาหกรรมลาดกระบัง นิคมอุตสาหกรรมอัญธานี
สมุทรปราการ	นิคมอุตสาหกรรมบางปู
พระนครศรีอยุธยา	นิคมอุตสาหกรรมบางหว้า (ไฮเทค) นิคมอุตสาหกรรมบางปะอิน นิคมอุตสาหกรรมสรรคนคร
สมุทรสาคร	นิคมอุตสาหกรรมสมุทรสาคร นิคมอุตสาหกรรมคีนสาคร นิคมอุตสาหกรรมมหาสารนคร
ราชบุรี	นิคมอุตสาหกรรมราชบุรี นิคมอุตสาหกรรมวี อาร์ เอ็ม
สระบุรี	นิคมอุตสาหกรรมแก่งคอย นิคมอุตสาหกรรมหนองแค
ชลบุรี	นิคมอุตสาหกรรมชลบุรี (บ่อวิน) นิคมอุตสาหกรรมปิ่นทอง(แหลมฉบัง) นิคมอุตสาหกรรมแหลมฉบัง นิคมอุตสาหกรรมอมตะนคร นิคมอุตสาหกรรมปิ่นทอง นิคมอุตสาหกรรมพานทองเกษม
	นิคมอุตสาหกรรมอมตะนคร นิคมอุตสาหกรรมปิ่นทอง
ฉะเชิงเทรา	นิคมอุตสาหกรรมเกตเวย์ นิคมอุตสาหกรรมเวลโกรว์ นิคมอุตสาหกรรม ที เอฟ ดี
ระยอง	นิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุด นิคมอุตสาหกรรมเหมราชตะวันออกมาบตาพุด นิคมอุตสาหกรรมอีสเทิร์นซีบอร์ด นิคมอุตสาหกรรมอมตะซิตี้ นิคมอุตสาหกรรมผาแดง นิคมอุตสาหกรรมอาร์ไอแอล นิคมอุตสาหกรรมเอเชีย
พิจิตร	นิคมอุตสาหกรรมพิจิตร
ลำพูน	นิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือ
ขอนแก่น	นิคมอุตสาหกรรมขอนแก่น
ประจวบคีรีขันธ์	นิคมอุตสาหกรรมเหล็กบางสะพาน
สงขลา	นิคมอุตสาหกรรมภาคใต้ (ฉลุง)

ในประเทศไทยนั้นมีการผลิตและนำเข้าสารเคมีเพิ่มขึ้นทุกปี จากข้อมูลของสำนักเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กระทรวงพาณิชย์ร่วมกับกรมศุลกากร พบว่า ปีพ.ศ. 2548 นั้นมีการนำเข้าสินค้าประเภทเชื้อเพลิงสูงสุด 322,037 ล้านบาท รองลงมาเป็นสารเคมีประเภทอื่น ได้แก่ ปุ๋ย สารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์เคมีภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์ทางเวชกรรมและเภสัชกรรม อาวุธ ยุทโธปกรณ์ คดีเป็นมูลค่า 136.707 ล้านบาทจากข้อมูลของกรมศุลกากรรายงานในช่วง 10 ปี ในปีพ.ศ.2551 นั้นมีการนำเข้าจากต่างประเทศประมาณ 5.35 ล้านตัน การผลิตในประเทศ ประมาณ 24.05 ล้านตัน สารเคมีที่นำเข้ามาในประเทศนั้นเป็นสารเคมีในกลุ่มสารอินทรีย์ 2.05 ล้านตัน กลุ่มสารอนินทรีย์ 3.30 ล้านตัน ในจำนวนสารเคมีที่นำเข้าประเทศนี้มีทั้งหมด 1,151 รายการ ในจำนวนนี้เป็นสารเคมีที่จัดเป็นวัตถุอันตรายตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535

จำนวน 211 รายการ มีสารเคมีที่ผลิตในประเทศ 24.05 ล้านตัน โดยเป็นวัตถุอันตรายที่มีการขออนุญาตนำเข้าที่ อยู่ในความรับผิดชอบของกรมโรงงานอุตสาหกรรม 117 รายการ กรมวิชาการเกษตร 48 รายการ สำนักงาน คณะกรรมการอาหารและยา 9 รายการ กรมประมง 4 รายการ สำนักงานปราชญ์เพื่อสันติ 3 รายการ และเป็น สารเคมีที่อยู่ในความรับผิดชอบของสองหน่วยงานขึ้นไป จำนวน 30 รายการ

สารเคมีที่มีการผลิตและนำเข้าเพื่อนำมาใช้ในประเทศเหล่านี้พบว่า เมื่อใช้ในกิจการต่างๆแล้วกลายเป็น ขยะอุตสาหกรรมจำนวนมาก ซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพ จากข้อมูลสถานการณ์คุณภาพ สิ่งแวดล้อม ปี พ.ศ. 2551 ของกรมควบคุมมลพิษ พบว่า มีปริมาณของเสียอันตรายในประเทศไทยจำนวน 3.13 ล้านตัน ซึ่งเป็นปริมาณที่เพิ่มจากปี พ.ศ. 2550 คิดเป็นร้อยละ 70 โดยจำแนกเป็นของเสียอันตรายจากชุมชน 0.68 ล้านตัน และจากอุตสาหกรรม 2.45 ล้านตัน ปริมาณร้อยละ 70 ของของเสียเกิดขึ้นในบริเวณ กรุงเทพมหานครและปริมณฑล และภาคตะวันออก โดยพบว่าปริมาณของเสียอันตรายจากอุตสาหกรรมที่ เกิดขึ้นนั้นเป็นของเสียอันตรายจากนิคมอุตสาหกรรม 1.41 ล้านตัน และของเสียอันตรายนอกนิคม อุตสาหกรรม 1.04 ล้านตัน ซึ่งของเสียอันตรายจากอุตสาหกรรมนี้เกิดขึ้นในภาคตะวันออกมากที่สุด(ร้อยละ 62) รองลงมาคือกรุงเทพมหานครและปริมณฑล (ร้อยละ 20) ซึ่งกรมโรงงานอุตสาหกรรมได้รายงานว่ จำนวนกากของเสียจากอุตสาหกรรมเหล่านี้ เมื่อแบ่งเป็นประเภทพบว่า ส่วนใหญ่แล้วเป็นตะกอนโลหะหนัก และของแข็งของสารอนินทรีย์ 840,569.89 ตัน/ปี กรด-ด่างที่มีโลหะหนักเจือปนและของเหลวอนินทรีย์ จำนวน 124,597.66 ตัน/ปี กากน้ำมัน 186,848.33 ตัน/ปี กากและของเสียอินทรีย์อื่นๆ 92,591.34 ตัน/ปี ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2544 JICA ได้ทำการศึกษาพบว่าในจำนวนกากของเสียที่มีการนำกลับไปใช้ประโยชน์ ใหม่ประมาณ 18.2 ตัน/ปี ของเสียอันตรายจากกิจการอุตสาหกรรมนี้ส่วนใหญ่จะถูกรวบรวมไว้ในโรงงาน (ร้อยละ 56.3) ส่วนที่เหลือร้อยละ 43.7 ถูกส่งไปกำจัดภายนอกโรงงาน ส่วนกรณีของสารเคมีที่ใช้ทาง การเกษตรนั้นไม่มีรายงานว่ภายหลังการใช้ในกิจกรรมการเกษตรแล้วมีการกำจัดอย่างไร อย่างไรก็ตาม สารเคมีจากขยะอุตสาหกรรมนั้นสามารถตกค้างในสิ่งแวดล้อมแล้วเข้าสู่ร่างกายมนุษย์ตามวงจรของห่วงโซ่ อาหารและมีผลกระทบต่อสุขภาพได้ซึ่งสามารถจำแนกขยะอุตสาหกรรมที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้ดังนี้

1. โลหะหนักจากขยะประเภทเบตเตอรี อุปกรณ์อิเล็กทรอนิกส์และการสื่อสารเช่น มือถือ และคอมพิวเตอร์ ได้แก่ ตะกั่ว แคดเมียม นิกเกิล ปรอท แมงกานีส เป็นต้น
2. แร่โลหะหนักจากการทำเหมืองแร่ เช่น ตะกั่ว สารหนู แคดเมียม ปรอท และสังกะสี
3. สารทำลายอินทรีย์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ
4. สารเคมีทางการเกษตร ได้แก่ ปุ๋ยและสารเคมีกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารเคมีกำจัด ศัตรูพืชและสัตว์ ประเภทที่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งแวดล้อมได้ยาวนาน ได้แก่ DDT, Endosulfan, Dieldrin, Aldrin เป็นต้น รวมทั้งสารเคมีประเภทออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต สารกำจัดวัชพืช เช่น พาราควอต ไกลโฟเสท เป็นต้น

5. สารกัมมันตรังสี ซึ่งขณะอุตสาหกรรมนี้มีปัญหาต่อสุขภาพได้หลายประการ ได้แก่

1. เกิดปัญหาพิษของสารเคมี ได้แก่ พิษของสารโลหะหนัก พิษของสารเคมีกำจัดศัตรูพืช และสัตว์พิษของสารทำลายอินทรีย์ พิษของสารรังสี และพิษของสารเคมีประเภทเชื้อ/ละอองฝุ่น/เส้นใย ซึ่งพิษของสารเคมีนี้อาจมีผลทำให้เกิดพิษแบบเฉียบพลัน โดยทำให้เกิดการระคายเคืองและพิษแบบเรื้อรังโดยอาจทำลายผิวหนัง ระบบเลือด ระบบสมอง ตับ ไต กล้ามเนื้อ ทำให้เกิดมะเร็ง มีผลทางพันธุกรรมและอาจทำให้เด็กพิการแต่กำเนิดได้
2. เกิดปัญหาการระเบิดและการรั่วไหลของสารเคมีอันตรายที่มีคุณสมบัติระเบิดและเกิดเพลิงไหม้ได้ เช่น สารเคมีประเภททำลายอินทรีย์ กรดและด่าง เป็นต้น

ผลกระทบต่อสุขภาพ

จากข้อมูลของสำนักนโยบายและยุทธศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขปี พ.ศ. 2550 พบว่า ในประเทศไทย นั้นมีอัตราตายจำแนกตามสาเหตุที่สำคัญในปี พ.ศ. 2550 ด้วยโรคมะเร็งและเนื้องอกทุกชนิดสูงเป็นอันดับหนึ่ง และข้อมูลของผู้ป่วยนอกด้วยโรคเนื้องอก(รวมมะเร็ง) ทั่วประเทศพบว่า มีอัตรา 14.78 ต่อประชากรพันคน ในปี พ.ศ. 2551 สำนักระบาดวิทยาได้รายงานว่ามีผู้ได้รับสารอันตรายทางอุตสาหกรรม 226 ราย โดยจำแนกเป็น พิษจากสารปิโตรเลียม 121 ราย พิษจากแก๊สและไอระเหย 43 รายและพิษจากโลหะหนัก 62 ราย จากสถิติของกรมควบคุมมลพิษพบว่า มีอุบัติเหตุจากสารเคมี (รวมถึงการลักลอบทิ้งสารเคมี) จำนวน 44 ครั้ง โดยเป็นสาเหตุจากการลักลอบทิ้งสารเคมีมากที่สุด (18 ครั้ง) รongลงมาได้แก่ เหตุเกิดในโรงงานอุตสาหกรรมและ โกดังเก็บสารเคมี 13 ครั้ง การขนส่งสารเคมี 10 ครั้ง และกรณีอื่นๆอีก 3 ครั้ง โดยเป็นเหตุจากสถานที่ฝังกลบขยะ พื้นที่ดำเนินการก่อสร้าง และ สถานประกอบการกิจการที่ไม่ใช่โรงงานอุตสาหกรรม จากอุบัติเหตุสารเคมีที่เกิดขึ้นทำให้มีผู้เสียชีวิต 4 ราย บาดเจ็บ 254 ราย พื้นที่ที่เกิดเหตุบ่อยครั้งที่สุดได้แก่ กรุงเทพมหานครและปริมณฑล ระยอง ชลบุรีและกาญจนบุรี ตามลำดับ

การจัดการและไขปัญหาขยะอุตสาหกรรมประเภทของเสียอันตราย

การกำจัดขยะอุตสาหกรรมในปัจจุบันนี้มีการกำจัดอยู่วิธีได้แก่การฝังกลบการเผาทำลายในเตาเผาปูนซีเมนต์และเตาเผาของเสียอันตรายการคัดแยกและเก็บรวบรวมโรงงาน การรีไซเคิลในประเทศ และการส่งออกไปรีไซเคิลที่ต่างประเทศ นอกจากนี้ยังมีวิธีอื่นๆไม่ระบุวิธีการจัดการ ปัจจุบันขยะอุตสาหกรรมที่เป็นกากของเสียอันตรายนั้นไม่เพียงแต่เป็นปัญหาในประเทศไทยเท่านั้น แต่กำลังเป็นปัญหาระดับสากล เนื่องจากปริมาณขยะนั้นมีเพิ่มขึ้นทุกปีจากการเพิ่มจำนวนประชากร การขยายตัวทางเศรษฐกิจและทางอุตสาหกรรม จึงเป็นปัญหาสังคมที่สำคัญที่ประชาชนทุกคนต้องร่วมมือกันจัดการและแก้ไข ในประเทศไทยนั้น ได้กำหนดให้กระทรวงอุตสาหกรรมโดยกรมโรงงานอุตสาหกรรม การนิคมอุตสาหกรรมแห่งประเทศไทย และสำนักงานอุตสาหกรรมจังหวัด เป็นหน่วยงานกำกับดูแลการดำเนินงานจัดการกากของเสียอันตราย

ที่เกิดจากการประกอบกิจการอุตสาหกรรมทั่วประเทศ ส่วนกากของเสียอันตรายที่เป็นสารกัมมันตรังสีนั้น กำหนดให้ สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติเป็นผู้กำกับดูแล ส่วนขยะมูลฝอยติดเชื้อนั้นกำหนดให้กระทรวงสาธารณสุขเป็นผู้กำกับดูแล อย่างไรก็ตามในพื้นที่ต่างๆในประเทศนั้นหน่วยงานต่างๆที่กล่าวมานี้ยังมีการประสานความร่วมมือกับองค์การบริหารส่วนท้องถิ่นในการจัดการขยะและกากของเสียอันตราย ในระดับชาติ และระดับสากลนั้น ประเทศไทยได้มีการดำเนินการตามพันธกรณีอนุสัญญาบาเซลว่าด้วยการเคลื่อนย้ายข้ามแดนของของเสียอันตรายการกำจัด การดำเนินการตามพันธกรณีอนุสัญญาสต็อกโฮล์มว่าด้วยสารมลพิษตกค้างยาวนาน (POPs) โดยกรมควบคุมมลพิษเป็นศูนย์ประสานงานตามพันธกรณีในประเทศไทย นอกจากนี้ยังมีการดำเนินการตามข้อเสนอขององค์การอนามัยโลก(WHO) ซึ่งมีกระทรวงสาธารณสุขเป็นศูนย์ประสานงานในประเทศไทยอีกด้วย โดยการประชุมสมัชชาอนามัย สมัยที่ 63 ปีพ.ศ. 2553 (World Health Assembly 63rd: WHA 63) เมื่อเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2553 ณ นครเจนีวา ประเทศมาพันธรัฐสวิส ได้มีการบรรจุหัวข้อ “Hazardous Waste” ในวาระการประชุมเรื่อง “11.18 Strategic Approach to International Chemicals Management” โดยผู้แทนประเทศไทย(จากกระทรวงสาธารณสุข) ได้เสนอทำให้ให้สมัชชาอนามัยโลกมีการจัดการสารเคมี ซึ่งองค์การอนามัยโลกมีมติสนับสนุนการลดตะกั่วในสี การตระหนักถึงภัยสุขภาพของนาโนเทคโนโลยีและวัสดุนาโน การตระหนักถึงอันตรายของสารโลหะหนักในขยะอิเล็กทรอนิกส์ สารทำลายอินทรีย์ และแอสเบสตอส(แร่ใยหิน) โดยมีการนำการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพเป็นเครื่องมือสำคัญในการดูแลสุขภาพ และบรรจุข้อความ “ to apply the Health Assessment (HIA) as one of the key tools to assess the health aspects of waste management in order to make safe and environmentally sound and to explore...” ไว้ในเอกสารขององค์การอนามัยโลกอีกด้วย

ปัญหาการจัดการขยะอุตสาหกรรมในปัจจุบัน

ปัญหาขยะอุตสาหกรรมโดยเฉพาะกากของเสียอันตรายนั้นพบว่ามีปัญหาเนื่องจากจำนวนโรงงานหรือหน่วยงานที่รับกำจัดและการบำบัดของเสียอันตรายมีน้อย และบางแห่งมีการดำเนินการด้วยวิธีที่ไม่ถูกต้อง มีการลักลอบเอาของเสียไปทิ้งตามที่สาธารณะและชุมชนต่างๆ ไม่มีการคัดแยกขยะของเสียอันตรายออกจากขยะอื่นๆ เจ้าหน้าที่ นักวิชาการ บุคลากรที่ใช้สารเคมีและประชาชนทั่วไปยังขาดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการกำจัดกากของเสียอันตรายและขาดความตระหนักถึงอันตรายที่มีต่อสิ่งแวดล้อมและผลกระทบต่อสุขภาพทั้งของตนเองและของชุมชน นอกจากนี้ยังขาดมาตรการในภาครัฐทั้งส่วนกลางและส่วนท้องถิ่นในการกำจัดของเสียอย่างเป็นระบบ รวมทั้งไม่มีระบบตรวจสอบติดตามคุณภาพของโรงงานหรือหน่วยงานที่รับกำจัดของเสียอันตราย ขาดระบบกลไกทางกฎหมายที่ชัดเจน ไม่มีการดำเนินการประเมินผลกระทบต่อสุขภาพ(HIA)จากขยะอันตรายอย่างเป็นทางการ และขาดการร่วมมือร่วมใจของเครือข่ายในพื้นที่ต่างๆในการแก้ไขปัญหาดังกล่าว

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมมลพิษ, รายงานสถานการณ์มลพิษของประเทศไทย,กรมควบคุมมลพิษ,กรุงเทพฯ,2551
2. นลินี ศรีพวง สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม, สถานการณ์การเฝ้าระวัง ป้องกันควบคุมโรค และภัยสุขภาพในอาชีวนามัยภาคอุตสาหกรรม, รายงานสถานการณ์การเฝ้าระวัง

สถานการณ์การจัดการมูลฝอยของกรุงเทพมหานคร

คุณสุวรรณ จุ่งรุ่งเรือง

ผู้อำนวยการนโยบายและแผนงาน สำนักสิ่งแวดล้อม กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

ข้อมูลทั่วไป

กรุงเทพมหานครมีหน้าที่ในการจัดการมูลฝอยที่เกิดขึ้นประมาณ 8,700 ตัน/วัน โดยใช้งบประมาณในการบริหารจัดการมากกว่า 4,000 ล้านบาท/ปี โดยมีองค์ประกอบของเศษอาหารประมาณร้อยละ 50 ซึ่งมีการนำไปใช้ประโยชน์ค่อนข้างน้อย นอกจากนี้ยังมีปริมาณมูลฝอยที่สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ถูกส่งไปกำจัดอีกประมาณ ร้อยละ 10 กรุงเทพมหานครจึงตั้งเป้าหมายลดปริมาณมูลฝอยร้อยละ 10 ต่อปี ตั้งแต่ปี 2548 – 2551 และกำหนดให้นำมูลฝอยมาใช้ประโยชน์ร้อยละ 15 ในปี 2555 และเพิ่มเป็นร้อยละ 30 ในปี 2563 ดังนั้นเพื่อดำเนินภารกิจให้บรรลุเป้าหมาย กรุงเทพมหานครได้ดำเนินงานเกี่ยวกับการลดและคัดแยกมูลฝอย เพื่อส่งเสริมให้ประชาชนคัดแยกวัสดุที่ยังใช้ประโยชน์ได้ หมุนเวียนกลับมาใช้ประโยชน์ให้มากที่สุด โดยใช้แนวคิดต่างๆ ดังนี้

1.1 หลักการ 3Rs ประกอบด้วย Reduce (ใช้น้อย) Reuse (ใช้ซ้ำ) และ Recycle (การนำกลับมาใช้ใหม่)

1.2 แนวคิดของเสียเหลือศูนย์ ภายใต้หลักการ “ขยะมีมูลค่าทางเศรษฐกิจสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้” โดยการทำให้ขยะเหลือน้อยที่สุดและกำจัดส่วนที่เหลือด้วยเทคโนโลยีที่มีประสิทธิภาพ ซึ่งมีตัวอย่างความสำเร็จที่โรงเรียนรุ่งอรุณ

1.3 การจัดการมูลฝอยโดยชุมชน เป็นแนวทางการจัดการมูลฝอย โดยให้ทุกภาคส่วนในชุมชนร่วมคิดร่วมตัดสินใจ เลือกลงแนวทางจัดการมูลฝอยของชุมชน ได้แก่

- โครงการลดและคัดแยกมูลฝอยโดยการมีส่วนร่วมของประชาชน ดำเนินการนำร่องใน 12 ชุมชน
- โครงการจัดการของเสียเหลือศูนย์ในโรงเรียนจิตรลดา
- โครงการร่วมใจแยกกระดาษ ลดภาวะโลกร้อน
- โครงการส่งเสริมการแปรรูปขยะเศษอาหาร
- โครงการทรัพย์ทวี – บุญทวีรีไซเคิล
- โครงการส่งเสริมการใช้ถังหมักก๊าซชีวภาพในโรงเรียนสังกัดกรุงเทพมหานคร

สถานการณ์การเก็บขนมูลฝอย

กรุงเทพมหานครมีปริมาณมูลฝอยชุมชนที่จัดเก็บได้เฉลี่ย 8,700 ตัน/วัน หรือไม่น้อยกว่า 3 ล้านตัน/ปี หรือคิดเป็นร้อยละ 22 ของปริมาณมูลฝอยทั้งประเทศ ซึ่งในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2535-2540 อัตราการเพิ่มของมูลฝอยที่เก็บขนได้เฉลี่ยสูงถึงร้อยละ 10 ต่อปี และลดลงในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2541-2550 ในอัตราร้อยละ

1.52 ต่อปี ทั้งนี้ เนื่องจากกรุงเทพมหานคร ได้มีการรณรงค์ประชาสัมพันธ์ให้ประชาชนลดและคัดแยกมูลฝอย ณ แหล่งกำเนิด อย่างไรก็ตาม จากการคาดการณ์ของ ธนาคารเพื่อความร่วมมือระหว่างประเทศแห่งญี่ปุ่น (JBIC) คาดว่า ในปี พ.ศ. 2558 จะมีปริมาณมูลฝอยเกิดขึ้นเฉลี่ย 13,835 ตัน/วัน ซึ่งกรุงเทพมหานคร ได้ให้บริการเก็บขนมูลฝอยที่เกิดขึ้นครอบคลุมพื้นที่ทั้ง 50 เขต

สถานการณ์การกำจัดมูลฝอย

มูลฝอยทั่วไปที่เก็บขนได้ กรุงเทพมหานคร นำมากำจัดด้วยวิธีการฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ (Sanitary Landfill) เป็นวิธีการหลัก คิดเป็นร้อยละ 89 ของปริมาณมูลฝอยทั้งหมด ส่วนมูลฝอยที่เหลือบำบัดด้วยเทคโนโลยีการหมักทำปุ๋ย (Composting) ขยะมูลฝอยที่รวบรวมได้จะถูกขนส่งไปยังสถานีขนถ่ายมูลฝอย 3 แห่ง คือ อ่อนนุช หนองแขม และสายไหม จากนั้นจะถูกขนถ่ายไปฝังกลบที่ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม และ อ.พนมสารคาม จ.ฉะเชิงเทรา แม้ว่ามูลฝอยของกรุงเทพมหานคร จะได้รับการบำบัดและกำจัดอย่างต่อเนื่อง แต่ปริมาณมูลฝอยยังคงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามการพัฒนาเศรษฐกิจ รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของจำนวนประชากร อีกทั้งปัญหาสถานที่ฝังกลบมูลฝอย ซึ่งประชาชนต่อต้านมากขึ้น ทำให้ในอนาคตจะเกิดข้อจำกัดในการหาสถานที่ฝังกลบมูลฝอย ดังนั้น มูลฝอยจึงนับเป็นปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมที่สำคัญที่ต้องได้รับการแก้ไข

การดำเนินการกำจัดมูลฝอยในปัจจุบันของกรุงเทพมหานครมีกระบวนการหลักในการดำเนินการ ดังนี้

- มูลฝอยทั่วไป

1. ศูนย์กำจัดมูลฝอยอ่อนนุช มีวิธีกำจัด 2 วิธี คือ

- การฝังกลบ (Landfill)

- มูลฝอยที่ขนส่งมายังสถานีขนถ่ายมูลฝอย จะถูกอัดและห่อด้วยพลาสติก (Wrapping) แล้วขนไปฝังกลบ อย่างถูกสุขลักษณะที่อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา

- การหมักทำปุ๋ย (Composting)

- มูลฝอยจะถูกนำมาผ่านกระบวนการหมักทำปุ๋ย (Composting) ได้ผลผลิตเป็นปุ๋ยอินทรีย์ เชื้อเพลิงแข็ง และนำกากมูลฝอยไปฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ ที่อำเภอพนมสารคาม จังหวัดฉะเชิงเทรา

2. ศูนย์กำจัดมูลฝอยหนองแขม มีวิธีกำจัดวิธีเดียว คือ การฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ โดยดำเนินการขนจากสถานีขนถ่ายไปฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ ที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

3. ศูนย์กำจัดมูลฝอยสายไหม มีวิธีกำจัดวิธีเดียว คือ การฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ โดยดำเนินการขนจากสถานีขนถ่ายไปฝังกลบอย่างถูกสุขลักษณะ ที่อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

ทั้งนี้ ในเงื่อนไขสัญญาจ้างเหมาเอกชนขนมูลฝอยทั่วไป ไปฝังกลบในที่ดินเอกชนทั้ง 3 สัญญา กำหนดระยะเวลาการสิ้นสุดสัญญาเป็น 2 กรณี คือ

กรณีที่ 1 มีการดำเนินงานครบกำหนดระยะเวลาสัญญา 10 ปี (พ.ศ. 2548 – 2558)

กรณีที่ 2 สัญญาสิ้นสุดเมื่อวงเงินจ้างเหมาตามโครงการหมดลง

- มูลฝอยติดเชื้อ ปัจจุบันมีมูลฝอยติดเชื้อที่เก็บขนได้เฉลี่ย 18-19 ตัน/วัน ซึ่งกรุงเทพมหานครได้จ้างเหมาให้บริษัท กรุงเทพธนาคม จำกัด เป็นผู้ให้บริการเก็บขน และกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยวิธีการเผาในเตาเผาขนาด 30ตัน/วัน

- มูลฝอยอันตรายจากบ้านเรือน กรุงเทพมหานครได้รณรงค์ให้ประชาชนคัดแยกมูลฝอยอันตรายออกจากมูลฝอยทั่วไป โดยจัดเก็บได้เฉลี่ย 141.58 กก./วัน และรวบรวมไว้ที่สถานเก็บกักชั่วคราว ณ ศูนย์กำจัดมูลฝอยอ่อนนุช หนองแขมและสายไหม เพื่อรวบรวมให้มีปริมาณมากพอ แล้วจ้างเหมาให้ บริษัทที่ได้รับอนุญาตจากกรมโรงงานอุตสาหกรรมดำเนินการต่อไป

แนวทางการกำจัดมูลฝอยของกรุงเทพมหานคร

กรุงเทพมหานครอยู่ระหว่างจัดทำ แผนแม่บทการกำจัดมูลฝอยของกรุงเทพมหานคร ซึ่งการพิจารณาสัดส่วนเทคโนโลยีจะคำนึงถึงองค์ประกอบมูลฝอยเป็นหลัก โดยเฉพาะการใช้เทคโนโลยีชีวภาพจำเป็นต้องบรรลุผลสำเร็จในการคัดแยกมูลฝอยอินทรีย์ออกจากมูลฝอยทั่วไป ภายใต้กรอบแนวคิดการกำจัดมูลฝอยในพื้นที่กรุงเทพมหานครให้ได้มากที่สุด โดยใช้วิธีการกำจัดที่มีประสิทธิภาพ ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เป็นที่ยอมรับของประชาชน มีการนำทรัพยากรมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด และมีรูปแบบบริการที่กรุงเทพมหานครสามารถดำเนินการได้อย่างเกิดประสิทธิภาพสูงสุด ซึ่งแผนแม่บทเสนอใช้เทคโนโลยีการกำจัดมูลฝอยทั่วไปแบ่งเป็น ระยะสั้น ระยะกลาง และระยะยาว ดังนี้

- | | |
|----------|--|
| ระยะสั้น | เพิ่มขีดความสามารถในการลดและแยกมูลฝอยที่ต้นทาง ควบคู่กับการใช้เทคโนโลยีทางความร้อนและเทคโนโลยีการฝังกลบมูลฝอยเป็นหลัก โดยพัฒนาการใช้เทคโนโลยีชีวภาพเป็นโครงการนำร่องในระหว่างการเปลี่ยนถ่ายเทคโนโลยี |
| ระยะกลาง | ยังคงเพิ่มศักยภาพในการลดและแยกมูลฝอยที่ต้นทาง และเพิ่มขีดความสามารถในการกำจัดมูลฝอยด้วยเทคโนโลยีชีวภาพควบคู่กับการใช้เทคโนโลยีทางความร้อนและยังคงสัดส่วนเทคโนโลยีการฝังกลบมูลฝอยรวมทั้งจัดทำโครงการนำร่องเทคโนโลยีการผลิตเชื้อเพลิงแข็ง (RDF) |
| ระยะยาว | เมื่อการลดและแยกมูลฝอยที่ต้นทางประสบความสำเร็จ จะมุ่งเน้นการใช้เทคโนโลยีชีวภาพเป็นหลักร่วมกับการใช้เทคโนโลยีทางความร้อนและเทคโนโลยีการผลิตเชื้อเพลิงแข็ง (RDF) บางส่วน และลดการกำจัดมูลฝอยด้วยวิธีฝังกลบให้เหลือร้อยละ 27 ของปริมาณมูลฝอยที่กำจัดทั้งหมด |

การจัดการมูลฝอยติดเชื้อประเทศไทย อดีต.....ปัจจุบัน.....สู่อนาคต

คุณพิมพ์พรรณ จันทร์แก้ว

บทคัดย่อ

ปี พ.ศ. 2533 กระทรวงสาธารณสุขมีนโยบายให้โรงพยาบาลขนาดใหญ่ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขมีเตาเผาสำหรับการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อที่เกิดจากโรงพยาบาลขนาดใหญ่ในสังกัดกระทรวงสาธารณสุขมีเตาเผาสำหรับกำจัดมูลฝอยติดเชื้อครบถ้วนทุกแห่งภายในปี พ.ศ. 2535 ดังนั้นเมื่อสิ้นปี พ.ศ. 2535 ทำให้การกำจัดมูลฝอยติดเชื้อได้ครอบคลุมจำนวนเตียงที่เป็นแหล่งกำเนิดมูลฝอยคิดเป็น 70% ของจำนวนเตียงที่มีอยู่ในโรงพยาบาลสังกัดกระทรวงสาธารณสุขทั้งหมดประมาณ 70,000 เตียง โดยเป็นเตาเผาแบบหลายห้องเผาประสิทธิภาพการเผา 25 กก./ชม. 50 กก./ชม. และ 100 กก./ชม.

แผนพัฒนาการสาธารณสุขฉบับที่ 7 (พ.ศ. 2535 – 2539) กระทรวงสาธารณสุข จัดสรรงบประมาณก่อสร้างเตาเผามูลฝอยติดเชื้อ ในโรงพยาบาลชุมชนจนถึงสิ้นปี 2540 สามารถก่อสร้างมูลฝอยติดเชื้อได้ครอบคลุมจำนวนเตียงครบ 100 % พร้อมทั้งติดตั้งระบบควบคุมมลพิษทางอากาศให้แก่ โรงพยาบาลศูนย์สังกัดกระทรวงสาธารณสุข จำนวน 25 แห่ง ได้แก่ 1.เตาเผาโรงพยาบาลนครพิงค์เชียงใหม่ 2. โรงพยาบาลศูนย์ราชบุรี 3. โรงพยาบาลศูนย์อุดรธานี 4. โรงพยาบาลมหาสารคามนครศรีธรรมราช 5. โรงพยาบาลสกลนคร 6. โรงพยาบาลศูนย์นครปฐม 7. โรงพยาบาลศูนย์ลำปาง 8. โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา 9. โรงพยาบาลอินทร์บุรี 10. โรงพยาบาลสิงห์บุรี 11. โรงพยาบาลหนองคาย 12. โรงพยาบาลประจวบคีรีขันธ์ 13. โรงพยาบาลชุมพร 14. โรงพยาบาลมหาสารคาม 15. โรงพยาบาลพะเยา 16. โรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าตากสิน 17. โรงพยาบาลอุทัยธานี 18. โรงพยาบาลอ่างทอง 19. โรงพยาบาลเจ้าพระยาอภัยภูเบศร์ 20. โรงพยาบาลลำพูน 21. โรงพยาบาลพัทลุง 22. โรงพยาบาลนครนายก 23. โรงพยาบาลราชวิถี 24. โรงพยาบาลพระนั่งเกล้า (นนทบุรี) 25. โรงพยาบาลพระยามหาราช (สุพรรณบุรี)

ปี 2545 ประเทศไทยมีการปฏิรูประบบราชการ กระทรวงสาธารณสุขจึงมิได้สนับสนุนการสร้างเตาเผา มูลฝอยติดเชื้อในโรงพยาบาล ประกอบกับแผนพ.ร.บ. ขั้นตอนการกระจายอำนาจ และกฎกระทรวงว่าด้วยการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2545 ให้อำนาจองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นในการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อพร้อมทั้งแก้ไขพระราชบัญญัติการสาธารณสุขในนิยาม คำว่า มูลฝอยให้ครอบคลุมถึงมูลฝอยติดเชื้อ และมูลฝอยที่เป็นพิษหรืออันตรายจากชุมชนด้วย ในปี 2550 และเปลี่ยนจากระบบการกำจัดเป็นระบบการจัดการ

สถานการณ์ปัจจุบันและข้อมูลด้านปริมาณมูลฝอยติดเชื้อ

จากข้อมูลการศึกษาสถานการณ์การจัดการมูลฝอยติดเชื้อในโรงพยาบาลโดยกรมอนามัยคาดการณ์ว่า ในปี 2552 มีปริมาณมูลฝอยติดเชื้อที่เกิดจากสถานพยาบาลทั้งของรัฐและเอกชน มีมูลฝอยติดเชื้อเกิดขึ้นประมาณ วันละ 68 ตัน เป็นมูลฝอยติดเชื้อที่เกิดขึ้นในเขตกรุงเทพมหานคร ประมาณวันละ 20 ตัน ที่เหลือเกิดขึ้นในสถานพยาบาลในส่วนภูมิภาคอีกประมาณ 48 ตัน อัตราการเกิดมูลฝอยติดเชื้อเฉลี่ย 0.4 กิโลกรัมต่อเตียงต่อวัน ปริมาณมูลฝอยติดเชืวดังกล่าวคาดว่าจะมีอัตราเพิ่มขึ้นปีละประมาณร้อยละ 5.5* (*สุคนธ์ เกียรติสกุล และคณะ รายงานการศึกษาวิจัย การจัดการมูลฝอยติดเชื้อ สถานการณ์และระบบการบริหารจัดการที่เหมาะสมสำหรับประเทศไทย)

การจัดการมูลฝอยติดเชื้อในกรุงเทพมหานคร

ข้อมูลการจัดการมูลฝอยติดเชื้อในเขตกรุงเทพมหานครโดยบริษัทกรุงเทพชนาคม พบว่า กรุงเทพมหานครมีสถานบริการการสาธารณสุข ทั้งขนาดใหญ่และขนาดเล็ก 3,674 แห่ง มีปริมาณมูลฝอยติดเชื้อเกิดขึ้นทั้งหมดคิดเป็น วันละ 20 ตัน/วัน หรือ 7,300 ตัน/ปี สามารถเก็บขนได้ร้อยละ 53.24 เผากำจัดได้ร้อยละ 86.93 สถานบริการการสาธารณสุขส่วนใหญ่ส่งมูลฝอยติดเชื้อให้กรุงเทพมหานครเก็บขนไปกำจัด ยกเว้นสถานพยาบาลบางแห่งที่มีเตาเผาและดำเนินการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อด้วยตนเอง ได้แก่ โรงพยาบาลราชวิถีและโรงพยาบาลในเครือข่าย กรุงเทพมหานครได้ดำเนินการเก็บขนมูลฝอยติดเชื้อแยกจากมูลฝอยทั่วไป โดยได้จัดให้มีรถยนต์แบบพิเศษซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิได้ประมาณ 10 องศาเซลเซียส จำนวนทั้งหมด 20 คัน สำหรับเก็บขนมูลฝอยติดเชื้อจากสถานพยาบาลต่างๆ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2531 เพื่อนำไปกำจัดโดยการเผาในเตาเผามูลฝอยติดเชื้อที่โรงงานกำจัดมูลฝอยอ่อนนุช

เตาเผามูลฝอยติดเชื้อของกรุงเทพมหานคร

เตาเผามูลฝอยติดเชื้อตั้งอยู่ในบริเวณ โรงงานกำจัดมูลฝอยอ่อนนุช ขนาดของเตาสามารถกำจัดมูลฝอยติดเชื้อได้ 40 ตันต่อวัน (20 ตัน/วัน/เตา จำนวน 2 เตา) อุณหภูมิประมาณ 760 องศาเซลเซียส ซึ่งได้เริ่มดำเนินการตั้งแต่ พ.ศ.2538 ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการเก็บขนและการกำจัดประมาณ 5 บาท/กิโลกรัม

การจัดการมูลฝอยติดเชื้อในส่วนภูมิภาค

จากข้อมูลสถานการณ์การจัดการมูลฝอยติดเชื้อในโรงพยาบาล ปี 2552 โดยกรมอนามัย พบว่า โรงพยาบาลสังกัดสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพสังกัดกรมอนามัย 832 แห่ง พบว่าโรงพยาบาลศูนย์ โรงพยาบาลทั่วไป โรงพยาบาลชุมชน และโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพ สังกัดกรมอนามัย มีมูลฝอยติดเชื้อเกิดขึ้นทั้งสิ้น 35 ตัน/วัน ส่งมูลฝอยติดเชื้อให้บริษัทเอกชนนำไปกำจัดภายนอกโรงพยาบาล คิดเป็นร้อยละ 60 เผาด้วยเตาเผาในโรงพยาบาล คิดเป็นร้อยละ 29.66 ส่งให้องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นกำจัดคิดเป็นร้อยละ 8.28 การส่งมูลฝอยติดเชื้อออกไปกำจัดภายนอกโรงพยาบาล

สาเหตุเนื่องจากปัญหาการร้องเรียนจากชุมชนรายรอบโรงพยาบาล การส่งมูลฝอยติดเชื้อออกไปกำจัดภายนอกโรงพยาบาลเป็นไปด้วยกลไกราคา ทำให้ปัจจุบันนี้พบว่ามีสถานที่รับกำจัดมูลฝอยติดเชื้อแหล่งใหญ่ของประเทศอยู่ในเขตนิคมอุตสาหกรรมบางปะอินและ บริษัทเอกชน ตั้งอยู่ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งทำการเผากำจัดมูลฝอยติดเชื้อวันละประมาณ 20 ตัน /วัน(แห่งละ 10 ตัน/วัน) นอกนั้นส่งให้องค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นที่มีเตาเผามูลฝอยติดเชื้อ จำนวน 14 แห่ง ซึ่งได้แก่ เทศบาลนครเชียงใหม่ เทศบาลเมืองสุพรรณบุรี เทศบาลนครพิษณุโลก เทศบาลนครนนทบุรี เทศบาลนครภูเก็ต เทศบาลนครหาดใหญ่ เทศบาลเมืองปัตตานี เทศบาลนครยะลา เทศบาลเมืองอุดรธานี เทศบาลนครขอนแก่น เทศบาลตำบลวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี เทศบาลเมืองสมุทรสาคร เมืองพัทยา และกรุงเทพมหานคร

กระทรวงสาธารณสุขได้การออกกฎกระทรวงว่าด้วยการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ พ.ศ. 2545 กำหนดรายละเอียดคำจำกัดความ หลักเกณฑ์ วิธีการเก็บรวบรวม การเคลื่อนย้าย การขนส่ง และการกำจัดมูลฝอยติดเชื้อ รวมทั้งการกำหนดอัตราค่าบริการเก็บขนเพื่อใช้เป็นแนวทางปฏิบัติควบคุมมูลฝอยติดเชื้อสำหรับราชการส่วนท้องถิ่นในการควบคุมดูแลกิจการที่เกี่ยวข้องทั้งที่เป็นสถานบริการสาธารณสุข สถานพยาบาล สถานพยาบาลสัตว์ คลินิก ห้องปฏิบัติการทางชีวภาพหรือทางการแพทย์ทั้งของรัฐและเอกชน ให้เป็นมาตรฐานเดียวกันทั่วประเทศ

สถานการณ์ปัญหาโรคพิษตะกั่วในประเทศไทย

ดร.นพ.สมเกียรติ สิริรัตนพฤษ์

สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค

บทคัดย่อ

ตะกั่วเป็นสาร โลหะหนักที่มีการใช้ในกระบวนการผลิตอย่างหลากหลายในภาคอุตสาหกรรมของประเทศเป็นระยะเวลานานแล้ว อย่างไรก็ตามตะกั่วสามารถก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพทั้งต่อผู้ประกอบการอาชีพเอง และประชาชนที่อาศัยอยู่ในชุมชน โดยผลกระทบที่เกิดขึ้นมีทั้งแบบเฉียบพลันและเรื้อรัง วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาทบทวนสถานการณ์ปัญหาทางสุขภาพที่เกิดจากตะกั่วของประเทศ ทั้งในแง่ที่เกี่ยวกับปัญหาเชิงอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม

วิธีการศึกษา ทำการศึกษาทบทวนข้อมูลสถานการณ์จากรายงานของหน่วยงานต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องและงานวิจัย หรือวรรณกรรมทางวิชาการต่าง ๆ

ผลการศึกษา จากการศึกษาพบว่า ปัจจุบันมีสถานประกอบการทั่วประเทศที่มีความเสี่ยงสูงต่อการรับสัมผัสสารตะกั่วจำนวนประมาณ 222 แห่ง จำนวนคนงานที่เสี่ยงประมาณ 8,904 คน โดยเป็นสถานประกอบการประเภทเกี่ยวกับสีมากที่สุด (130 แห่ง) จากรายงานเบื้องต้นทางระบาดวิทยา ของสำนักระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบว่า ระหว่างปี พ.ศ.2543 – 2552 มีรายงานผู้ป่วยพิษสารตะกั่ว จำนวน 397 ราย เฉลี่ยปีละ 39.7 ราย โดยมีจำนวนผู้ป่วยสูงสุด 104 ราย ในปี พ.ศ.2544 สำหรับข้อมูลรายงานผู้ประสบอันตรายจากการทำงานของสำนักงานกองทุนเงินทดแทน กระทรวงแรงงาน พบมีผู้ป่วยในปี พ.ศ.2552 จำนวน 61 ราย ในส่วนข้อมูลของสำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค พบว่าในปี พ.ศ.2552 จากจำนวนผู้ขอรับการตรวจหาระดับตะกั่วในเลือด 114 ราย มีจำนวนผู้ที่มีระดับตะกั่วตั้งแต่ 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ ขึ้นไปถึง 46% (52 ราย) สำหรับกรณีปัญหาพิษตะกั่วที่เกิดจากมลพิษสิ่งแวดล้อมได้เกิดขึ้นกระจัดกระจายในพื้นที่ต่าง ๆ ส่วนใหญ่มักมีสาเหตุมาจากแหล่งที่มีการทำงาน หรือมีกระบวนการผลิตเกี่ยวข้องกับตะกั่ว กรณีผลกระทบที่สำคัญในระดับประเทศ คือ กรณีตะกั่วปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อม จังหวัดกาญจนบุรี และกรณีการปนเปื้อนสารตะกั่วในอุ้มอ้อมเรือที่จังหวัดปัตตานี

โดยสรุปปัญหาโรคพิษตะกั่วที่เกิดจากทั้งการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม ยังถือเป็นปัญหาที่สำคัญของประเทศ ต้นเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการทำงานและก่อผลให้เกิดการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมตามมารวมด้วย ปัญหาดังกล่าวสมควรที่จะต้องมีการมาตรการในการป้องกันและควบคุมอย่างเร่งด่วน และมีประสิทธิภาพ

ความปลอดภัยการใช้รังสีทางการแพทย์ (รังสีรักษา)

นายแพทย์ชาญชัย จารุณิชย์กุล

นายแพทย์ชำนาญการพิเศษ ด้านเวชสาขารังสี สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

บทคัดย่อ

ปัจจุบันได้มีการนำเอารังสีมาใช้ประโยชน์สุขในการดำรงชีวิตของมนุษย์อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะทางอุตสาหกรรม และทางการแพทย์ เป็นที่ทราบกันดีในปัจจุบันว่ารังสีซึ่งมีคุณสมบัติต่อมนุษย์อย่างอนอกอนันต์ ก็มีโทษมหันต์เช่นเดียวกัน

การที่มนุษย์เรานำเอารังสีมาใช้ด้วยความปลอดภัยนั้น เราจำเป็นต้อง

1. เข้าใจคุณสมบัติของรังสีชนิดต่างๆ
2. ตระหนักถึงโทษภัยของรังสี
3. มีแนวทางปฏิบัติเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสี

- รังสีเป็นพลังงานในบรรยากาศ ซึ่งอาจอยู่ในรูปของอนุภาคหรือคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า
- รังสีที่มีความถี่ต่ำ ได้แก่ คลื่นวิทยุ โทรทัศน์ ไมโครเวฟ เป็นต้น
- รังสีที่มีความถี่สูง เช่น รังสีเอ็กซ์และอนุภาคบางชนิด ได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาโรค

ปัจจุบันมากกว่าครึ่งหนึ่งของผู้ป่วยโรคมะเร็ง ได้รับการรักษาด้วยรังสีการบรรยายครั้งนี้จะได้ให้รายละเอียดดังต่อไปนี้

- รูปแบบต่างๆของรังสีรักษา และวิวัฒนาการของรังสีรักษา
- ความปลอดภัยของรังสีรักษาต่อผู้ป่วยและบุคลากรในครอบครัว
- ความปลอดภัยของรังสีรักษาต่อบุคลากรทางการแพทย์ที่ปฏิบัติหน้าที่
- ความปลอดภัยของรังสีรักษาต่อสังคมและสิ่งแวดล้อม

หลักการเบื้องต้นในการนำรังสีมาใช้อย่างปลอดภัย

Safe Management of Radioactive Waste

Nikom Prasertchiewchan

Radioactive Waste Management Center Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization) Vibhavadi-Rangsit Rd., Bangkok 10900, Thailand E-mail: nikom@tint.or.th

Abstract

The radioactive materials are widely used in several decades in Thailand. These materials are utilized both in governmental organization and private sector, e.g., industry, research and medicine. The use of these materials as same as the other materials ultimately produces “waste”. However, radioactive waste can produce harmful effect to human and environment, therefore, it must be managed safely. At present, there are two governmental organizations responsible for radioactive waste management, i.e. Bureau of Radiation Safety Regulation (BRSR) of the Office of Atoms for Peace (OAP) and Radioactive Waste Management Center (RWMC) of Thailand Institute of Nuclear Technology (TINT). BRSR is responsible for the control and regulation of radioactive waste while RWMC is the center providing management service for radioactive waste. The first legal instrument concerning nuclear energy and radioactive materials is Atomic Energy for Peace Act, B.E. 2504. Under this Act, there are two ministerial regulations concerning radioactive material and radioactive waste management, that is, Ministerial Regulation on Condition and Procedure Requirements for License of Special Nuclear Materials, Source Materials, By Product and Atomic Energy, B.E. 2550 and Ministerial Regulation on Radioactive Waste Management, B.E.2546, to regulate and control the use of and radioactive materials and radioactive waste management. RWMC is now the only organization that provides safe management of radioactive waste and operates the radioactive waste management facilities. The radioactive waste is not only managed according to those regulations but also the others, i.e. the safety documents concerning radioactive waste management of the International Atomic Energy Agency (IAEA). The operational principal management of radioactive waste is known as Concentrate and Contain, Delay and Decay and Dilute and Disperse or so-called 2C4D. However, dilution and dispersion principles should be carefully considered. The principle steps of radioactive waste management start from waste origin, pre-treatment, treatment conditioning and final disposal. At present, there is no facility for solid radioactive waste disposal in Thailand. Thus, after treatment or conditioning steps, waste package is stored for decay or further management in the safe and secured storage building where physical protection system is installed. The facilities and equipments used for radioactive waste management are, e.g., incineration system, compaction system, low level liquid treatment plant and waste storage buildings, etc.. The radioactive waste management operation is always been conducting under radiation safety measure concerning as low as reasonably achievable principles (ALARA principles). Radiation dose received by operation workers is recorded, and reported. It has always been keeping within the dose limit. Discharge of liquid effluent from aqueous liquid treatment plant is authorized within the clearance level. In addition, the radiological monitoring program and impact assessment is also periodically conducted to ensure that the environmental impact assessment is the most concerned. The management process of radioactive waste is now conducted in compliance with the ISO 9001: 2008 system. Hence, for safe radioactive waste management, technology, human resource, law, regulation and the characteristics of radioactive waste are the important factors to be concerned.

การจัดการกากกัมมันตรังสีอย่างปลอดภัย

นิคม ประเสริฐเชียวชาญ

ศูนย์จัดการกากกัมมันตรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

ถนนวิภาวดีรังสิต แขวงลาดยาว เขตจตุจักร จ.กรุงเทพฯ 10900 E-mail: nikom@tint.or.th

บทคัดย่อ

วัสดุกัมมันตรังสีถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายในประเทศนานหลายสิบปี ทั้งในหน่วยงานของรัฐและเอกชน และในหลายสาขา ได้แก่ อุตสาหกรรม การวิจัย และการแพทย์ การใช้ประโยชน์จากวัสดุกัมมันตรังสีนี้ในท้ายสุดสิ่งที่เกิดขึ้นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้เช่นเดียวกับการใช้วัสดุอื่น ๆ ก็คือการเกิดกาก เนื่องจากกากกัมมันตรังสีอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อประชาชนและสิ่งแวดล้อม ดังนั้น จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการจัดการให้เกิดความปลอดภัย ปัจจุบัน มีหน่วยงานของรัฐสองแห่งที่มีภารกิจเกี่ยวข้องกับกากกัมมันตรังสีคือ สำนักกำกับดูแลความปลอดภัยทางรังสี สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ มีหน้าที่รับผิดชอบในการกำกับดูแลเกี่ยวกับวัสดุกัมมันตรังสีและการจัดการกากกัมมันตรังสี และศูนย์จัดการกากกัมมันตรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) เป็นหน่วยงานให้บริการด้านการจัดการกากกัมมันตรังสีแก่ผู้ใช้วัสดุกัมมันตรังสี พระราชบัญญัติพลังงานปรมาณู พ.ศ. 2504 เป็นกฎหมายหลักที่ใช้กำกับดูแลด้านพลังงานนิวเคลียร์และวัสดุกัมมันตรังสี ภายใต้ พ.ร.บ. 2504 นี้มีประกาศกระทรวง 2 ฉบับที่เกี่ยวข้องกับวัสดุกัมมันตรังสีและการจัดการกากกัมมันตรังสีคือ กระทรวงกำหนดเงื่อนไขการขอรับอนุญาตและการดำเนินการเกี่ยวกับวัสดุนิวเคลียร์พิเศษ วัสดุต้นกำลัง วัสดุพลอยได้หรือพลังงานปรมาณู พ.ศ. 2550 และกฎกระทรวงกำหนดหลักเกณฑ์และวิธีการจัดการกากกัมมันตรังสี พ.ศ. 2546 ปัจจุบัน ศูนย์จัดการกากกัมมันตรังสี เป็นหน่วยงานของรัฐเพียงแห่งเดียวที่ให้บริการจัดการกากกัมมันตรังสีอย่างปลอดภัยและมีสถานปฏิบัติการจัดการกากกัมมันตรังสี การดำเนินงานจัดการกากกัมมันตรังสี นอกจากจะคำนึงถึงรายละเอียดตามกฎหมายแล้ว ยังได้ดำเนินงานตามแนวทางเอกสารมาตรฐานความปลอดภัยด้านการจัดการกากกัมมันตรังสี ของทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ ทั้งนี้ มีหลักการปฏิบัติงานด้านการจัดการกากกัมมันตรังสีคือการทำให้เข้มข้นและกักเก็บ (concentrate and contain) การทอดระยะเวลาและการปล่อยให้กัมมันตภาพรังสีสลายตัว (delay and decay) และการเจือจางและการระบาย (dilute and disperse) หรือที่เรียกว่า 2C4D โดยหลักการเจือจางและการระบายซึ่งต้องคำนึงถึงอย่างระมัดระวัง สำหรับขั้นตอนหลักสำหรับการจัดการ ประกอบด้วยขั้นตอนตั้งแต่ การเกิดกากกัมมันตรังสี การเตรียมการก่อนบำบัด การบำบัด การปรับสภาพและการทิ้งกากกัมมันตรังสี ปัจจุบันสถาบันไม่ได้มีสถานปฏิบัติการทิ้งกาก

และไม่ได้ดำเนินงานที่กากของแข็งกัมมันตรังสี โดยหลังจากที่กากกัมมันตรังสีผ่านขั้นตอนการบำบัดหรือปรับสภาพแล้วจะถูกนำเก็บรักษาไว้ในอาคารเก็บรักษากากกัมมันตรังสีที่มีระบบป้องกันภัย ศูนย์จัดการกากกัมมันตรังสีมีสถานปฏิบัติการและอุปกรณ์เพื่อการจัดการได้แก่ ระบบเผาไหม้ ระบบอัดลดปริมาตร โรงงานบำบัดกากของเหลวกัมมันตรังสีและอาคารเก็บรักษากากกัมมันตรังสี เป็นต้น การปฏิบัติงานจัดการกากกัมมันตรังสีจะคำนึงถึงมาตรการความปลอดภัยทางรังสีและยึดหลักการได้รับรังสีน้อยสุดหรือ ALARA principles ปริมาณรังสีของผู้ปฏิบัติงานจะได้รับการบันทึก การรายงานและอยู่ในระดับเกณฑ์การได้รับรังสี การปล่อยระบายน้ำทิ้งจากการบำบัดของเหลวกัมมันตรังสีจะอยู่ในเกณฑ์กำหนดที่ได้รับอนุญาตและอยู่ในระดับเกณฑ์ปลอดภัย (clearance level) นอกจากนี้ สถาบันได้ดำเนินงานตรวจติดตามและประเมินผลกระทบทางรังสีเป็นประจำและขั้นตอนการจัดการได้พัฒนาเข้าระบบมาตรฐาน ISO 9001: 2008 ทั้งนี้เห็นว่า การจัดการกากกัมมันตรังสีให้เกิดความปลอดภัยจะมีปัจจัยที่สำคัญคือ เทคโนโลยีและการบริหารจัดการ บุคลากร การกำกับดูแลและกฎหมายที่เกี่ยวข้องตลอดจนคุณลักษณะของกากกัมมันตรังสีที่เกิดขึ้น

โรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์

มานิตย์ ช้อนสุข

นายกสมาคมนิวเคลียร์แห่งประเทศไทย

บทคัดย่อ

โครงการโรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์ได้ถูกบรรจุอยู่ในแผนพัฒนาพลังงานของประเทศตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 และได้ผ่านการเห็นชอบจากคณะรัฐมนตรีแล้ว เพื่อเป็นการให้ความรู้ความเข้าใจในเรื่องของโรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์ จึงจำเป็นต้องให้ความรู้ในประเด็นต่างๆ ได้แก่ หลักการการทำงานของโรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์ ความปลอดภัยของโรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์ ตลอดจนมาตรการควบคุมการทำงานของโรงไฟฟ้าฯ การจัดการเกี่ยวกับแท่งเชื้อเพลิงทั้งแท่งเชื้อเพลิงใหม่และแท่งเชื้อเพลิงที่ใช้แล้วให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล นอกจากนี้ยังจะให้ความรู้เกี่ยวกับการจัดการกากกัมมันตรังสี และเกี่ยวกับแผนฉุกเฉินในกรณีหากมีเหตุอุบัติภัยทางรังสีเกิดขึ้น ประเด็นสุดท้ายคือแผนการพัฒนากุศลกรเพื่อรองรับโครงการโรงไฟฟ้าพลังงานนิวเคลียร์

การประเมินความเสี่ยงของคนไทยจากอะฟลาทอกซิน (Risk Assessment of Thai People from Aflatoxin)

พิศาล พงศาพิชณ์

สำนักมาตรฐานสินค้าและระบบคุณภาพ สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.)

บทคัดย่อ

อะฟลาทอกซิน (Aflatoxin) เป็นสารพิษจากเชื้อราที่พบมากที่สุดในสินค้าเกษตรและอาหารในประเทศไทย และในขณะเดียวกันก็มีความเป็นอันตรายสูงเป็นอันดับต้นในบรรดาสารพิษจากเชื้อราทั้งหลาย ลักษณะความเป็นอันตรายที่สำคัญที่สุดคือ การก่อให้เกิดมะเร็งตับในผู้บริโภคที่ได้รับอะฟลาทอกซินในปริมาณสูงเป็นเวลานาน อะฟลาทอกซินมีหลายชนิด แต่ชนิดที่พบทั่วไปในสินค้าเกษตรจากพืช เช่น ถั่วลิสง ข้าวโพดเมล็ดแห้ง พริกแห้ง ได้แก่ ชนิด บี1, บี2, จี1 และ จี2 โดยชนิด บี1 เป็นชนิดที่พบบ่อยที่สุด และมีความเป็นอันตรายต่อมนุษย์สูงสุดด้วย ในขณะที่สินค้าเกษตรจากสัตว์ เช่น น้านม มักพบชนิด เอ็ม1 ปนเปื้อนอยู่เป็นชนิดหลัก ซึ่งเกิดจากการที่สัตว์ได้รับอะฟลาทอกซินชนิด บี1 รวมทั้งชนิดอื่นจากอาหารสัตว์ เข้าสู่ร่างกายและเปลี่ยนแปลงในเป็นชนิด เอ็ม1 ที่ถูกขับออกมาพร้อมน้านม

การประเมินความเสี่ยง (Risk assessment) นี้ เพื่อให้ได้ทราบค่าประมาณของความเสี่ยงที่จะเกิดอันตรายต่อสุขภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดมะเร็งตับของผู้บริโภคไทยจากอะฟลาทอกซินชนิด บี1 และ เอ็ม1 การประเมินความเสี่ยงทำตามแนวทางและวิธีการที่กำหนดโดยโครงการมาตรฐานอาหาร FAO/WHO หรือ โคเด็กซ์ (Codex) ดำเนินการตามลำดับ 4 ขั้นตอน คือ 1.การระบุอันตราย (hazard identification) 2.การอธิบายลักษณะอันตราย (hazard characterization) 3.การประเมินการได้รับสัมผัส (exposure assessment) และ 4.การอธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) ข้อมูลที่นำมาใช้ในการประเมิน 2 ขั้นตอนแรกมาจากการประเมินโดย Joint FAO/WHO Experts Committee on Food Additives (JECFA) ปี 1998 ส่วนข้อมูลที่ใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสในขั้นตอนที่ 3 มาจากการสำรวจการปนเปื้อนอะฟลาทอกซินในอาหารระหว่างปี พ.ศ. 2549 – 2550 ที่ดำเนินการโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ โดยตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน ชนิด บี1, บี2, จี1 และ จี2 ในตัวอย่างสินค้าเกษตรและอาหารรวม 310 ตัวอย่าง ได้แก่ ถั่วลิสงดิบ ถั่วลิสงป่น ถั่วลิสงคั่ว/ทอด ข้าวสาร ลูกเดือย เม็ดมะม่วงหิมพานต์ พริกแห้ง พริกไทยดำ พริกไทยผง และหอมแดง รวมทั้งใช้ข้อมูลผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในเนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ และไข่ ที่สำรวจในปี 2544 มาประกอบ และตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในตัวอย่าง นมพาสเจอร์ไรส์ และ UHT รวม 200 ตัวอย่าง ส่วนข้อมูลการบริโภคอาหารใช้ข้อมูลหลักจากฐานข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ที่จัดทำเป็นฐานข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์ (www.acfs.go.th) ยกเว้นข้อมูลการบริโภคอาหารบางรายการ เช่น ถั่วลิสงดิบ ถั่วลิสงคั่วทั้งเปลือก พริกแห้ง พริกป่น น้าพริกแกง ที่ได้จากรายงานการสำรวจภาวะ

อาหารและโภชนาการของประเทศไทยครั้งที่ 4 ปี 2538 โดยกรมอนามัย และข้อมูลการบริโภคถั่วลิสงปนจากการสำรวจ การบริโภคถั่วลิสงปนของผู้บริโภคในกรุงเทพมหานคร ที่ดำเนินการโดยสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ในปี 2543

ผลการประเมินทั้ง 3 ขั้นตอน ถูกนำมาสรุปเพื่ออธิบายเป็นความเสี่ยงของผู้บริโภคไทยในรูปแบบของค่าประมาณการเกิดมะเร็งระดับของคนไทยที่มีสาเหตุจากการได้รับอะฟลาทอกซินจากอาหาร นอกจากนี้ในส่วนสุดท้ายได้นำเสนอแนวทางและมาตรการลดความเสี่ยงจากอะฟลาทอกซิน โดยใช้การมาตรฐาน

ผลการระบุและการอธิบายลักษณะอันตรายของอะฟลาทอกซิน บี1 โดย JECFA สรุปได้ว่า อะฟลาทอกซิน บี1 เป็นสารก่อมะเร็ง ชนิด genotoxic carcinogen โดยยืนยันจากผลการศึกษาด้านระบาดวิทยาในคน และการศึกษาในสัตว์ทดลอง จึงไม่สามารถกำหนดระดับปริมาณอะฟลาทอกซิน บี1 ที่ไม่ทำให้เกิดอันตรายได้ โดยโอกาสการเกิดมะเร็งระดับในคนจะขึ้นกับปริมาณการได้รับอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกายและมีส่วนสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการเป็นโรคและเป็นพาหะของโรคไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B Virus) โดยมีโอกาสเป็นมะเร็งระดับสูงสำหรับผู้ที่ตรวจพบ Hepatitis B surface antigen ทั้งนี้ JECFA ในปี 1998 เสนอรูปแบบการประมาณโอกาสเกิดมะเร็งระดับของผู้บริโภค ไว้สำหรับผู้ตรวจพบ Hepatitis B surface antigen (HBsAg⁺) และผู้ที่ไม่พบ Hepatitis B surface antigen (HBsAg⁻) ดังนี้

HBsAg⁺: 0.3 lives cancers/year per 100,000 populations per ng aflatoxin B1/kg bw per day

HBsAg⁻: 0.01 lives cancers/year per 100,000 populations per ng aflatoxin B1/kg bw per day

ส่วนกรณีอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ข้อมูลด้านระบาดวิทยาในคนยังไม่ชัดเจนถึงการเกิดมะเร็งระดับ แต่ข้อมูลการศึกษาในสัตว์ทดลอง สรุปว่าอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 มีลักษณะการทำให้เกิดมะเร็งคล้ายคลึงกับอะฟลาทอกซิน บี1 แต่ระดับการทำให้เกิดมะเร็งจะต่ำกว่าประมาณ 10 – 100 เท่า ทั้งนี้ JECFA ประมาณว่า หากพบอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ในน้ำมัน ในปริมาณ 0.05 และ 0.5 µg/kg ความเสี่ยงของผู้บริโภคจะอยู่ในระดับที่ต่ำมาก

ผลการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินเอ็ม1 ในตัวอย่างนม ตรวจพบอะฟลาทอกซินเอ็ม1 คิดเป็นสัดส่วน 71% ของตัวอย่าง โดยพบในปริมาณไม่เกิน 0.05 µg/kg และปริมาณเกิน 0.05 µg/kg แต่ไม่เกิน 0.5 µg/kg เป็นสัดส่วน 34% และ 37% ของตัวอย่าง แต่ไม่มีตัวอย่างใดพบในปริมาณเกินกว่า 0.5 µg/kg ส่วนผลการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน บี1, บี2, จี1 และ จี2 และผลรวมของอะฟลาทอกซินทั้ง 4 ชนิด (total aflatoxin) ตรวจพบอะฟลาทอกซินในตัวอย่างถั่วลิสงปน ถั่วลิสงคั่ว/ทอด และถั่วลิสงดิบ เกือบทุกตัวอย่าง ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมและอะฟลาทอกซิน บี1 เฉลี่ยในตัวอย่างถั่วลิสง ทั้ง 3 ประเภท สูงกว่า 20 µg/kg โดยถั่วลิสงปนเป็นอาหารที่พบสูงสุด โดยพบอะฟลาทอกซินรวมและอะฟลาทอกซิน บี1 เฉลี่ยเท่ากับ 202.1 และ 178.8, µg/kg ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างอื่นๆ ได้แก่ พริกแห้ง ลูกเดือย ข้าวสาร พบอะฟลาทอกซินรวม ในปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 3.9, 1.5 และ 0.04 µg/kg ตามลำดับ และอะฟลาทอกซิน บี1 ในปริมาณเฉลี่ยเท่ากับ 1.9,

1.02 และ 0.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างอื่นๆ พบอะฟลาทอกซินเฉลี่ยในปริมาณต่ำกว่า 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ทั้งนี้ในภาพรวมตรวจพบอะฟลาทอกซิน บี1 เป็นสัดส่วนประมาณ 80% ของ อะฟลาทอกซินรวม

ในส่วนของการประเมินการได้รับสัมผัส ไม่ได้ประเมินสำหรับอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 เนื่องจากในตัวอย่างนมทุกตัวอย่าง ตรวจพบสำหรับอะฟลาทอกซิน เอ็ม1 ไม่เกิน 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ซึ่งเป็นระดับที่ JECFA ประเมินว่าความเสี่ยงของผู้บริโภคอยู่ในระดับต่ำมาก และเป็นระดับที่ Codex กำหนดเป็นมาตรฐานค่า Maximum Level ในน้ำนม ผลการประเมินการได้รับสัมผัสอะฟลาทอกซิน บี1 และอะฟลาทอกซินรวม ที่ผู้บริโภคไทยโดยรวมที่มีอายุมากกว่า 3 ปี ขึ้นไป ได้รับต่อวันอยู่ที่ปริมาณ 7.82 และ 8.90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ bw ตามลำดับ เปรียบเทียบกับผลการประเมินที่เคยทำได้ โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมในปี 2544 ที่ได้รับที่ปริมาณ 5.86 และ 7.12 ng/kg bw ตามลำดับ

ทั้งนี้หากเปรียบเทียบปริมาณการได้รับ อะฟลาทอกซิน บี1 สำหรับผู้บริโภคทั่วไป และผู้ที่บริโภคอาหารประเภทถั่วลิสงในปริมาณมาก (คิดที่ 97.5 เปอร์เซ็นต์ไดสต์) พบว่าผู้ที่บริโภคถั่วลิสงในปริมาณมากจะได้รับอะฟลาทอกซิน บี1 เป็นปริมาณ 58.59 ng/kg bw คิดเป็นประมาณ 7.5 เท่าของผู้บริโภคทั่วไป และเมื่อพิจารณาสัดส่วน (%) อะฟลาทอกซิน บี1 ที่ผู้บริโภคทั่วไป และผู้ที่บริโภคถั่วลิสงปริมาณมาก ได้รับจากอาหารประเภทถั่วลิสง พบว่าเป็นสัดส่วนถึง 96.1% และ 99.5% ตามลำดับ

จากผลการประเมินการได้รับสัมผัสนี้นำมาประมาณความเสี่ยงการเกิดมะเร็งตับของผู้บริโภคไทย โดยใช้รูปแบบ (model) ของ JECFA โดยใช้ค่าประมาณการว่าคนไทยมีผู้ที่พบ HBsAg⁺ ประมาณ 10% ของประชากรจากข้อมูลทั้งหมดนี้ประมาณอัตราการเกิดมะเร็งตับต่อปี เฉพาะจากอะฟลาทอกซิน บี1 ต่อประชากร 100,000 คน ได้เท่ากับ 0.31 สำหรับผู้บริโภคทั่วไป และ 2.29 สำหรับผู้ที่บริโภคถั่วลิสงปริมาณมาก ซึ่งหากเทียบกับประชากรไทยทั้งประเทศประมาณ 65 ล้านคน จะได้ค่าประมาณการเกิดมะเร็งตับเท่ากับ 198 คน เทียบกับตัวเลขที่เคยประมาณไว้ในการศึกษาปี 2544 เท่ากับ 149 คน หรือเพิ่มขึ้นประมาณ 33%

ผลการประเมินแสดงให้เห็นว่าผู้บริโภคไทยมีความเสี่ยงจากอะฟลาทอกซินจากการบริโภคอาหารอยู่ในระดับค่อนข้างสูง ซึ่งชนิดอาหารที่ทำให้เกิดความเสี่ยงสูงสุดคือ ถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ถั่วลิสงป่น ดังนั้นการจะลดความเสี่ยงของผู้บริโภคไทยจากอะฟลาทอกซินควรจะมีผู้จัดการที่อาหารประเภทถั่วลิสงเป็นอันดับแรก แนวทางการจัดการความเสี่ยงโดยใช้การมาตรฐานเริ่มตั้งแต่การกำหนดมาตรฐานที่เกี่ยวกับถั่วลิสงที่ครอบคลุมตลอด ห่วงโซ่การผลิต โดยเน้นการปฏิบัติที่ดีในระดับเกษตรกร โรงกะเทาะ โรงงานแปรรูป ไปจนถึงการขนส่งและการจำหน่าย รวมถึงมาตรฐานถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ โดยมุ่งเน้นไปที่การควบคุมอะฟลาทอกซินในถั่วลิสง โดยนำมาตรฐานไปส่งเสริมให้เกษตรกรและผู้ประกอบการปฏิบัติตาม ให้การตรวจรับรอง และให้เครื่องหมายรับรองถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยจากอะฟลาทอกซิน รวมไปถึงการส่งเสริมประชาสัมพันธ์ให้

ความรู้แก่ผู้บริโภคในการเลือกซื้อและบริโภคถั่วลิสงที่ปลอดภัย ทั้งนี้จะต้องมีการพิจารณาข้อดีข้อเสียของ
ทางเลือกการกำหนดเป็นมาตรฐานสมัครใจ หรือมาตรฐานบังคับต่อไป

อันตรายจากเครื่องสำอาง

สิรินมาส คัชมาตย์

กลุ่มควบคุมเครื่องสำอาง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

บทคัดย่อ

เครื่องสำอางตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ตามมาตรา 4 หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ไล้ หรืออบกับผิวหนังภายนอก เช่น ผิวหนังที่รูปร่างกาย เส้นผมและหนังศีรษะ เล็บ ริมฝีปาก ช่องปากและฟัน อวัยวะเพศส่วนนอก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อความสะอาดในชีวิตประจำวัน ความสวยงามและแต่งกลิ่นหอม ตัวอย่างเครื่องสำอาง ได้แก่ ยาสีฟัน สบู่ แชมพูสระผม แป้งโรยตัว โลชั่นทาตัว เป็นต้น

เครื่องสำอางเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในชีวิตประจำวันของผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย ซึ่งสามารถเลือกใช้ตามความพอใจ ประกอบกับการกำกับดูแลเครื่องสำอางเป็นการกำกับดูแลหลังออกสู่ตลาด (post marketing surveillance) ไม่ได้กำกับดูแลก่อนออกสู่ตลาดเหมือนกับยา (pre-marketing surveillance) ดังนั้น การเป็นผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอางจึงไม่ยุ่งยากเหมือนยาหรือผลิตภัณฑ์สุขภาพอื่น ทำให้จำนวนผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอางมีจำนวนมาก ทั้งรายย่อยและรายใหญ่ ตลาดเครื่องสำอางจึงเป็นตลาดที่มีมูลค่าและการแข่งขันสูง ดังนั้น ผู้ที่เกี่ยวข้องกับเครื่องสำอางทั้งหมด ไม่ว่าจะเป็นผู้บริโภค ผู้ประกอบการด้านเครื่องสำอาง และภาครัฐ เป็นผู้ที่มิมีบทบาทสำคัญเกี่ยวกับอันตรายหรือความปลอดภัยจากเครื่องสำอาง

สาเหตุของอันตรายจากเครื่องสำอางเกิดจาก 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่

1. ความเป็นพิษในเครื่องสำอาง เกิดจากสารเคมีและจุลินทรีย์ โดยสารเคมีในเครื่องสำอางเกิดจากการตั้งใจ การปนเปื้อนและปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นในตำรับ ส่วนจุลินทรีย์ในเครื่องสำอางเกิดจากการปนเปื้อน ซึ่งแบ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ทั่วไป

1.1 ตัวอย่างสารเคมีที่เกิดจากการตั้งใจ ได้แก่ ปรอท ไฮโดรควิโนนและกรดวิตามินเอ

1.2 ตัวอย่างสารเคมีที่เกิดจากการปนเปื้อน ได้แก่ 1,4-dioxane, asbestos, diethylene glycol

1.3 ตัวอย่างปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นในตำรับ ได้แก่ การเกิดไนโตรซามีน ซึ่งเป็นปฏิกิริยาระหว่าง nitrosating agents และ amines, amides

1.4 ตัวอย่างจุลินทรีย์ก่อโรคที่ห้ามตรวจพบ ได้แก่ *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candidan albicans* และ *Clostridium spp.*

1.5 ตัวอย่างจุลินทรีย์ทั่วไป ได้แก่ กำหนดจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่เจริญเติบโตโดยใช้
อากาศ (aerobic plate count) ในเครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา/สัมผัสเยื่ออ่อน/สำหรับเด็ก
อายุต่ำกว่า 3 ปี และเครื่องสำอางอื่น

1.6 การกำกับดูแลความเป็นพิษในเครื่องสำอาง อาศัยประกาศกระทรวงสาธารณสุข 4 ฉบับคือ

1.6.1 เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ซึ่งมีผลบังคับใช้วันที่
13 พฤษภาคม 2551 และเรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ซึ่งมี
ผลบังคับใช้วันที่ 28 มีนาคม 2552

1.6.2 เรื่อง กำหนดชื่อและปริมาณของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิต ซึ่งมีผลบังคับใช้
วันที่ 10 ตุลาคม 2551

1.6.3 เรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 47)
พ.ศ. 2552 ซึ่งมีผลบังคับใช้วันที่ 28 เมษายน 2551 และเรื่อง กำหนดวัตถุกันเสียที่อาจใช้เป็นส่วนผสมใน
การผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ซึ่งมีผลบังคับใช้วันที่ 1 ตุลาคม 2552

1.6.4 เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย ซึ่งมีผลบังคับใช้
วันที่ 24 เมษายน 2553

2. การแพ้เครื่องสำอาง เป็นเรื่องเฉพาะบุคคล ไม่ใช่อันตรายโดยตรงจากเครื่องสำอาง ตัวอย่างการแพ้
เครื่องสำอาง ได้แก่ *p*-phenylenediamine (PPD) ซึ่งผลการศึกษาทั้งในและต่างประเทศพบว่า PPD เป็นสาเหตุ
ผลิตภัณฑ์ย้อมผมและการสักร่างกาย เป็นสารที่ทำให้เกิดการแพ้ชนิดผื่นสัมผัสมากที่สุด สิ่งสำคัญคือการแพ้
PPD อาจเกิดปฏิกิริยาข้าม (cross reaction) กับสารเคมีอื่น ซึ่งเป็นยาและสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบใน
ผลิตภัณฑ์อื่นที่ใช้ในชีวิตประจำวัน ตัวอย่างยาที่อาจเกิดปฏิกิริยาข้ามเนื่องจากการแพ้ PPD ได้แก่
sulfonamides, *p*-aminosalicylic acid, thiazides, benzocaines and related, sulfonyleureas, celecoxib ตัวอย่าง
สารเคมีที่เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อื่นที่ใช้ในชีวิตประจำวันที่อาจเกิดปฏิกิริยาข้ามเนื่องจากการแพ้ PPD
ได้แก่ สารป้องกันแสงแดดในเครื่องสำอาง คือ PABA and padimate-*O* สีย้อมผ้ากลุ่ม azo และ rubber
accelerators คือ *N*-isopropyl-*N'*-phenyl-*p*-phenylenediamine

อันตรายหรือความปลอดภัยจากเครื่องสำอางตามที่กล่าวข้างต้น เกิดจากความร่วมมือทั้งสาม
ภาคส่วน กล่าวคือ ภาครัฐโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากำหนดคุณภาพและมาตรฐาน
เครื่องสำอางโดยออกกฎหมาย และตรวจติดตามหลังออกสู่ตลาด ภาคเอกชนโดยผู้ประกอบการด้าน
เครื่องสำอาง ไม่ว่าจะผลิต นำเข้าและจำหน่ายเครื่องสำอางปฏิบัติตามกฎหมาย และภาคประชาชนสนใจ
ติดตามความรู้เกี่ยวกับเครื่องสำอาง อ่านและปฏิบัติตามคำแนะนำบนฉลากเครื่องสำอางอย่างเคร่งครัด

Cadmium in Foods of Animal Origin: Should We Worry?

อาจารย์ ทองใบ, จิระสุตา ห้าวหาญ, นพมาศ ตระการรังสี*

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล นครปฐม 73170

บทคัดย่อ

ปัญหาการปนเปื้อนของโลหะหนัก เช่น แคดเมียม จัดเป็นประเด็นที่สร้างความน่าวิตกมากขึ้นในปัจจุบัน เนื่องจากปริมาณที่เพิ่มขึ้นทั้งในดิน น้ำ และอากาศ โดยที่ระดับการปนเปื้อนที่เพิ่มขึ้นนี้อาจเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติหรืออาจเป็นผลจากการกระทำของมนุษย์ หรือเป็นผลจากทั้งสองส่วนร่วมกัน ทำให้มาตรการหรือความพยายามในการควบคุมระดับและความรุนแรงของการปนเปื้อนโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากสัตว์เป็นไปได้ยากยิ่งในทางปฏิบัติ ซึ่งสาเหตุหลักที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากโคและสุกร มักเกิดจากการที่สัตว์ได้รับแคดเมียมที่ปนเปื้อนในอาหารและน้ำ โดยการสะสมแคดเมียมในโคจะมีความสัมพันธ์กับการปนเปื้อนของแคดเมียมในพื้นที่ ในขณะที่การสะสมแคดเมียมที่พบในสุกรซึ่งสามารถพบในปริมาณสูง อาจพบได้ในสัตว์ที่เลี้ยงนอกพื้นที่ปนเปื้อนได้เช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตาม วัตถุประสงค์จากปศุสัตว์เหล่านี้ อาจมีการขนส่งและนำไปจัดจำหน่ายในพื้นที่ต่างๆ ทั่วประเทศ ดังนั้น โอกาสที่ผู้บริโภคจะได้รับแคดเมียมผ่านทางผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ โดยเฉพาะเครื่องในสัตว์ อาจไม่แตกต่างกันนัก ดังนั้น แนวทางในการลดความเสี่ยงของผู้บริโภคจึงควรมุ่งเน้นไปที่การเฝ้าระวังและติดตามสถานการณ์การปนเปื้อนอย่างสม่ำเสมอ และที่สำคัญอย่างยิ่งคือการให้ความรู้แก่ประชาชนเพื่อให้รู้จักหลีกเลี่ยงการได้รับสารปนเปื้อนที่เป็นอันตรายเหล่านี้ ในขณะที่เดียวกันก็ควรผลักดันการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล ด้านความเสี่ยงของการได้รับแคดเมียมของประชากรชาวไทยที่เป็นปัจจุบัน เพื่อเป็นแนวทางในการวางมาตรการด้านความปลอดภัยที่เหมาะสมต่อไป

คำสำคัญ: แคดเมียม, สุกร, โค, การปนเปื้อน

* Corresponding author:

รศ.สพ.ญ.ดร. นพมาศ ตระการรังสี

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา พุทธมณฑล นครปฐม 73170

โทรศัพท์: 02 441 5242-4 โทรสาร: 02 441 0937

E-mail: vsntk@mahidol.ac.th

บทนำ

แคดเมียม (Cadmium, Cd) เป็นโลหะหนักที่ถูกค้นพบในปี ค.ศ. 1817 มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อย่างแพร่หลาย เช่น อุตสาหกรรมการผลิตสี พลาสติก และแบตเตอรี่ ถึงแม้ว่าอาการพิษที่เกิดจากการได้รับแคดเมียมในกลุ่มคนงาน (occupational workers) จะเป็นที่ตระหนักขึ้นมาช้านาน ความป็นพิษของแคดเมียมในกลุ่มประชากรทั่วไป (non-occupational population) โดยเฉพาะในกรณีที่ได้รับผลกระทบจากการปนเปื้อนของแคดเมียมในสิ่งแวดล้อม ก็มีการรายงานออกมาอย่างต่อเนื่อง ซึ่งหนึ่งในกรณีตัวอย่างที่เป็นที่ทราบกันทั่วไป ก็คือการปนเปื้อนแคดเมียมในดินและน้ำที่บริเวณ Jinzu และ Kakehashi river basin ประเทศญี่ปุ่น ส่งผลให้มีการปนเปื้อนแคดเมียมเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารและทำให้ประชากรจำนวนมากที่อาศัยในบริเวณนั้น ป่วยด้วยโรคอิไต-อิไต (Itai-Itai) จากพิษของแคดเมียม¹ การได้รับแคดเมียมในปริมาณต่ำเป็นระยะเวลานานสามารถก่อพิษแบบเรื้อรังได้ โดยเฉพาะพิษต่อไต กระดูก ระบบสืบพันธุ์ และระบบหัวใจ-หลอดเลือด แคดเมียมยังถูกจัดเป็นสารก่อกลายพันธุ์และเป็นสารก่อมะเร็งอีกด้วย²⁻⁴

กลุ่มประชากรทั่วไปอาจได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายผ่านทาง 2 เส้นทางหลัก คือ จากการสูบบุหรี่และการบริโภคอาหาร-น้ำที่ปนเปื้อนแคดเมียม ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่าในกลุ่มประชากรที่ไม่สูบบุหรี่ (Non-occupational, non-smokers) อาหารจัดเป็นตัวแปรสำคัญที่ทำหน้าที่ส่งผ่านแคดเมียมจากสิ่งแวดล้อมสู่มนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคลำดับสุดท้าย ทั้งนี้อาหารประเภทข้าว ผัก และธัญพืช อาจพบการปนเปื้อนแคดเมียมในระดับสูงเนื่องจากสามารถดูดซับแคดเมียมจากดินปนเปื้อน หรือจากการใช้ปุ๋ยซึ่งมีแคดเมียมเจือปน ส่วนอาหารทะเลบางชนิด เช่น หอย

และสาหร่ายทะเล อีกทั้งผลิตภัณฑ์จากปลุสัตว์บางประเภท เช่น เครื่องในสัตว์ โดยเฉพาะไตและตับ ก็สามารถพบการปนเปื้อนแคดเมียมในระดับสูงได้เช่นเดียวกัน^{5,6} เป็นที่ทราบกันดีว่าปริมาณการได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายผ่านทางอาหารนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมากในแต่ละพื้นที่และในแต่ละประเทศ ซึ่ง 1/3 เป็นแคดเมียมที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และอีก 2/3 เป็นส่วนที่ปนเปื้อนในข้าวและพืช-ผัก⁷ โดยจากผลการสำรวจปริมาณการได้รับแคดเมียมผ่านทางอาหารของประชากรในกลุ่มสหภาพยุโรป ฮองกง ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น และสหรัฐอเมริกา พบว่าอยู่ที่ระดับ 15, 20, 30, 40 และ 60 $\mu\text{g}/\text{day}$ และมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ⁸ ในขณะที่ในปี 1987 องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO/WHO) ได้ประเมินปริมาณของแคดเมียมที่คนไทยได้รับอยู่ที่ 177 $\mu\text{g}/\text{day}$ ⁹

ในกรณีของการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้มีการเล็งเห็นความสำคัญของประเด็นปัญหานี้ และมีการกำหนดระดับการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหารสัตว์ไว้ไม่เกิน 1 mg/kg feed ที่ 12% moisture และกำหนดปริมาณการตกค้างสูงสุดในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มนุษย์นำมาบริโภค (Maximum levels, MLs) ไว้หลายระดับขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ โดยประเทศไทยได้ใช้ข้อกำหนดส่วนหนึ่งซึ่งมีการอ้างอิงตามมาตรฐานและหลักเกณฑ์ที่ประกาศโดยองค์การมาตรฐานระหว่างประเทศ (ตารางที่ 1) ทั้งนี้ FAO/WHO ได้กำหนดปริมาณรวมของแคดเมียมที่มนุษย์บริโภคภายใน 1 สัปดาห์ จะต้องไม่เกิน 7 $\mu\text{g}/\text{kg bw}$ หรือ 1 $\mu\text{g}/\text{kg bw per day}$ ¹⁰ อย่างไรก็ตามในความเป็นจริง ปริมาณของแคดเมียมที่ตรวจพบ

ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดอาจมีค่าสูงกว่าระดับที่กำหนดไว้ และผู้บริโภคบางกลุ่ม เช่น กลุ่มผู้ที่อาศัยอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับพื้นที่ปนเปื้อน ซึ่งจัดเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่อการได้รับแคดเมียมสูงอยู่แล้ว รวมถึงกลุ่มประชากรที่มีอุปนิสัยบริโภคเครื่องในสัตว์ อาจจัดอยู่ในกลุ่ม “an extreme daily exposure” ที่มีโอกาสได้รับแคดเมียมในปริมาณสูงเกินกว่าที่กำหนดไว้มาก

จากการสืบค้นข้อมูลที่ผ่านมาพบว่า มีการตรวจวิเคราะห์และรายงานการปนเปื้อนของแคดเมียมในปลา สัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ รวมถึงอาหารสัตว์ อย่างสม่ำเสมอโดยสถาบันอาหาร และมีรายงานจากการศึกษาวิจัยในสัตว์น้ำชนิดอื่นๆ เช่น ปลาคู¹¹ และหอยแครง¹² เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ข้อมูลการปนเปื้อนของแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ เช่น ไข่ สุกกร และโค นั้นมีน้อยมาก และถึงแม้ว่าการปนเปื้อนจะสามารถพบได้ทั้งในส่วนของเนื้อ นม และเครื่องในสัตว์ ข้อมูลการปนเปื้อนของแคดเมียมในน้ำนมโคในส่วนของประเทศไทยนั้นยังไม่พบว่ามียารายงาน ดังนั้นบทความนี้จึงนำเสนอข้อมูลการปนเปื้อนในไตและตับของปศุสัตว์เป็นหลัก โดยส่วนหนึ่งนั้นเป็นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาภายในประเทศ ทั้งนี้เพื่อให้สามารถพิจารณาเชิงเปรียบเทียบข้อมูลที่มีการรายงานจากประเทศอื่นๆ

การปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์

การปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ สามารถพบได้ทั้งในส่วนของกล้ามเนื้อและอวัยวะภายใน โดยเฉพาะไต ตับ และไขกระดูก ซึ่งจัดเป็นอวัยวะที่พบการสะสมของแคดเมียมได้ในปริมาณสูง ยิ่งไปกว่านั้นยังพบการตกค้างของแคดเมียมในน้ำนมได้อีกด้วย ซึ่งรายงานจากอินเดียเมื่อไม่นานมานี้ระบุว่า ระดับการปนเปื้อนแคดเมียมใน

น้ำนมโคทั่วไปพบที่ 0.03 µg/mL ในขณะที่น้ำนมโคจากเขตพื้นที่อุตสาหกรรมพบปริมาณการปนเปื้อนสูงกว่าถึง 10 เท่า^{15, 16} โดยที่ Codex ได้กำหนด MLs ของแคดเมียมในน้ำนมไว้ที่เพียง 0.02 µg/mL นอกจากนี้ยังพบว่าประมาณ 80 % ของแคดเมียมทั้งหมดที่ตกค้างในน้ำนม จะพบอยู่ในส่วนของหางนม (skimmed milk)¹⁷

จากการสำรวจการปนเปื้อนแคดเมียมในตัวอย่างตับของไก่ เป็ด และสุกร จากภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยระหว่างปี 2548-2550 พบตัวอย่างตับไก่และตับสุกรมีแคดเมียมตกค้างสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน 2-10% ของจำนวนตัวอย่างที่ตรวจ และพบระดับการตกค้างสูงสุดที่ 4.6 mg/kg (ตับไก่) และ 17.50 mg/kg (ตับสุกร) ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด 10-35 เท่า⁵ ในกรณีนี้เป็นที่น่าสังเกตว่าถึงแม้การเลี้ยงไก่และสุกรจะมีช่วงเวลาการเลี้ยงไม่นานนัก ก็สามารถพบการปนเปื้อนที่ปริมาณสูงได้ ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลที่มีการรายงานจากสหรัฐอเมริกาเช่นกัน¹⁸ ส่วนการปนเปื้อนในไตของสุกรนั้น จากการศึกษาในช่วงปี 2550-2551 ในตัวอย่างจากพื้นที่ปนเปื้อนแคดเมียมในเขตอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และตัวอย่างจากกรุงเทพฯ-ปริมณฑล พบค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่ระดับ 40.1 mg/kg และ 20.2 mg/kg ตามลำดับ⁶ และพบประเด็นที่น่าสนใจว่า ถึงแม้ค่าเฉลี่ยและค่าสูงสุดของแคดเมียมที่ตรวจพบในตัวอย่างจากแม่สอดจะสูงกว่าค่าที่พบในตัวอย่างจากกรุงเทพฯ แต่โอกาสในการตรวจพบตัวอย่างไตสุกรที่มีค่าแคดเมียมสูงกว่ามาตรฐานจากทั้งสองพื้นที่อาจไม่แตกต่างกันมากนัก (รูปที่ 1) ซึ่งการศึกษาระดับการปนเปื้อนของแคดเมียมในไตสุกรนี้ ทางคณะนักวิจัยจากสถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ได้เคยมีการรายงานมาก่อนหน้า และพบการสะสมของแคดเมียมในไต

มากกว่าส่วนที่เป็นกล้ามเนื้อ อีกทั้งพบว่ามูลสุกรมีปริมาณแคดเมียมสูงกว่ามูลวัวอีกด้วย¹⁹ อย่างไรก็ตามก็ตีความเปรียบเทียบข้อมูลการปนเปื้อนแคดเมียมในไตสุกรที่มีการศึกษาในต่างประเทศ เช่น Poland²⁰, Sweden²¹ และ Croatia²² จะพบว่าระดับของแคดเมียมที่พบในตัวอย่างจากประเทศในกลุ่มยุโรปนั้นอยู่ในช่วง 0.3-10 mg/kg

สำหรับข้อมูลการปนเปื้อนแคดเมียมในไตของโค มีรายงานระบุว่า ค่าเฉลี่ยของระดับแคดเมียมที่พบในตัวอย่างจากพื้นที่อำเภอแม่สอดสูงกว่าค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากเขตกรุงเทพฯ-ปริมณฑล โดยเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างที่พบค่าแคดเมียมตกค้างสูงกว่าค่ามาตรฐานและค่าสูงสุดที่ตรวจพบมีความแตกต่างกันอย่างเด่นชัด (ตัวอย่างจากแม่สอด: 45% และ 4.2 mg/kg; ตัวอย่างจากกรุงเทพฯ-ปริมณฑล: 9% และ 2.4 mg/kg) (รูปที่ 1) นอกจากนี้ นพมาศและคณะ²³ ได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมในบริเวณพื้นที่ปนเปื้อนแคดเมียมของอำเภอแม่สอด โดยทำการวิเคราะห์ระดับของแคดเมียมจากตัวอย่างกล้ามเนื้อ ไต และตับของโคขุนที่เลี้ยงแบบยืนโรงและแบบปล่อยทุ่ง พบว่าระดับการตกค้างของแคดเมียมในกล้ามเนื้อยังอยู่ในเกณฑ์ที่ปลอดภัย แต่ปริมาณที่พบในตับและไตของโคที่เลี้ยงแบบปล่อยทุ่งมีแนวโน้มสูงกว่าของโคที่เลี้ยงแบบยืนโรงอย่างมีนัยสำคัญ และพบตัวอย่างที่มีปริมาณแคดเมียมสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานได้ในโคทั้ง 2 กลุ่ม (ตารางที่ 2) ส่วนระดับการตกค้างของแคดเมียมในตัวอย่างไตและตับของโค ที่มีการรายงานจากประเทศอื่นๆ ได้รวบรวมและแสดงไว้ในตารางที่ 3

สาเหตุของการปนเปื้อน

จากที่กล่าวมา การตกค้างของแคดเมียมในตัวอย่างจากไก่และสุกร สามารถพบได้ในปริมาณสูงและในหลายพื้นที่ โดยสาเหตุการปนเปื้อนนั้นยังไม่อาจสรุปได้แน่ชัด แต่การใช้ premix ที่มีส่วนผสมของ Cd-contaminated zinc salts เดิมลงในอาหารสัตว์ อาจเป็นหนึ่งในสาเหตุหลักเนื่องจากมักพบการปนเปื้อนของแคดเมียมในระดับสูงและอาจพบสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดเป็น 1,000 เท่า^{22, 29} โดยมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแคดเมียมและโลหะหนักอื่นๆ ในอาหารสัตว์กับปริมาณแคดเมียมที่ตกค้างในเนื้อเยื่อของสัตว์พบว่า ปริมาณแร่ธาตุในสูตรอาหารสัตว์แปรผันตรงต่อปริมาณแคดเมียมในเนื้อเยื่อสัตว์³⁰ นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยจากตัวสัตว์ เช่น individual genetic back-up และระดับของ metallothionein รวมทั้งปัจจัยที่มีสาเหตุจากวัตถุดิบอาหารสัตว์อื่นๆ เช่น การใช้กระดูกสัตว์ป็นเป็นแหล่งแคลเซียม การใช้มูลสัตว์หรือปุ๋ยที่มีแคดเมียมปนเปื้อนระดับสูงในการปลูกพืชอาหารสัตว์ ชนิดของพืชอาหารสัตว์ และระยะเวลาในการเลี้ยง ล้วนส่งผลต่อการสะสมของแคดเมียมในร่างกาย²¹

ถึงแม้จะมีความเป็นไปได้ว่า ไก่และสุกรที่เลี้ยงในบริเวณพื้นที่ที่มีปัญหา อาจมีโอกาสสัมผัสและได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่มากกว่า โดยผ่านทางน้ำดื่มและวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้และ/ หรือมีการผลิตในพื้นที่ แต่ผลกระทบที่มาจากปัญหาแคดเมียมปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมอาจไม่เด่นชัดเท่ากรณีของโค ซึ่งเป็นสัตว์แทะเล็ม (grazing animal) กินหญ้าและพืชใบชนิดต่างๆ เป็นอาหารหลัก จึงมีโอกาสเสี่ยงสูงที่จะได้รับแคดเมียมผ่านทางพืชอาหารสัตว์ซึ่งปลูกในพื้นที่ปนเปื้อนสัตว์ในตระกูลนี้จัดเป็นกลุ่มแรกๆ ที่ได้รับ

ผลกระทบโดยตรงและสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ (bio-indicator) ในกรณีที่มีปัญหาการปนเปื้อนของ แคดเมียมในสิ่งแวดล้อม โดยผลการศึกษาในตัวอย่างจากโคที่เลี้ยงแบบอินทรีย์และปล่อยทิ้ง รวมถึงข้อมูลเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างจากในพื้นที่ และนอกพื้นที่ปนเปื้อน สามารถสะท้อนให้เห็นถึงประเด็นการส่งผ่านการปนเปื้อนแคดเมียมจากสิ่งแวดล้อมสู่ผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ เช่น โค ได้อย่างชัดเจน และยืนยันเพิ่มเติมโดยการศึกษาของ Cai และคณะ²⁸ ในโคที่เลี้ยงในพื้นที่อุตสาหกรรมของประเทศจีน ซึ่งพบปริมาณแคดเมียมในระดับและไตของโคสูงถึง 2.15 mg/kg และ 38.3 mg/kg ตามลำดับ และพบความสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมกับปริมาณการสะสมแคดเมียมในร่างกายของโค (รูปที่ 2)

การลดปัญหาการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์ VS การลดความเสี่ยงของผู้บริโภค

เนื่องจากการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ อาจนับเป็นอีกช่องทางที่จะนำแคดเมียมเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของผู้บริโภคได้ โดยเฉพาะกลุ่มคนที่นิยมบริโภคเครื่องในสัตว์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโอกาสพบการปนเปื้อนในระดับสูง การลดปัญหาการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์เหล่านี้ นอกจากจะต้องทำความเข้าใจถึงสาเหตุที่มาแล้ว ยังจำเป็นต้องพิจารณาถึงค่าใช้จ่ายในการจัดการและความคุ้มค่าเช่นกัน โดยพื้นฐานแล้ว การปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีความสำคัญต่อการส่งผ่านแคดเมียมไปสู่พืช สัตว์ และมนุษย์ ที่อาจวนเวียนเป็นวัฏจักรไม่สิ้นสุด หากต้นเหตุไม่ได้รับการแก้ไข ในขณะที่เดียวกันก็เป็นที่ยอมรับ

โดยทั่วไปว่า การแก้ไขการปนเปื้อนของสารเคมีและโลหะหนัก ที่เป็นปัญหาในสิ่งแวดล้อม มักมีค่าใช้จ่ายที่สูง ใช้เวลา และอาจต้องใช้เทคโนโลยีที่มีความสลับซับซ้อน ดังตัวอย่างที่เห็นจากอุบัติการณ์การปนเปื้อนแคดเมียมในประเทศญี่ปุ่น ที่เกิดขึ้นในช่วงสงครามโลกครั้งที่สอง ที่ทำให้รัฐบาลญี่ปุ่นต้องใช้งบประมาณมหาศาลในการแก้ไขผลกระทบที่เกิดขึ้นต่อระบบเกษตรกรรม การเลี้ยงสัตว์ และการทำประมงในพื้นที่ ต่อระบบสุขภาพของประชาชนซึ่งมีการศึกษาติดตามมาจนถึงปัจจุบัน และต่อระบบสิ่งแวดล้อมโดยการขุดลอกดินปนเปื้อนออกจากพื้นที่และนำดินจากแหล่งที่ไม่มีมีการปนเปื้อนเข้ามาถมแทน ซึ่งแม้เวลาผ่านไปกว่า 50 ปี การแก้ไขปัญหาปนเปื้อนในพื้นที่ก็ยังคงมีการดำเนินการอยู่^{31, 32}

ในส่วนของประเทศไทย การลดการสะสมแคดเมียมในปศุสัตว์ โดยเฉพาะในกรณีของสัตว์ทะเลนั้น มีข้อเสนอแนะว่า หากไม่อาจหลีกเลี่ยงการทำปศุสัตว์ในพื้นที่ปนเปื้อน ก็ควรปรับรูปแบบการจัดการ เช่น จำกัดระยะเวลาที่สัตว์ถูกเลี้ยงในพื้นที่ การใช้พืชอาหารสัตว์จากแหล่งที่ปลอดภัย หรืออาจปรับปรุงคุณภาพดินก่อนโดยการปลูกพืชที่สามารถดูดซับแคดเมียมจากดินได้มาก เช่น หญ้าแฝก, หญ้าแห้วหมู, ฝ้าย และ ละหุ่ง เป็นต้น เมื่อปรับปรุงคุณภาพดินแล้ว จึงปลูกพืชที่ดูดซับแคดเมียมได้น้อย เช่น ดอกคำฝอย ถั่วเหลือง และคาโนล่า เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์^{33, 34} อย่างไรก็ตาม แนวทางดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ระยะเวลายาวนานในการดำเนินการ

ส่วนในกรณีของไก่และสุกรนั้น สัตว์อาจได้รับแคดเมียมมาจากส่วนผสมที่มีการปนเปื้อนอยู่ในอาหารสัตว์สำเร็จรูป แต่เนื่องจากกระบวนการกำจัดแคดเมียมที่ปนเปื้อนออกจากวัตถุดิบอาหาร

สัตว์ หรือการทำลายวัตถุดิบปนเปื้อน พบว่ามีต้นทุนที่สูงและไม่คุ้มทุนในทางปฏิบัติ อีกทั้งยังมีข้อจำกัดของแหล่งวัตถุดิบทดแทน การเฝ้าระวังและสุ่มตรวจสอบคุณภาพวัตถุดิบอย่างสม่ำเสมอจะมีส่วนช่วยสร้างระบบการเตือน (alert system) ไปยังภาคส่วนที่มีความเกี่ยวข้องเพื่อให้เพิ่มความระมัดระวังในการนำไปใช้ เช่น ทำการปรับลดสัดส่วนการใช้ premix ที่มีปัญหาในขั้นตอนการผลิตแต่ละครั้ง เพื่อเป็นการลดปริมาณและความเสี่ยงที่สัตว์จะได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกาย นอกจากนี้ เกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ควรมีการจัดการระบบกำจัดของเสียภายในฟาร์มให้ได้มาตรฐาน ซึ่งจากการศึกษาในปี 2008 พบว่าฟาร์มสุกรที่ไม่มีระบบบำบัดน้ำเสีย เป็นต้นตอสำคัญที่ปลดปล่อยแคดเมียมลงสู่แหล่งน้ำใกล้ฟาร์มและแหล่งน้ำธรรมชาติ มากกว่าฟาร์มที่มีระบบบำบัดน้ำเสียในอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดวงจรของการปนเปื้อนเรื้อรังได้³⁵

ดังนั้น จะเห็นได้ว่าการลดปัญหาการปนเปื้อนแคดเมียมในผลิตภัณฑ์จากสัตว์จำเป็นต้องใช้มาตรการและมีแนวทางการปฏิบัติหลายด้าน และจำเป็นต้องอาศัยความร่วมมือทั้งจากภาครัฐและเอกชนทุกส่วนที่เกี่ยวข้อง ในขณะที่เดียวกัน บทบาทของผู้บริโภคก็นับว่ามีความสำคัญไม่ยิ่งหย่อนไปกว่ากัน การมีความรู้และความตระหนักถึงผลกระทบที่เกิดจากแคดเมียม รวมถึงการเข้าถึงข้อมูลข่าวสารในกรณีที่เกิดประเด็นปัญหา ล้วนมีส่วนช่วยให้ผู้บริโภคสามารถลดความเสี่ยง โดยหลีกเลี่ยงการบริโภคอาหารที่มีโอกาสปนเปื้อนแคดเมียมสูง นอกจากนี้ การส่งเสริมมาตรการการคัดทิ้งเครื่องใช้จากสัตว์ที่เสี่ยงในพื้นที่ปนเปื้อนและ/หรือสัตว์อายุมาก สามารถช่วยลดปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงสูงในวงจรอาหารของ

ผู้บริโภคได้ ซึ่งการดำเนินการในลักษณะเช่นนี้มีปฏิบัติในหลายประเทศ

สำหรับประเด็นการตกค้างของแคดเมียมในน้ำนมโคซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนสำคัญ การลดความเสี่ยงนั้นขึ้นอยู่กับติดตามและเฝ้าระวังการปนเปื้อน รวมทั้งการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมเป็นสำคัญ โดยเมื่อไม่นานมานี้มีการศึกษาพบว่า นอกจากปริมาณแคดเมียมที่ตกค้างในน้ำนมจะแปรผกผันกับปริมาณของแคลเซียมและไขมันในน้ำนมแล้ว¹⁷ ปริมาณแคลเซียมในน้ำนมยังแปรผกผันกับการดูดซึมแคดเมียมในลำไส้อีกด้วย^{36, 37} ดังนั้นการเลือกบริโภคน้ำนมที่มีแคลเซียมและไขมันสูง อาจเป็นแนวทางที่ช่วยลดความเสี่ยงได้ทางหนึ่ง อย่างไรก็ตาม ข้อมูลดังกล่าวเป็นเพียงการศึกษาในห้องทดลอง ที่ยังจำเป็นจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

บทสรุป

มาตรฐานด้านความปลอดภัยของอาหารเป็นประเด็นที่ถูกหยิบยกขึ้นมากล่าวถึงบ่อยครั้ง ทั้งในแง่สุขอนามัยโดยรวมของผู้บริโภค และในบริบทของการเป็นข้อต่อรองในระบบเปิดเสรีการค้าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน โดยการปนเปื้อนสารเคมีและยาสัตว์ในกลุ่มผลิตภัณฑ์จากสัตว์เป็นปัญหาพื้นฐานในหลายประเทศ รวมถึงประเทศไทย ซึ่งได้มีการเคลื่อนไหวและปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อประเด็นนี้มาโดยตลอด แต่มักมุ่งเน้นไปที่กลุ่มอาหารส่งออกเป็นหลัก ดังเช่นความพยายามในการถ่ายทอดข้อมูลเพื่อกระตุ้นให้ผู้ประกอบการเกิดความตื่นตัวต่อมาตรการที่ปรากฏใน “สมุดปกขาวความปลอดภัยของอาหารแห่งสหภาพยุโรป” หรือ “EU White Paper on Food Safety” เนื่องจากสามารถส่งผลกระทบต่อ การส่งออกสินค้าอาหารของไทย ส่วนมาตรฐานและการเฝ้าระวังด้านความปลอดภัย

ของอาหารเพื่อการบริโภคภายในประเทศนั้นพบว่าหลายหน่วยงานได้พยายามผลักดันให้มาตรฐานอาหารที่คนไทยบริโภคมีมาตรฐานเช่นเดียวกับอาหารส่งออก แต่การนำไปปฏิบัติจริงยังไม่พบว่ามี ความเข้มแข็ง คอลอบคลุม และต่อเนื่องเพียงพอ ซึ่ง การใส่ใจอย่างจริงจังในเรื่องความปลอดภัยของ

อาหารที่บริโภคภายในประเทศ นับเป็นปัจจัยสำคัญในเบื้องต้น ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพที่ดีของประชาชน ผู้เป็นพื้นฐานสำคัญต่อการพัฒนาของประเทศที่แท้จริง

ตารางที่ 1 ข้อกำหนดปริมาณแคดเมียมสูงสุดที่อนุญาตให้มีในผลิตภัณฑ์จากสัตว์ (International regulation and recommendations on maximum levels of cadmium in foods of animal origin)*

Product	Level (mg/kg wet weight)
Meat of bovine animals, sheep, pig and poultry	0.05
Horsemeat	0.2
Liver of cattle, sheep, pig and poultry	0.5
Kidney of of cattle, sheep, pig and poultry	1.0
Muscle meat of fish (excluding those in the next two bullets)	0.05
Muscle meat of anchovy, bonito, common two-banded seabream, eel, grey mullet, horse mackerel, louver, sardine, sardinops, tuna, wedge sole	0.1
Muscle meat of swordfish	0.3
Crustaceans (excluding brown meat of crab and excluding head and thorax meat of lobster and similar large crustaceans)	0.5
Bivalve mollusks	1.0
Cephalopods (without viscera)	1.0

*ที่มา: WHO/FAO 1998¹³ และ Commission regulation (EC) No. 78/2005 of 19 January 2005.¹⁴

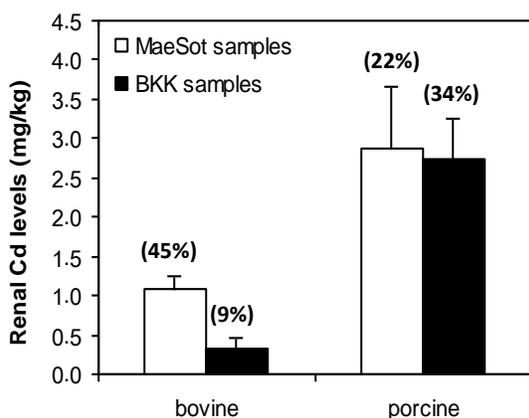
ตารางที่ 2 ระดับการปนเปื้อนของแคดเมียมในตัวอย่างไม่และระดับของโคขุนที่เลี้ยงแบบยืนโรงและแบบปล่อยทุ่งในบริเวณพื้นที่ปนเปื้อนแคดเมียม ในเขตอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก

	Renal Cd level (mg/kg)				Hepatic Cd level (mg/kg)		
	n	Mean ± sem	Min -Max	% Positive rate	Mean ± sem	Min -Max	% Positive rate
โคขุนยืนโรง	83	1.6 ± 0.2	0.2 - 7.6	59	0.3 ± 0.03	0.03 - 1.1	23
โคปล่อยทุ่ง	16	3.5 ± 1.2	0.4 - 19.6	69	0.6 ± 0.1	0.11 - 1.9	44

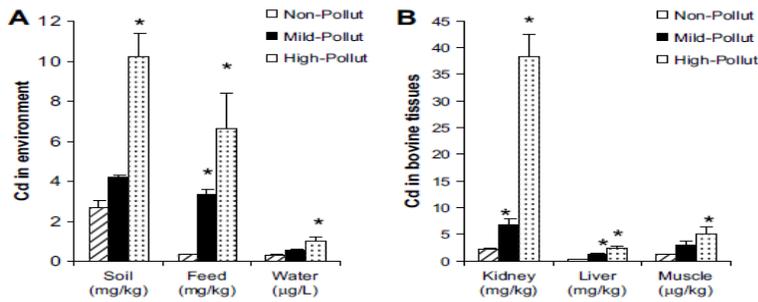
ตารางที่ 3 ระดับการตกค้างของแคดเมียมในตัวอย่างตับและไตของโค ที่มีการรายงานจากประเทศต่างๆ

	Renal Cd levels (mg/kg)	Hepatic Cd levels (mg/kg)	References
Mean	0.39	0.08	
Min – Max	0.11 - 1.35	0.02 - 0.25	Spain ²⁴
Age range: 2-16 yrs; N=56			
Mean	0.57	0.25	
Min – Max	0.13 - 1.06	0.05 - 0.79	Kazakhstan ²⁵
Age range: NA; N=140			
Mean	1.48	0.37	
Min – Max	0.35 - 3.52	0.10 - 0.58	Poland ²⁶
Age range: 2-12 yrs; N=19			
Mean	7.92	3.24	
Min – Max	0.01 - 117.00	BDL – 82.1	Jamaica ²⁷
Age range: NA; N=100			
Mean	6.64	1.31	
Min – Max	2.15 – 38.30	0.21 – 2.47	China ²⁸
Age range: 2-4 yrs; N=75			
Mean	1.21	0.37	
Min – Max	0.02 – 19.60	0.03 – 1.92	Thailand ²³
Age range: 2-9 yrs; N=80			

Note: BDL = below detection limit



ภาพที่ 1 ระดับของแคดเมียมในตัวอย่างไตโคและสุกรจากพื้นที่อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และจากกรุงเทพฯ-ปริมณฑล โดยตัวเลขในวงเล็บแสดงเปอร์เซ็นต์ของจำนวนตัวอย่างที่พบค่าแคดเมียมตกค้างสูงกว่าค่ามาตรฐาน (ตัดแปลงจาก 6)



ภาพที่ 2 ปริมาณแคดเมียมในสิ่งแวดล้อมและในเนื้อเยื่อของโค โดย A แสดงระดับการปนเปื้อนของแคดเมียมในสิ่งแวดล้อม และ B แสดงปริมาณแคดเมียมที่พบในตัวอย่างเนื้อเยื่อโค²⁸

เอกสารอ้างอิง

- Nordberg GF. Cadmium and health in the 21st Century – historical remarks and trends. *BioMetals* 2004; 17: 485–9.
- ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for cadmium, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 1999.
- WHO-IPCS. Environmental health criteria document 134 cadmium. Geneva: WHO, 1992.
- Järup L, Åkesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238, 201-8.
- วิภาดา ขจรอนเนกกุล สราวุธ ชูกระชั้น และวงศ์ขวัญ จิตนุพงษ์. การตรวจวัดปริมาณแคดเมียมในตับไก่ เป็ด และสุกร. กรมปศุสัตว์ 2551; เลขทะเบียนผลงานวิชาการ 51(2)-0304-141.
- Trakranrungsie N, Yatmark P, Ngamlamom P, *et al.* Investigation of cadmium levels in caprine, bovine and porcine kidneys from Maesot and SW vicinity of Bangkok, Thailand. In: Kanchanapangka S, Rungsipipat A, Ingkaninun P, editors. Proceedings of the 15th Congress of the Federation of Asian Veterinary Association; 2008 Oct 27-30; Bangkok, Thailand; 2008. p. O65-6.
- Nasreddine L, Parent-Massin D. Food contamination by metals and pesticides in the European Union. Should we worry? *Toxicol Lett* 2002; 127: 29-41.
- Figueroa EB. Are more restrictive food cadmium standards justifiable health safety measures or opportunistic barriers to trade? An answer from economics and public health. *Sci Total Environ* 2007; 389: 1-9.
- Prankel SH, Nixon RM, Phillips CJC. Implications for the human food chain of models of cadmium accumulation in sheep. *Environ Res* 2005; 97: 348-58
- JECFA. Summary and conclusions. Report of the Sixty-first Meeting of the Joint expert committee on food additives, Rome, 2003 June 10–19.
- อุदारัตน์ บุญรักษา อรทัย อร่ามพงษ์พันธ์ และลักษณะ หิมะคุณ. การปนเปื้อนแคดเมียมในปลาจากตลาดในกรุงเทพมหานคร. 31st Congress on Science and Technology of Thailand at Suranaree University of Technology; 2005 Oct 18-20.

12. อภิรดี เมืองเดช. ปริมาณโลหะหนักในหอยแครง (Anadara granosa) บริเวณปากแม่น้ำบางปะกง. วารสารวิทยาศาสตร์ 2545; 56: 312-23.
13. WHO-FAO. Joint FAO/WHO food standards programme. Codex committee on food additives and contaminants. Thirty-first Session. Discussion Paper on Cadmium, December 1998. Codex alimentarius commission (CX/FAC 99/21), 1998.
14. Commission regulation (EC) No. 78/2005 of 19 January 2005.
15. Patra RC, Swarup D, Naresh R, *et al.* Cadmium level in blood and milk from animals reared around different polluting sources in India. *Bull Environ Contam Toxicol* 2005; 74: 1092-7.
16. Patra RC, Swarup D, Kumar P, *et al.* Milk trace elements in lactating cows environmentally exposed to higher level of lead and cadmium around different industrial units. *Sci Total Environ* 2008; 404: 36-43.
17. Mehennaoui S, Delacroix BA, Duche A, *et al.* Comparative study of cadmium transfer in ewe and cow milks during rennet and lactic curds preparation. *Arch Environ Contam Toxicol* 1999; 37: 389-95.
18. Andrée S, Jira W, Schwind K-H, *et al.* Chemical safety of meat and meat products. *Meat Sci* 2010; 86: 38-48.
19. มนุรุต รุจิรวัดน์ และจุฑามาศ สัตยวิวัฒน์. พิษวิทยา สิ่งแวดล้อม. บริษัท ทรินิตี้ พับลิชชิ่ง จำกัด กรุงเทพฯ 2549. 336 หน้า
20. Falandysz J. Some toxic and essential trace metals in swine from Northern Poland. *Sci Total Environ* 1993; 136: 193-204.
21. Petersson Grawé K, Thierfelder T, Jorhem L, *et al.* Cadmium levels in kidneys from Swedish pigs in relation to environmental factors – temporal and spatial trends. *Sci Total Environ* 1997; 208: 111-122.
22. Sapunar-Postružnik J, Bažulić D, Grubelić M, *et al.* Cadmium in animal feed and in foodstuffs of animal origin. *Food Technol Biotechnol* 2001; 39: 67-71.
23. นพมาศ ตระการรังสี ชาวลิต นาคทอง ชูดีเพ็ญ บุรณะสินทรัพย์ ปิยะนาถ โคนิติ และปารณีย์ ญาติมาก. รายงานฉบับสมบูรณ์การศึกษาติดตามเพื่อประเมินปัญหาสุขภาพและระดับการตกค้างของแคดเมียมในเลือด ตับ และไตของวัวขุนที่เลี้ยงในเขตปนเปื้อนจังหวัดตาก. คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม, 2551. 27 หน้า.
24. López-Alonso M, Benedito JL, Miranda M, *et al.* Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *Sci Total Environ* 2000; 246: 237-48.
25. Farmer AA, Farmer AM. Concentrations of cadmium, lead and zinc in livestock feed and organs around a metal production center in eastern Kazakhstan. *Sci Total Environ* 2000; 257: 53-60.
26. Wlostowski T, Bonda E, Krasowska A. Free-ranging European bisons accumulate more cadmium in the liver and kidneys than domestic cattle in north-eastern Poland. *Sci Total Environ* 2006; 364: 295-300.
27. Nriagu J, Boughanen M, Linder A, *et al.* Levels of As, Cd, Pb, Cu, Se and Zn in bovine kidneys and livers in Jamaica. *Ecotox Environ Safe* 2009; 72: 564-71.
28. Cai Q, Long ML, Zhu M, *et al.* Food chain transfer of cadmium and lead to cattle in a lead-zinc smelter in Guizhou, China. *Environ Pollut doi: 10.1016/j.envpol.2009.05.048*; 2009.
29. Lindén A, Olsson I-M, Bensryd I, *et al.* Monitoring of cadmium in the chain from soil via crops and feed to pig blood and kidney. *Ecotox Environ Safe* 2003; 55: 213-22.
30. Farmer AA, Farmer AM. Concentrations of cadmium, lead and zinc in livestock feed and organs around a metal production centre in eastern

-
- Kazakhstan. *Sci Total Environ* 2000; 257: 53-60.
31. Watanabe T, Ikeda M, Moon CS, *et al.* Cadmium contents in rice samples from various areas in the world. *Sci Total Environ* 1996; 184: 191-6.
32. Watanabe T, Ikeda M, Moon CS, *et al.* Cadmium exposure of women in general populations in Japan during 1991-1997 compared with 1977-1981. *Int Arch Occup Environ Health* 2000; 73: 26-34.
33. Phaenark C, Pokethitiyook P, Kruatrachue M, *et al.* Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng zinc mine area. *Int J Phytoremediat* 2009; 11: 479-95.
34. Shi G, Cai Q. Cadmium tolerance and accumulation in eight potential energy crops. *Biotechnol Adv* 2009; 27: 555-61.
35. Phatanawanichchai M. Cadmium analysis in pig farm and canal system of the Mae Klong river. Faculty of Graduate Studies. Mahidol University, 2008.
36. Yuhas EM, Miya TS, Schnell RC. Influence of cadmium on calcium absorption from the rat intestine. *Toxicol Appl Pharmacol* 1978; 43: 23-31.

ประสบการณ์การดูแลรักษาผู้ป่วยรับประทานเห็ดพิษในโรงพยาบาลเลย 20 ปี (2533-2553)

แพทย์หญิงกรรณิการ์ นวัตกรรมกุล

กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลเลย

บทคัดย่อ

จังหวัดเลยเป็นจังหวัดชายแดนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ภูมิประเทศส่วนใหญ่เป็นภูเขาและป่าไม้ที่อุดมสมบูรณ์เหมาะสมเป็นแหล่งกำเนิดเห็ดชนิดต่างๆ ซึ่งพบมากในฤดูฝน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงกันยายนของทุกปี จะมีผู้ป่วยเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเลยด้วยปัญหารับประทานเห็ดป่าแล้วเกิดอาการผิดปกติ ส่วนใหญ่จะเป็นอาการของระบบทางเดินอาหาร เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ถ่ายเหลว เวียนศีรษะ ปวดศีรษะ เกิดภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน บางรายมีอาการของไตวายเฉียบพลัน ปวดกล้ามเนื้อ มีลักษณะของกล้ามเนื้ออักเสบเฉียบพลัน แต่ละปีมีผู้เสียชีวิต 1-2 ราย จากภาวะตับวายเฉียบพลัน บางปีเสียชีวิตเป็นครอบครัว 4 คนก็มี เห็ดส่วนใหญ่ที่นำมารับประทานก็เป็นเห็ดที่รู้จักกันเป็นที่แพร่หลายว่าเป็นเห็ดกินได้ แต่บางทีมีเห็ดพิษปะปนมาโดยผู้บริโภคไม่สามารถแยกได้ เช่น เห็ดระโงก เห็ดไคลหรือเห็ดตะไคล เห็ดถ่าน เห็ดปลวก เห็ดโคน เห็ดก่อ เห็ดผึ้ง เห็ดซาง เห็ดน้ำหมาก และเห็ดเครื่อง เห็ดเครื่อง หมายถึง เห็ดหลายๆ ชนิดที่เก็บได้เอามารวมกันจนได้ปริมาณที่ปรุงอาหารได้ ซึ่งส่วนมากมักเป็นไข่เห็ดคือเห็ดตูมที่ยังไม่บานซึ่งบางครั้งบอกไม่ได้ว่าเป็นเห็ดชนิดใด จากการศึกษาผู้ป่วยที่เสียชีวิตจากพิษของเห็ดตั้งแต่ปี 2533-2553 จำนวน 24 ราย ร้อยละ 80 เกิดจากการรับประทานเห็ดระโงก ที่เหลือจะเป็นเห็ดเครื่องและเห็ดไม่ทราบชนิด และมีผู้เสียชีวิตจากการรับประทานเห็ดถ่าน 3 ราย โดยอาการ อาการแสดงจะเริ่มจากอาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และหลังจากนั้นจะเกิดภาวะตับอักเสบ มี liver enzyme ขึ้นภายใน 48-72 ชั่วโมงหลังรับประทานเห็ด และอาการจะรุนแรงขึ้นจนถึงภาวะตับล้มเหลวเฉียบพลัน บางรายมีภาวะไตวายเฉียบพลันร่วมด้วย ถ้าอาการรุนแรงจะเสียชีวิตใน 5-7 วัน อาการดังที่กล่าวมานี้พบในพิษจากเห็ดระโงก ซึ่งเป็นเห็ดใน *Amanita species* เห็ดในสกุลนี้มีบางชนิดที่รับประทานได้ บางชนิดมีพิษรุนแรงมากจนถึงเสียชีวิตในเวลา 6-16 วัน ชนิดที่รับประทานได้เช่น เห็ดไข่เหือง หรือเห็ดระโงกเหือง (*Amanita hemibapha*) เห็ดไข่เหี่ยวม้า (*Amanita vaginata*) เห็ดระโงกบางชนิดมีพิษรุนแรงมาก มีสารพิษ Amatoxins พิษนี้จะทำลายตับและไต จนเกิดอาการตับวาย ไตวายเสียชีวิตได้ เห็ดระโงกพิษที่สำคัญมี 3 ชนิดคือ *Amanita phalloides*, *Amanita virosa*, *Amanita verna* ซึ่งมีชื่อตามภาษาท้องถิ่นคือ เห็ดระโงกหิน เห็ดระงาก หรือเห็ดสะงาก เห็ดไข่ตายซาก เห็ดระโงกดินตันหรือเห็ดระโงกดินเปา เห็ดระโงกที่รับประทานได้กับเห็ดระโงกพิษมีลักษณะแตกต่างที่สำคัญคือ เห็ดระโงกที่รับประทานได้ขอบหมวกบนมักจะเป็นริ้วคล้ายรอยหวิมิกกลิ่นหอมและก้านดอกกลวง ส่วนเห็ดระโงกที่มีพิษกลางดอกหมวกจะนูนขึ้นเล็กน้อย มักมีเก๋ริดเล็กๆ บนหมวกเห็ด บนก้านตอนบนมีวงแหวนเป็นแผ่นบางๆ สีขาว ซึ่งหลุดได้ง่าย โคนก้านโป่งเป็นกะเปาะใหญ่

และมีปลอกหุ้มโคนเป็นรูปถ้วยยึดติดกับก้านดอก ก้านดอกตันหรือเป็นรูที่ใสกลวงเล็กน้อย มีกลิ่นเอียน และกลิ่นค่อนข้างแรงเมื่อดอกแก่ ซึ่งลักษณะดังกล่าวจะเห็นเด่นชัดเมื่อดอกเห็ดบาน การเก็บเห็ดอ่อนที่ยังไม่บานหรือแตกออกจากระยะที่เป็นรูปไข่ จึงถือว่าเป็นการเลี่ยงต่อการเก็บเห็ดพิษมารับประทาน สารชีวพิษจากเห็ดระโงกเป็นสารที่มีพิษต่อตับ เป็นกลุ่ม cyclopeptide ซึ่งพบได้ในเห็ดตระกูลอื่นเช่น *Lepiota*, *Conocybe*, *Galerina* ประกอบด้วยสารชีวพิษ 2 จำพวกได้แก่ Amatoxins และ phallotoxins

Amatoxin ถูกดูดซึมได้ดีจากทางเดินอาหาร เป็นสารที่มีพิษรุนแรงต่อเซลล์ ออกฤทธิ์ขัดขวางการทำงานของ ribonucleic acid (RNA) polymerase เซลล์จึงสร้างโปรตีนไม่ได้และตายทำให้ตับถูกทำลาย นอกจากนี้เป็นพิษต่อไต ตับอ่อน ต่อมหมวกไต กล้ามเนื้อ และสมอง สามารถตรวจพบได้โดยการทำการทดสอบ Meixner ข้างเดียว โดยหยดน้ำจากกระเพาะอาหาร หรือ คั้นน้ำจากเห็ด หยดลงบนกระดาษกรอง แล้วทิ้งไว้ให้แห้ง หยดกรดเกลือ (HCl) เข้มข้นลงไป ถ้ามีสาร amatoxin จะมีสีฟ้าเกิดขึ้นในครึ่งชั่วโมง สารนี้จะถูกขับออกทางไต สามารถตรวจพบได้ในซีรัมและปัสสาวะด้วยวิธี radioimmunoassay แต่ไม่สะดวกในการใช้ทางคลินิก phallotoxins เป็นสารที่เป็นพิษต่อตับรุนแรงมาก แต่ถูกดูดซึมได้น้อยจากทางเดินอาหาร จึงเป็นพิษต่อร่างกายน้อย ทำให้เกิดอาการคล้ายทางเดินอาหารอักเสบในช่วงต้นเท่านั้น

ลักษณะทางคลินิก แบ่งออกเป็น 3 ระยะคือ ระยะต้นเกิดขึ้นใน 6-12 ชั่วโมงหลังรับประทานอาหาร ผู้ป่วยจะมีอาการทางเดินอาหารอักเสบอย่างรุนแรง ท้องร่วงอย่างแรง ถ่ายเหลวเป็นน้ำคล้ายขี้หวาด อุจจาระอาจมีมูกเลือดปน ถ้าไม่ได้รับการรักษาผู้ป่วยอาจตายในระยนี้ ถ้าได้รับการรักษาประคับประคองโดยการให้สารน้ำและเกลือแร่จนผู้ป่วยอาการดีขึ้น จะเข้าสู่ระยะที่ 2 ในระยะนี้ดูเหมือนผู้ป่วยจะไม่มีอาการอะไร แต่จะตรวจพบเอ็นไซม์ตับสูงขึ้นเรื่อยๆ จนกระทั่งหลังรับประทาน 2-4 วัน จะเข้าสู่ระยะที่ 3 มีอาการตับอักเสบ ไตวาย หัวใจวาย ตับอ่อนอักเสบ เลือดเป็นลิ่มแพร่กระจาย (DIC) ชัก และถึงแก่กรรม การตรวจทางพยาธิวิทยาจะพบ hepatic necrosis โดยเฉพาะบริเวณ centrilobular

การรักษา เช่นเดียวกับผู้ป่วยได้รับสารพิษทั่วไปประกอบด้วย การรักษาประคับประคองให้ผู้ป่วยฟื้นจิตอันตราย, การลดการดูดซึม และเร่งขับสารพิษออกจากร่างกาย โดยการทำให้อาเจียน, ให้ activated charcoal 1 g/kg และให้ซ้ำทุก 4 ชั่วโมง มียาต้านพิษหลายตัวที่มีการแนะนำให้ใช้ และถึงแม้ยังไม่มีการศึกษาที่มีการควบคุมอย่างดีพอก็อาจทดลองใช้ได้ เนื่องจากสารชีวพิษนี้เป็นอันตรายอย่างมาก ยาต้านพิษที่มีผู้แนะนำคือ

Penicillin G. ให้เข้าหลอดเลือดดำขนาด 300,000 ถึง 1,000,000 U/kg/day เชื่อว่าสามารถป้องกันเซลล์ตับได้ โดยยับยั้งไม่ให้เซลล์ตับรับสารพิษเข้าไปในเซลล์ และจับกับ plasma protein binding sites แลกที่กับสารพิษ ทำให้ amatoxin ถูกขับออกทางไตเพิ่มขึ้น

Silibinin (Legalon) เป็นส่วนประกอบของ silymarin แยกได้จากยางไม้มีหนาม จำพวกผักโขม (*Silybum marianum*) สามารถยับยั้งการจับตัวของสารพิษกับเซลล์ตับ ขนาดที่ให้ 20-50 mg/kg/day เป็นระยะเวลา 48-96 ชั่วโมง จนกว่าตับอักเสบดีขึ้น

Thioctic acid (alpha lipoic acid) เริ่มต้นให้เมื่อผู้ป่วยเริ่มมีเอ็นไซม์ตับ aminotransferase สูงขึ้น โดยหยดเข้าหลอดเลือดดำขนาด 75 mg/day และถ้าผู้ป่วยหมดสติอาจเพิ่มได้ถึง 500 mg/day จนกว่าระดับ AST และ ALT เริ่มลดลง เชื่อว่ายานี้ออกฤทธิ์เป็น free radical scavenger และออกฤทธิ์เป็น coenzyme ในปฏิกิริยา oxidative decarboxylation ในเนื้อเยื่อของตับ

N-acetylcystein จัดเป็น antidote ใน Mushroom induced liver toxicity โดยให้ในขนาด loading dose 150 mg/kg dilute in 5%DW 200 ml ใน 15 นาที หลังจากนั้น 50 mg/kg dilute in 5%DW 500 ml ใน 4 ชั่วโมง และต่อด้วย 100 mg/kg dilute in 5%DW 1,000 ml ใน 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นให้ 100 mg/kg/day จนกว่าตับอักเสบดีขึ้น

เนื่องจากผู้ป่วยอาจเกิดภาวะน้ำตาลต่ำได้ จึงควรให้ glucose, thiamine และ ascorbic acid รวมทั้งอาจให้ hyperbaric oxygen, cimetidine, corticosteroids, cephalosporins, cytochrome C, bile salts, heavy metal salts, D-penicillamine และ diethyldithiocarbamate

นอกจากนี้ควรให้สารน้ำอย่างเพียงพอเพื่อเร่งการขับปัสสาวะ และอาจทำ hemodialysis, plasmapheresis, hemofiltration และ hemoperfusion ในกรณีที่ผู้ป่วยด้อยอย่างรุนแรง การเปลี่ยนตับอาจช่วยรักษาชีวิตผู้ป่วยไว้ได้

จากรายงานในต่างประเทศ เห็ดพิษในกลุ่ม Amanita เป็นสาเหตุการตายจากการรับประทานเห็ดพิษถึงร้อยละ 90 ในกลุ่มผู้ป่วยที่รับประทานเห็ดพิษที่มี Amatoxins มีอัตราตายร้อยละ 30-50 ขึ้นอยู่กับขนาดของพิษที่ได้รับ ถ้าได้รับพิษเข้าไปมาก อัตราตายสูงถึงร้อยละ 100 ถ้าได้รับการรักษาที่เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการรักษาประคับประคองอย่างใกล้ชิด สามารถลดอัตราตายลงเหลือเพียงร้อยละ 5

ตั้งแต่ปี 2533-2541 เริ่มมีการดูแลผู้ป่วยที่รับประทานเห็ดพิษและมีการเก็บข้อมูลที่มีระบบดีขึ้น ในบางปีมีผู้เสียชีวิตจากการรับประทานเห็ดระโงกแล้วเกิดตับวายเฉียบพลันเกือบหมดยกเว้น 4-5 ราย การรักษาในขณะนั้นยังไม่มีการรักษาจำเพาะหรือการให้ยาแก้พิษที่มีการศึกษาและเป็นที่ยอมรับกัน จึงได้พยายามช่วยชีวิตผู้ป่วยด้วยการทำ Exchange transfusion เนื่องจากในขณะนั้นยังไม่ได้เปิดหน่วยไตเทียม ไม่สามารถทำ dialysis หรือ hemoperfusion ได้ ร่วมกับการรักษาประคับประคองโดยการให้สารน้ำ PGS high dose, Cimetidine และรักษา Hepatic encephalopathy มีผู้ป่วยเข้ารับการรักษาด้วยอาการพิษจากเห็ด 40 ราย ส่วนมากเป็นเห็ดระโงก มีเห็ดเครื่อง 5 ราย เห็ดไม่ทราบชนิด 3 ราย ปีไหนที่ฝนตกชุกมีเห็ดมาก ก็มีผู้ป่วยมาก

ส่วนมากมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เวียนศีรษะ ปวดท้อง ถ่ายเหลว จำนวน 22 ราย ได้รับการรักษาประคับประคอง อาการดีขึ้นทุกราย กลุ่มที่มีอาการรุนแรงคือมีไตวาย ตาเหลือง ตับวาย มี 18 ราย เสียชีวิต 13 ราย รอดชีวิต 5 ราย ในกลุ่มที่มีอาการรุนแรง รับประทานเห็ดระโงกมาทั้งหมด ผู้ป่วยที่รับประทานเห็ดระโงกที่มีอาการตับวาย ไตวาย ทั้ง 18 ราย ได้รับการทำ Exchange transfusion ทั้งหมดร่วมกับการรักษาประคับประคอง โดยการให้สารน้ำ PGS, Cimetidine, Vitamin C และรักษา Hepatic encephalopathy ผลการรักษารอดชีวิต 5 ราย เสียชีวิต 13 ราย จากการศึกษาพบว่า ถ้าเริ่มทำ Blood Exchange transfusion เร็วคือ 4-5 วัน หลังจากเริ่มรับประทานเห็ด และก่อนที่จะเกิด oliguric renal failure (creatinine ไม่เกิน 4 mg/dL) ผู้ป่วยมีโอกาสรอดชีวิตมากกว่าการทำ Blood Exchange transfusion หลังรับประทานเห็ดมาเกินกว่า 5 วัน และหรือมี oliguric renal failure แล้ว มีผู้ป่วย 6 ราย ในรายงานนี้ ไม่สามารถทำ Blood Exchange transfusion ได้ภายใน 5 วันหลังรับประทานเห็ดระโงก ทั้งที่ผู้ป่วยมาพบแพทย์ ตั้งแต่ระยะแรกของการเกิดอาการ เนื่องจากขาดเลือด การทำ Blood Exchange transfusion น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่ง สำหรับผู้ป่วยที่รับประทานเห็ดพิษ กลุ่ม cyclopeptides ที่เกิดอาการ acute renal failure และ hepatic failure และควรทำก่อนที่ creatinine จะเกินกว่า 4 mg/dL

การรักษาด้วยการเปลี่ยนถ่ายเลือดได้ทำอยู่บ้าง แต่ก็ลดลงเพราะมีปัญหาเรื่องการหาเลือด การเสี่ยงต่อภาวะแทรกซ้อนในการทำ Exchange transfusion และถือว่าไม่ใช่วิธีมาตรฐานการรักษา ตั้งแต่ปี 2549 เริ่มมีการใช้ N-acetylcysteine ในการรักษาภาวะตับอักเสบจากการกินเห็ดพิษ จากรายงานในต่างประเทศ และก็เริ่มใช้กับผู้ป่วยที่มีตับอักเสบจากเห็ดพิษที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเลย ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2549 – 30 กันยายน 2552 พบว่ามีผู้ป่วยจากเห็ดพิษทั้งหมด 241 ราย อาการที่พบส่วนใหญ่เป็นอาการทางระบบทางเดินอาหาร (237 ราย , ร้อยละ 98.4) ได้แก่ ปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน และถ่ายเหลว อาการอื่นๆที่พบ 4 ราย ได้แก่ มีไข้ เวียนศีรษะ ผื่นคัน และอาการชามือและเท้า ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ พบว่าส่วนใหญ่ผลตรวจปกติ 191 ราย (ร้อยละ 74.3) ภาวะไตวายเฉียบพลัน 11 ราย (ร้อยละ 4.6) ตับอักเสบ 31 ราย (ร้อยละ 12.9) ภาวะเกลือแร่ผิดปกติ 40 ราย (ร้อยละ 16.6) และ Rhabdomyolysis 3 ราย (ร้อยละ 1.2 เกิดจากรับประทานเห็ดถ่าน เห็ดไม่ทราบชนิด และเห็ดนางรม) ระยะเวลาที่เริ่มมีอาการทางระบบทางเดินอาหารหลังรับประทานเห็ดพบตั้งแต่ 30 นาทีถึงมากกว่า 12 ชั่วโมงหลังรับประทานเห็ด โดยพบว่าในผู้ป่วยที่มีอาการไม่รุนแรงส่วนใหญ่เกิดอาการหลังรับประทานเห็ดภายใน 4 ชั่วโมง สำหรับผู้ป่วยที่มีภาวะตับอักเสบส่วนใหญ่เกิดจากการรับประทานเห็ดระโงก รองลงมาคือ เห็ดเครื่อง โดยระยะเวลาที่เกิดตับอักเสบหลังรับประทานเห็ดพบตั้งแต่ 4 ชั่วโมงจนถึง 7 วัน

ตารางที่ 1 สรุปผลทางห้องปฏิบัติการผู้ป่วยที่รอดชีวิตและเสียชีวิตจากการรับประทานเห็ดระโงกพิษและได้รับการทำ Exchange transfusion โรงพยาบาลเลย ปี 2533-2541

เวลาที่เริ่มทำ Exchange transfusion หลังจากรับประทานเห็ด	รอดชีวิต (5 ราย) 4-5 วัน	เสียชีวิต (13 ราย) มากกว่า 6 วัน
BUN	22.0-61.2 mg/dl	63.0-165.0 mg/dl
Creatinine	2.4-4.0 mg/dl	5.4-10.8 mg/dl
Total Bilirubin	7.0-16.0 mg%	25.0-50.2 mg%
Direct Bilirubin	6.2-10.5 mg%	20.15-47.0 mg%
SGOT	645-990 U/L	880-3200 U/L
SGPT	374-587 U/L	891-3800 U/L

“Mushroom Poisoning in Northeastern Thailand”

Kannika Niwattayakul, Surachai Niwattayakul and Visith Sitprija.

(Poster presentation “Fifth Asia-Pacific Congress on Animal, Plant and Microbial toxins”

วันที่ 12-15 ตุลาคม 2542 ณ โรงแรมรอยัล คลิฟ บีช พัทยา จังหวัดชลบุรี

หลังจากนั้นเริ่มมีการประชาสัมพันธ์ให้ประชาชนระวังในเรื่องการบริโภคเห็ดในช่วงฤดูฝนแต่ก็ยังมีผู้ป่วยเข้ามารับการรักษาอยู่ทุกปี

ตารางที่ 2 แสดงผู้ป่วยที่รับประทานเห็ดพิษที่เข้ามารับการรักษาโรงพยาบาลเลย

ปีงบประมาณ	จำนวนผู้ป่วย	จำนวนผู้ป่วยตาย
2548	92	1
2549	38	0
2550	61	1
2551	110	1
2552	87	1
2553	71	1

ผู้ป่วยทุกรายที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเลย ได้รับการรักษาแบบประคับประคอง (Supportive treatment) โดยให้สารน้ำทดแทน แก้ไขภาวะเกลือแร่ผิดปกติ และแก้ไขสมดุลของกรดต่าง ผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเฉียบพลัน ได้รับการรักษาด้วย Hemodialysis 1 ราย ผู้ป่วยตับอักเสบ 31 ราย ได้รับการรักษาด้วย N-acetylcystein 17 ราย รับการรักษาด้วย N-acetylcystein ร่วมกับ Blood exchange 2 ราย ที่เหลืออีก 12 ราย ได้รับการรักษาแบบประคับประคอง ผลการรักษา พบว่า ผู้ป่วย 239 ราย (ร้อยละ 99.1) อาการดีขึ้นอนุญาตให้กลับบ้านได้ ผู้ป่วย 2 รายมีอาการรุนแรง ญาติปฏิเสธการรักษาต่อ (ทั้ง 2 รายพบภาวะตับอักเสบร่วมด้วย) ผลการรักษาผู้ป่วยตับอักเสบ 31 ราย พบว่า ในผู้ป่วย 19 รายที่รักษาด้วย N-acetylcystein พบว่า 18 รายอาการดีขึ้น มี 1 รายอาการรุนแรง หลังรักษาอาการไม่ดีขึ้น มีภาวะ Multiorgan failure ญาติปฏิเสธการรักษาต่อ ผู้ป่วย 12 รายที่รักษาด้วยวิธีประคับประคอง อาการดีขึ้น 11 ราย อีก 1 ราย อาการไม่ดีขึ้นญาติปฏิเสธการรักษาต่อ

จากการเก็บข้อมูลของโรงพยาบาลเลขาข้างต้น พบว่ามีผู้ป่วยที่เกิดพิษจากการรับประทานเห็ดถ่าน 2 ราย โดยผู้ป่วยรายแรกเริ่มมีอาการทางระบบทางเดินอาหาร 2-3 ชั่วโมงหลังรับประทานเห็ด เกิด Rhabdomyolysis และ hepatitis ประมาณ 5-6 ชั่วโมงหลังรับประทาน โดยมีค่า ตับอักเสบและค่าCPK สูงสุดในวันที่ 4 หลังรับประทานเห็ด (CPK 21,637 U/L, AST 1,551 U/L, ALT 538 U/L) โดยไม่พบภาวะแทรกซ้อนอื่น ในผู้ป่วยรายที่ 2 พบอาการทางระบบทางเดินอาหารและมีเพียงตับอักเสบเล็กน้อยในวันแรก การรักษาผู้ป่วยเห็ดพิษทั้ง 2 ราย ให้การรักษาด้วยวิธีประคับประคอง และแก้ไขภาวะตับอักเสบด้วยการให้ N-acetylcystein พบว่าทั้งผู้ป่วยทั้ง 2 รายตอบสนองต่อการรักษาดี และสามารถกลับบ้านได้

เห็ดถ่าน เป็นเห็ดที่พบได้ในจังหวัดเลย ที่เรียกเห็ดถ่านเนื่องจาก ดอกเห็ดเวลาบานเต็มที่จะเปลี่ยนเป็นสีดำ เห็ดถ่านมี 2 ชนิด คือเห็ดถ่านใหญ่และเห็ดถ่านเล็ก

เห็ดถ่านเล็ก⁽⁵⁾ เป็นเห็ดที่สามารถกินได้ มีลักษณะสีขาวนวล พบได้ในทั่วโลก และมีเขตการกระจายพันธุ์ในประเทศไทยทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จะขึ้นเป็นดอกเดี่ยวในป่าก่อ ป่าตองดิง และป่าสน

ลักษณะ - หมวกเห็ด เห็ดถ่านเล็กจะมีหมวกเห็ดเป็นสีขาวนวล เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 4 - 6 เซนติเมตร กลางหมวกจะเว้าคิ่น ผิวเรียบ แต่จะหนืดเมื่อจับ

- **ครีบ** มีสีขาวนวล บาง เรียงชิดกันและยึดติดกับก้าน

- **ก้าน** ส่วนก้านจะมีสีขาวนวลเช่นเดียวกับหมวกเห็ดและครีบ ยาวประมาณ 1 - 2 เซนติเมตร และเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 - 1.2 เซนติเมตร มีผิวเรียบและภายในสีขาว สีดอกเห็ดจะค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำหรือสีดำ และเมื่อนึกขาคหรือขั้วสีของดอกเห็ดจะเปลี่ยนแปลงเร็วขึ้น

- **สปอร์** สปอร์ของเห็ดถ่านเล็กจะมีลักษณะค่อนข้างกลม และมีสีขาว ขนาดประมาณ 6x7 ไมครอน มีสันนูนสานกันเป็นร่างแห และมีติ่ง 1 อัน

- **ชนิด** เห็ดถ่านเล็กสามารถจำแนกได้ 4 ชนิด

1. *R. densifolia* (Secr.) Grill

2. *R. aduata* Fr.

3. *R. acrifolia* Romagn

4. *R. albonigra* Krombh.

แต่ 3 ชนิดหลังยังสำรวจไม่พบในประเทศไทย

เห็ดถ่านใหญ่

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Russula nigricans* (Bull.) Fr. ชื่อพ้อง *Agaricus nigricans* Bull. วงศ์ Russulaceae ชื่ออื่น ๆ คือ เห็ดโกโก้ (เห็ดเนื้อ) ชื่อสามัญ Blackening Russula พบในป่าทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย

ลักษณะทั่วไป เห็ดถ่านใหญ่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของดอกประมาณ 10 - 12 เซนติเมตร รูปร่างเกือบคล้ายกรวยเมื่อเวลาบานเต็มที่ ผิวหมวกเห็ดด้านบนเรียบ เมื่อดอกเห็ดบานใหม่ ๆ มีสีขาวนวลแล้วค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีดำ เมื่อดอกเห็ดบานเต็มที่ที่ริบหมวกเห็ด มักจะมีรอยฉีกขาดเป็น แหว่ง ๆ และขอบหมวกจะเป็นคลื่นบิดงอขึ้นเล็กน้อยหรือรอยขาดด้วย ก้านดอกเห็ดยาวประมาณ 5 - 6 เซนติเมตร มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 - 2 เซนติเมตร มีสีขาวแต่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและดำ ผิวเนื้อด้านบนนอกเรียบ เนื้อภายในก้านดอกมีสีขาว ละเอียดและมีลักษณะยืดหยุ่นน้อยๆ ดอกเห็ดถ่านมีลักษณะแห้งและเปราะบางกว่าดอกเห็ดฟางเล็กน้อย

สปอร์ ของเห็ด รูปค่อนข้างกลม สีขาว มีหนามละเอียดโดยรอบและมีหนามใหญ่หนึ่งอัน ขนาดสปอร์ 7-8 x 6 ไมโครเมตร ⁽¹⁾

แหล่งที่พบ เห็ดถ่านใหญ่อำเภอนินสง่าพบที่ป่าสงวนโคกใหญ่ ขอบขึ้นบนพื้นดินในป่าละเมาะที่เป็นดินลูกรัง ดินร่วน และหน้าดินเป็นธรรมชาติไม่เคยถูกทำลายมาก่อน เห็ดถ่านใหญ่เกิดเป็นดอกเดี่ยวอิสระและอยู่กระจัดกระจายไม่ชุกชุมเหมือนเห็ดอื่น ๆ

ฤดูที่พบ เห็ดถ่านใหญ่พบได้ในฤดูฝนเดือนพฤษภาคม - กันยายน จะพบในช่วงที่มีความชื้นสูงอากาศร้อนอบอ้าว

ประโยชน์ เห็ดถ่านใหญ่เป็นเห็ดที่รับประทานได้ รสชาติดีเป็นที่ดีเป็นที่นิยมบริโภคของชาวบ้านและขายได้ราคาแพง

จากข้อมูลข้างต้นเกี่ยวกับเห็ดถ่านที่พบในประเทศไทย รายงานว่าเป็นเห็ดที่กินได้ไม่มีพิษ ไม่เคยมีรายงานในประเทศไทยเกี่ยวกับพิษจากเห็ดถ่านมาก่อน มีเพียงแต่เห็ดในกลุ่ม *Russula species* ตัวอื่นที่จัดอยู่ในกลุ่มที่สร้างสารพิษทาง Gastrointestinal irritant คือ *Russula emetica* (เห็ดแดงน้ำหมากร) ซึ่งลักษณะภายนอกแตกต่างกับเห็ดถ่าน ข้อมูลในต่างประเทศพบว่า มีรายงานในประเทศไต้หวันเมื่อ ค.ศ. 2001 ⁽⁶⁾ รายงานผู้ป่วย 2 รายที่รับประทานเห็ด *Russula subnigricans* แล้วเกิดพิษรุนแรง ข้อมูลที่ได้จากรายงานฉบับนี้คือ พบผู้ป่วยทั้งหมด 9 ราย (ผู้ชาย 8 ราย และผู้หญิง 1 ราย) มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเหลว หลังรับประทานเห็ดประมาณ 2 ชั่วโมง ผู้ป่วย 7 รายอาการดีขึ้นเองภายใน 1 วันด้วยการดูแลตัวเองที่บ้าน ส่วนอีก 2 รายมีอาการรุนแรงได้รับเข้ารักษาตัวในโรงพยาบาล ผู้ป่วยรายแรกเป็นผู้ป่วยชายอายุ 60 ปี มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเหลว หายใจหอบเหนื่อย และปวดตามกล้ามเนื้อหลังกินเห็ดประมาณ 7 ชั่วโมง เข้ารักษาตัวในโรงพยาบาล ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการแรกพบค่าผล CBC , Renal function , และ electrolyte ปกติ ที่พบผิดปกติคือตับอักเสบ (AST 117 U/L , ALT 343 U/L) , LDH 361 U/L และ CK 12,551 U/L การรักษาที่ให้แรกเริ่มคือ การให้สารน้ำ ต่อมาผู้ป่วยหายใจหอบเหนื่อย ชีพจร ความดันโลหิตต่ำได้ใส่ท่อช่วยหายใจ ให้ Dopamine และในวันที่ 3 มีการทำงานของไตแยลง ตับอักเสบ ค่า

CK สูงขึ้น และมีเกลือแร่ผิดปกติ (BUN 44 mg/dl, Cr 2.3 mg/dl , CK 204,500 U/L , ALT 1,660 U/L, AST 6,780 U/L , K 6.5) ได้ทำ Hemodialysis และรักษาประคับประคองนาน 2 สัปดาห์ อาการดีขึ้นและกลับบ้านได้หลังได้รับการรักษาในโรงพยาบาลเป็นระยะเวลา 33 วัน โดยค่า CK สูงที่สุด 246,600 U/L ในวันที่ 5 หลังกินเห็ด สำหรับผู้ป่วยรายที่ 2 เป็นผู้ป่วยหญิง อายุ 46 ปี มีอาการหายใจลำบาก และปวดกล้ามเนื้อหลังรับประทานเห็ด 6 ชั่วโมง ผลการตรวจเลือดแรกพบค่า ค่า CK 2,225 U/L , LDH 278 U/L, AST 79 U/L, ALT 28 U/L, BUN 18 mg/dl, Cr 0.8 mg/dl การรักษาในรายนี้คือการให้สารน้ำ โดยค่า CK สูงที่สุดในวันที่ 2 คือ 14,230 U/L อาการดีขึ้นโดยไม่มีไตวายและภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ

จากประสบการณ์ 20 ปี ในการดูแลผู้ป่วยรับประทานเห็ดพิษในโรงพยาบาลเลย สรุปได้ว่า เห็ดที่มีพิษที่ทำให้เสียชีวิต หรือมีอาการรุนแรง คือเห็ดระโงกและเห็ดถ่าน การที่จะวินิจฉัยภาวะเห็ดเป็นพิษนั้น ที่สำคัญคือจะต้องนึกถึงประวัติของการรับประทานเห็ดมาก่อนเกิดอาการ เพราะอาการ โดยทั่วไปก็เหมือนอาหารเป็นพิษธรรมดา ในระยะแรกคือ อาการปวดท้อง คลื่นไส้ อาเจียน ถ่ายเหลวเหมือนอาหารเป็นพิษจากสาเหตุอื่นๆ บางทีที่เป็นเห็ดพิษที่ออกฤทธิ์ช้า ผู้ป่วยอาจลืมไปแล้วว่า รับประทานเห็ดเข้าไปก่อนเกิดอาการ หรือถ้าเกิดในเด็ก ผู้ปกครองอาจไม่ทราบว่าเด็กไปเก็บเห็ดมารับประทาน ทำให้การวินิจฉัย การรักษาอาจล่าช้าพลาดได้ ดังนั้นในพื้นที่ที่มีเห็ดป่าชุกชุมในฤดูฝน และชาวบ้านนิยมบริโภคเห็ดป่ากันมากที่จังหวัดเลย ถ้ามีผู้ป่วยมาด้วยอาการอาหารเป็นพิษ ตาเหลือง ปัสสาวะออกน้อย (food poisoning, hepatitis, acute renal failure) แพทย์ควรซักประวัติการรับประทานเห็ดด้วยเสมอ

เอกสารอ้างอิง

1. อนงค์ จันทร์ศรีกุล. เห็ดเมืองไทย. ครั้งที่3. กรุงเทพฯ: ไทยวัฒนาพานิช; 2530.
2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.ความรู้เกี่ยวกับเห็ดมีพิษ. ครั้งที่1.นนทบุรี:บริษัท 1241 มิราคูลัส จำกัด;2551
3. สมิง เก่าเจริญ, รังสฤษฎ์ กาญจนระวีนิษฐ์.เห็ดพิษ.คลินิก2538;11(1):34-43.
4. สมาคมนักวิจัยและเพาะเห็ดแห่งประเทศไทย.เห็ดพิษ.กรุงเทพฯ:นิเวศรรวมการพิมพ์;2543.
5. เห็ดถ่านเล็ก.<http://th.wikipedia.org>
6. Lee, PT, Wu, ML, et al. Rhabdomyolysis: an unusual feature with mushroom poisoning. Am J Kidney Dis 2001;38:E17.

เห็ดพิษและสารพิษจากเห็ด

รศ. พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์

ข้าราชการบำนาญ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

บทคัดย่อ

เห็ดและราขนาดใหญ่เป็นอาหารที่นิยมรับประทานกันมากเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีรสชาติดี จนได้มีการนำเห็ดที่รับประทานได้มาเพาะเลี้ยงในอุตสาหกรรมอาหารมากมาย เห็ดราบางชนิดที่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงให้ออกดอกในวัสดุเพาะได้แต่มีรสชาติดีจึงนิยมเก็บเห็ดราจากสภาพนิเวศธรรมชาติเช่นพวกเห็ดป่ามารับประทาน ปัญหาที่เกิดขึ้นในฤดูฝนทุก ๆ ปีคือมีผู้เก็บเห็ดราจากป่ามารับประทานและมีอาการเจ็บป่วยจนถึงตาย เนื่องจากการรับประทานเห็ดราที่เป็นพิษเข้าไปเนื่องจากสับสนกับเห็ดราที่รับประทานได้ สารพิษในเห็ดราแบ่งออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. Protoplasmic poisons เป็นกลุ่มของสารพิษที่เข้าทำลายเซลล์และตามมาด้วยการล้มเหลวของอวัยวะเช่น ตับและไต ประกอบด้วยสารพิษกลุ่มต่าง ๆ คือ

1.1 สารพิษ Cyclopeptide ได้แก่

1.1.1 Amatoxin (Amanitin) สารพิษชนิดนี้มีพิษถึงตายประกอบด้วยราในสกุล *Amanita*, *Galerina*, *Lepiota*

1.1.2 Phallotoxin (Phalloidins) สารพิษชนิดนี้มีพิษถึงตายประกอบด้วยราในสกุล *Amanita*, *Galerina*, *Lepiota*

1.2 สารพิษ Monomethy hydrazine (Gyromitrins) สารพิษชนิดนี้มีพิษตั้งแต่ทำให้คลื่นเหียน อาเจียน ท้องเสีย และอาจถึงตายได้ในรายที่รุนแรงโดยเกิดการล้มเหลวของตับ ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Gyromitra*, *Verna*

สารพิษ Orellanine เป็นกลุ่มสารพิษที่ไม่รุนแรงมากแต่ในบางรายที่รับประทานเข้าไปมากและมีอาการแพ้จะมีการทำลายไตและอาจถึงตายได้ ประกอบด้วยราในสกุล *Cortinarius*

2. Neurotoxin เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดอาการกับระบบประสาทเช่นเคลิบเคลิ้ม ตื่นเต้น สดุดหุด เหงื่อออกมาก โคม่า ชัก ประกอบด้วยสารพิษกลุ่มต่าง ๆ คือ

2.1 Muscarine ส่วนใหญ่มีเหงื่อออกมาก น้ำตา น้ำลายไหล ชีพจรช้า ความดันโลหิตต่ำ ในเด็กอาจเสียชีวิตได้ ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Clitocybe*, *Inocybe*,

2.2 Ibotenic acid (Muscimol) มีอาการเมาเคลิบเคลิ้ม เพื่อฝัน หลับลึก ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Amanita*, *Tricholoma*,

2.3 Psilocybin มีอาการเคลิบเคลิ้ม เพื่อฝัน อาเจียน หมดแรง เป็นเห็ดเมาที่มีผู้นิยมเสพกันมาก ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Psilocybe*, *Panaeolus*, *Conocybe*, *Gymnopilus*

3. Gastrointestinal irritant เป็นสารพิษที่เกิดอาการรวดเร็ว เช่นคลื่นเหียน อาเจียน ท้องเสีย เป็นตระกูลที่ช่องท้อง ไม่รุนแรงถึงเสียชีวิต ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Amanita*, *Agaricus*, *Boletus*, *Chlorophyllum*, *Entoloma*, *Gomphus*, *Hebeloma*, *Lactarius*, *Lepiota*, *Lycoperdon*, *Naematoloma*, *Nolanea*, *Paxillus*, *Pholiota*, *Polyporus*, *Russula*, *Ramaria*, *Scleroderma*, *Tricholoma*, *Verpa*

4. Disulfiram-like poisoning (Coprine) เป็นสารพิษที่จะแสดงอาการเร็วตั้งแต่ 5-10-30 นาทีหลังจากรับประทานเห็ดเข้าไป ประกติจะไม่เป็นพิษยกเว้นมีการดื่มแอลกอฮอล์ในช่วง 24-72 ชั่วโมงก่อนหรือหลังรับประทานเห็ดจึงจะปรากฏอาการพิษ โดยจะมีอาการร้อน เหงื่อออก หน้าแดงลงมาถึงหน้าอก ปวดหัว อาเจียน ประกอบด้วยเห็ดราในสกุล *Clitocybe*, *Coprinus*

ทั้งนี้เห็ดราบางชนิดอาจมีสารพิษมากกว่าหนึ่งอย่าง จึงอาจมีอาการที่ผสมกันอยู่ เห็ดราบางชนิดผู้ป่วยอาจมีอาการไม่เท่ากัน ขึ้นอยู่กับความต้านทานของแต่ละบุคคล การรับประทานเห็ดป่าจึงต้องให้แน่ใจว่าเป็นเห็ดที่รับประทานได้ โดยเฉพาะเห็ดที่ยังอ่อนอยู่จะมีความเสี่ยงในการรับประทานผิดพลาดมาก

การรักษาภาวะพิษเฉียบพลันด้วยการบริหาร Lipid emulsion ทางหลอดเลือดดำ

ผศ.นพ. สัมมน โฉมฉาย

บทคัดย่อ

การรักษาชนิดใหม่สำหรับภาวะพิษเฉียบพลันที่ได้รับการกล่าวถึงและมีความสนใจศึกษามากที่สุดในวงการพิษวิทยาคลินิกในปีพ.ศ.2553ได้แก่การรักษาด้วยการบริหาร Lipid emulsion ทางหลอดเลือดดำ (Intravenous lipid emulsion; IVLE)⁽¹⁻⁴⁾ การรักษาชนิดนี้ได้รับความสนใจมากเพราะเป็นการรักษาที่ได้ผลดีมากในภาวะพิษจากยาชาเฉพาะที่ (local anesthetics) ที่รุนแรงและมีอัตราการเสียชีวิตสูงมาก ในขณะที่เดียวกันก็ได้มีการขยายขอบเขตการศึกษาไปสู่ภาวะพิษชนิดอื่นและมีรายงานทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับผลการรักษาภาวะพิษเฉียบพลันด้วยIVLEอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นการแนะนำการรักษาภาวะพิษด้วยIVLEวิธีจึงอาจเกิดประโยชน์ทั้งในทางเวชปฏิบัติและทางการศึกษาวิจัยในประเทศไทย

ผลิตภัณฑ์ Intravenous lipid emulsion เป็นการรักษาทาง โภชนศาสตร์คลินิกสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาการดูดซึมสารอาหารทางทางเดินอาหารที่มีการใช้งานมาเป็นเวลาประมาณ 50ปีโดยองค์ประกอบหลักของIVLEได้แก่ medium-chain triglycerides (MCT) และ/หรือ long-chain triglycerides (LCT) โดยคาร์บที่มีการใช้มากที่สุดได้แก่ส่วนผสมของ 10-30% LCT, egg phospholipids และ glycerol^(2, 4, 5)

การวิจัยในสัตว์ทดลองที่แสดงให้เห็นว่าการใช้IVLEมีผลเพิ่มความทนต่อพิษของยาชาเฉพาะที่ (local anesthetic systemic toxicity, LAST) ทั้งจากการบริหารIVLEก่อนและหลังการให้ยาชาเฉพาะที่เริ่มในปีพ.ศ. 2541 โดยกลุ่มของWeinberg นอกจากนี้การรักษาด้วยIVLEยังมีผลต่อการฟื้นการทำงานของหัวใจและระบบไหลเวียนอย่างชัดเจนในกรณีหัวใจหยุดเต้นจากภาวะLAST แม้ว่าบริหารIVLEหลายนาที่หลังจากที่หัวใจหยุดเต้น⁽⁶⁾ การศึกษาในระยะต่อมาจึงมีการศึกษาในสัตว์ทดลองชนิดอื่นๆและมีการใช้ยาชาเฉพาะที่ชนิดอื่นและยาอื่นๆที่ไม่อยู่ในกลุ่มยาชาเฉพาะที่เช่น verapamil, clomipramine และ propranolol ในขณะที่เดียวกันก็มีการรายงานการใช้ IVLEในคนในกรณีหัวใจเต้นผิดจังหวะหรือหัวใจหยุดเต้นที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาตามมาตรฐานเวชปฏิบัติที่เกิดจากพิษจากยาชาเฉพาะที่และยากลุ่มอื่นๆเช่น bupropionและlamotrigine (ในผู้ป่วยรายเดียวกัน), quetiapine และ sertraline (ในผู้ป่วยรายเดียวกัน), haloperidol, verapamil และ atenolol และ ethanol (ในผู้ป่วยรายเดียวกัน) โดยมีการรายงานเพิ่มเติมอย่างต่อเนื่อง^(1, 2) ผลการรักษาชัดเจนที่สุดในกรณีLASTซึ่งเป็นภาวะที่มีอัตราการตายสูงและไม่ตอบสนองกับการรักษาตามมาตรฐาน⁽⁷⁾ กลไกการออกฤทธิ์ที่เชื่อว่าเป็นหลักของIVLEในการรักษาภาวะพิษได้แก่การที่สารไขมันช่วยดูดซับและดึงดูดยาที่เป็นพิษออกจากบริเวณที่ก่อให้เกิดพิษเช่นหัวใจ ปรากฏการณ์นี้เรียกว่า “Lipid sink phenomenon” นอกจากนี้ยังอาจมีกลไกปลีกย่อยอื่นๆเช่น การกระตุ้นการสร้างพลังงานในmitochondriaและการกระตุ้นการทำงานของcalciumและcalcium channel⁽³⁾

การรักษาด้วยIVLEมีความปลอดภัยสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบกับสภาวะวิกฤตจากการเกิดพิษที่เป็นข้อบ่งชี้ของ IVLE อีกทั้งอัตราการบริหารIVLEที่ใช้ในการรักษาภาวะพิษเป็นอัตราเดียวกับที่ใช้ในการรักษาทางโภชนาการ จากการศึกษาความปลอดภัยของการใช้IVLEทางโภชนาการในสัตว์ทดลอง การบริหารIVLEอย่างรวดเร็วอาจทำให้เกิดภาวะผิดปกติในการแลกเปลี่ยนออกซิเจนที่ปอดชั่วคราว โดยเกิดในระดับที่ไม่มีอันตราย อย่างไรก็ตามผลการทดลองอื่นๆที่คล้ายกันไม่พบความผิดปกติดังกล่าว ดังนั้นผลด้านการเปลี่ยนแปลงการแลกเปลี่ยนออกซิเจนจึงยังไม่เป็นที่สรุปแน่ชัด^(1, 2) จากรายงานการรักษาภาวะพิษหนึ่งรายพบว่าผู้ป่วยมีภาวะเอนไซม์amylaseในกระแสเลือดสูงขึ้นชั่วคราวโดยไม่พบภาวะตับอ่อนอักเสบร่วมด้วย^(1, 2)

ข้อแนะนำในการใช้ IVLE ในเวชปฏิบัติ

1. ในปัจจุบันการบริหาร lipid emulsion ทางหลอดเลือดดำเพื่อการรักษาภาวะ LAST ได้ถูกบรรจุไว้ในแนวทางเวชปฏิบัติของหลายองค์กรระดับประเทศเช่น the Association of Anaesthetists of Great Britain and Ireland, the American Society of Critical Care Anesthesiologists, the American Society of Anesthesiologists Committee on Critical Care Medicine, and the Resuscitation Council of the UK และ the American Society of Regional Anesthesia โดยระบุว่าการบริหาร IVLE เป็นการรักษาที่ทำความคุ้นกับการรักษามาตรฐานอันประกอบด้วย การดูแลระบบทางเดินหายใจ การกู้ชีพตามแนวทาง basic และ advance cardiac life supports (BLS & ACLS) โดยมีข้อบ่งชี้ในการรักษาเมื่อผู้ป่วยได้รับพิษจากยาเฉพาะที่และเริ่มแสดงอาการทางระบบหัวใจหรือระบบประสาทกลาง^(1,3) ขนาดของ IVLE ที่ใช้ได้แก่ 1.5 mL/kg ของ 20% intravenous lipid emulsion ในเวลาต่อจากนั้นให้หยุดทางหลอดเลือดดำในอัตรา 0.25-1.5 mL/kg/นาที เป็นเวลา 30-60 นาที^(1,3)

2. การรักษาภาวะพิษอื่นๆ ในการรักษาภาวะหัวใจหยุดเต้นและระบบไหลเวียนล้มเหลวจากยาอื่นๆ นอกเหนือจากกลุ่มยาเฉพาะที่ยังไม่มีหลักฐานสนับสนุนมากนัก อย่างไรก็ตามหากว่าผู้ป่วยที่อยู่ในสภาวะดังกล่าวและไม่ตอบสนองต่อการรักษาตามแนวทาง การกู้ชีพตามมาตรฐานอย่างเต็มที่แล้ว แพทย์อาจพิจารณาใช้วิธีการรักษาด้วย IVLE เป็นการรักษา ร่วม ยาที่น่าจะได้ผลตอบสนองได้แก่ยาในกลุ่มที่เป็นสารละลายในไขมันได้ดีเช่น verapamil, propranolol, clomipramine, bupropion และ quetiapine เป็นต้น ขนาดที่ใช้ในการรักษาน่าจะปฏิบัติตามแนวทาง การรักษาภาวะ LAST⁽¹⁻⁴⁾ แพทย์ควรตระหนักว่าการรักษาภาวะพิษด้วย IVLE เป็นข้อบ่งชี้ที่อยู่ นอกเหนือคำแนะนำในเอกสารกำกับยา การรักษาด้วยวิธีดังกล่าวจึงควรอยู่ในดุลย พินิจของแพทย์และได้รับความยินยอมจากผู้ป่วยและญาติผู้ป่วย

สรุป การรักษาภาวะพิษเฉียบพลันด้วยการบริหาร Lipid emulsion ทางหลอดเลือดดำเป็นวิธีการรักษาภาวะพิษชนิดใหม่ที่ อาจช่วยชีวิตผู้ป่วยในภาวะวิกฤตที่ไม่ตอบสนองต่อการรักษาตามมาตรฐาน นอกจากนี้ยังเป็นวิธีที่มีศักยภาพทาง การวิจัยในอนาคต ดังนั้นนักพิษวิทยาและแพทย์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งแพทย์ผู้ใช้ยาเฉพาะที่ควรทำความรู้จักการรักษาแบบนี้เป็นอย่างดี

มลพิษทางน้ำ

คุณภาพน้ำ รัตสุข

สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ

บทคัดย่อ

การติดตามตรวจสอบคุณภาพน้ำปี 2552 ในแม่น้ำสายสำคัญ 48 สาย และแหล่งน้ำนิ่ง 4 แหล่ง (กว๊านพะเยา บึงบอระเพ็ด หนองหาน และทะเลสาบสงขลา) พบว่าคุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ พอใช้ และเสื่อมโทรม คิดเป็นร้อยละ 31 36 และ 33 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบคุณภาพน้ำในช่วง 3 ปี ตั้งแต่ปี 2550 – 2552 พบว่า คุณภาพน้ำโดยรวมมีแนวโน้มดีขึ้น พิจารณาจากคุณภาพน้ำที่อยู่ในเกณฑ์เพิ่มขึ้นต่อเนื่อง พารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงปัญหาคุณภาพน้ำ คือ การปนเปื้อนแบคทีเรียกลุ่มฟีคอล โคลิฟอร์ม (Fecal Coli form Bacteria : FCB) การปนเปื้อนแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด (Total Coli form Bacteria : TCB) แอมโมเนีย (NH_3) ความสกปรกในรูปสารอินทรีย์ (Biochemical Oxygen Demand : BOD) และออกซิเจนละลาย (Dissolved Oxygen : DO) คิดเป็นร้อยละ 32 27 22 11 และ 8 ตามลำดับ

ในช่วงฤดูฝน แหล่งน้ำโดยรวมมีคุณภาพน้ำดีขึ้น เมื่อเทียบกับช่วงฤดูแล้ง โดยปัญหาคุณภาพน้ำที่สำคัญ ในช่วงฤดูแล้ง และฤดูฝน คือ น้ำทิ้งจากชุมชน (พิจารณาจาก FCB โดยมาจากสิ่งปฏิกูลที่มาจากสัตว์เลื้อยคืบ คือ มนุษย์เป็นหลัก) ทั้งนี้ช่วงฤดูฝน มีปัญหา NH_3 เพิ่มขึ้น เนื่องจากการชะล้างหน้าดินที่มีปุ๋ยอินทรีย์และอนินทรีย์จากน้ำฝนเป็นหลัก

คุณภาพน้ำทะเลชายฝั่งทั่วประเทศประเมินจากดัชนีคุณภาพน้ำทะเล พบว่า คุณภาพน้ำอยู่ในเกณฑ์ดีมาก ดี พอใช้ เสื่อมโทรม และเสื่อมโทรมมาก ร้อยละ 5 51 34 5 และ 5 ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบกับคุณภาพน้ำ 2 ปีย้อนหลัง พบว่า คุณภาพน้ำโดยรวมเสื่อมโทรมลง โดยเฉพาะอ่าวไทยตอนในบริเวณปากแม่น้ำสายหลัก 4 สาย (เจ้าพระยา ท่าจีน แม่กลอง และบางปะกง) ทุกพื้นที่มีคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมมาก เนื่องจากเป็นแหล่งรองรับของเสียที่มาจากแม่น้ำสายหลัก พารามิเตอร์ที่บ่งชี้ถึงปัญหาคุณภาพน้ำเสื่อมโทรมถึงเสื่อมโทรมมาก ได้แก่ แบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มทั้งหมด (TCB) กลุ่มฟีคอล โคลิฟอร์ม (FCB) กลุ่มเอ็นเทอโรคอคไค (Enterococci) และสารอาหาร (ไนเตรท - ไนโตรเจน (NO_3) ฟอสเฟต - ฟอสฟอรัส (PO_4)) รวมทั้งปริมาณเหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) ออกซิเจนละลาย (DO) และน้ำมันและไขมันบนผิวน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่พบค่าสูงบริเวณปากแม่น้ำ แหล่งท่องเที่ยว และแหล่งชุมชน นอกจากนี้ยังพบเศษขยะบริเวณชายฝั่งอีกด้วย

นอกจากพารามิเตอร์ตามมาตรฐานคุณภาพน้ำแหล่งน้ำผิวดิน และมาตรฐานคุณภาพน้ำทะเลแล้ว สำนักจัดการคุณภาพน้ำ ได้ทำการติดตามตรวจสอบการปนเปื้อนของสารประกอบดีบุกอินทรีย์ชนิดไตรบิวทิล หรือสาร ไตรบิวทิลทิน (Tributyltin, TBT) ในแหล่งน้ำจืด โดยเฉพาะแม่น้ำสายหลัก 4 สาย ได้แก่ แม่น้ำเจ้าพระยา แม่น้ำท่าจีน แม่น้ำแม่กลอง และแม่น้ำบางปะกง เนื่องจากมีอุตสาหกรรมประเภทที่อาจมีการใช้สาร TBT เป็นจำนวนมาก จากผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำ พบว่า ฤดูแล้งมีการปนเปื้อนของสาร TBT สูงกว่าในฤดูฝน ส่วนการปนเปื้อนของสาร TBT ในแม่น้ำสายหลัก มีค่าใกล้เคียงกัน คือ พบความเข้มข้นอยู่ในช่วงต่ำกว่าความสามารถในการตรวจวัดถึง 95.5 นาโนกรัม/ลิตร (ng/L) และพบการปนเปื้อนของสาร TBT กระจายตัวไปตามทุกแหล่งกำเนิดประเภทต่างๆ เช่น อุตสาหกรรม เกษตรกรรม และชุมชน

มลพิษทางน้ำที่พบว่ามีจำนวนมากขึ้น และมีแนวโน้มว่าจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและอนามัยของประชาชน คือ มลพิษที่เกิดกับน้ำใต้ดินบริเวณพื้นที่อุตสาหกรรม เช่น ปัญหาการปนเปื้อนของสารอินทรีย์ระเหยในน้ำใต้ดิน บริเวณนิคมอุตสาหกรรมภาคเหนือจังหวัดลำพูน สูงกว่าค่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐานคุณภาพน้ำใต้ดิน การปนเปื้อนโลหะหนักและสารอินทรีย์ระเหยง่ายในแหล่งน้ำใต้ดินบริเวณนิคมอุตสาหกรรมมาบตาพุดส่งผลให้ประชาชนไม่สามารถใช้น้ำเพื่อการอุปโภคบริโภคได้ เป็นต้น

ปริมาณนิโคตินและโคตินีนในปัสสาวะของผู้ที่สูบบุหรี่ม้วนเอง ผู้ที่สูบบุหรี่ก้นกรอง และผู้ที่สัมผัสกับควันบุหรี่

วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ

บทคัดย่อ

การสูบบุหรี่เป็นภัยต่อสุขภาพของผู้สูบและผู้สัมผัสกับควันบุหรี่ ราคาบุหรี่ก้นกรองเพิ่มขึ้นตามภาษีและความเชื่อว่า บุหรี่ม้วนเองเป็นพิษต่อสุขภาพน้อยกว่าบุหรี่ก้นกรอง ทำให้ผู้สูบบุหรี่ก้นกรองบางส่วนเปลี่ยนมาสูบบุหรี่ม้วนเอง การศึกษานี้ใช้ค่านิโคตินและโคตินีนในปัสสาวะเป็นดัชนีประเมินความเป็นพิษของบุหรี่ทั้งสองชนิดนี้ ผลการศึกษาพบว่า ปัสสาวะของผู้ที่สูบบุหรี่ทั้งสองชนิดให้ค่านิโคตินและโคตินีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ทั้งสองชนิดพบปริมาณโคตินีนสูงกว่าในปัสสาวะของผู้ที่สัมผัสกับควันบุหรี่ ในปัสสาวะของผู้ที่สูบบุหรี่ม้วนเองมีปริมาณนิโคตินสูงกว่าในปัสสาวะของผู้ที่สัมผัสกับควันบุหรี่ซึ่งพักอาศัยอยู่ด้วยกัน ปริมาณนิโคตินและโคตินีนในปัสสาวะของผู้ที่สัมผัสกับควันบุหรี่ที่บ้านไม่แตกต่างจากผู้ที่ไม่ต้องสัมผัสกับควันบุหรี่ที่บ้าน ดังนั้น บุหรี่ม้วนเองมีความเป็นพิษต่อสุขภาพไม่น้อยกว่าบุหรี่ก้นกรอง ปริมาณนิโคตินที่ผู้สูบได้รับไม่ขึ้นกับชนิดของบุหรี่ที่สูบแต่สัมพันธ์กับพฤติกรรมการสูบ การสัมผัสกับควันบุหรี่น่าจะเกิดขึ้นในสถานที่สาธารณะไม่น้อยกว่าที่เกิดขึ้นที่บ้าน กฎหมายห้ามสูบบุหรี่ในที่สาธารณะจึงน่าจะมีการบังคับใช้อย่างจริงจัง

คำสำคัญ: บุหรี่ม้วนเอง บุหรี่ก้นกรอง นิโคติน โคตินีน

* Corresponding author:

ดร.วีรวรรณ เล็กสกุลไชย

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

E-mail: veeravah@swu.ac.th

Urinary nicotine and cotinine concentrations in hand-rolled cigarette smokers, filter cigarette smokers, and passive smokers exposed to ETS

Veeravan Lekskulchai

Department of Pathology. Faculty of Medicine. Srinakhariwirot University. Thailand.

ABSTRACT

Cigarette smoking is a serious health risk for both active and passive smokers. Due to the prices have gradually increased, some smokers have switched from filter-tax included cigarettes to the cheaper hand-rolled cigarettes. Regardless of their prices, some smokers believe that hand-rolled cigarettes are less harmful to their health than are the filter cigarettes. In this presentation, urine nicotine and cotinine concentrations were used as indicators of health risk associated with smoking and exposure to environmental tobacco smoke (ETS). Statistical analysis indicates non-significant differences in urine nicotine and cotinine levels in hand-rolled cigarette smokers' samples compared with filter cigarettes smokers' samples. There are, however, highly significant differences in urine cotinine concentrations in both filter and hand-rolled cigarette smokers' samples compared with passive smokers exposed to ETS at home. But only the hand-rolled cigarette smokers' samples show statistically significant difference in urinary nicotine levels compared with the samples of passive smokers living with them. Urine samples of passive smokers exposed to ETS at home show non-statistically significant differences in both urine nicotine and cotinine levels compared with samples of non-smokers unexposed to ETS at home. Thus, hand-rolled cigarette smoking is at least as harmful as filter cigarette smoking. Exposure to ETS in public places is possibly more common than exposure to ETS at home. Passive exposure to ETS in public places is difficult to avoid, thus, legislation banning smoking in public places should be strictly implemented for public health safety.

Keywords: Hand-rolled cigarette, Filter cigarette, Nicotine, Cotinine

***Corresponding author :**

Assoc. Prof. Veeravan Lekskulchai, Ph.D.

Department of Pathology. Faculty of Medicine. Srinakhariwirot University.

Sukhumvit 23 Bangkok. 10110 Thailand.

E-mail: veeravah@swu.ac.th

Introduction

Cigarette smoking has enormous negative health consequences and causes premature mortality, not only to smokers but also to people who involuntarily inhale tobacco smoke present in the air or environmental tobacco smoke (ETS).^{1, 2} Due to publicity about the health risks of smoking increased, cigarette manufacturers have been concerned about the lack of social acceptability of their products. As a result, filter cigarettes have been developed and marketed worldwide.^{3, 4} Although the addition of a filter can reduce throat and nose irritation of smokers, medical information has shown that the health risk associated with filter cigarette smoking was not reduced.⁵ Based on the health concerned, many countries have implemented policies and laws for specific preventive actions including restriction of advertising, increasing taxation on tobacco, and adoption of stringent nonsmoking policies in public places. Increasing taxation on tobacco always leads to increasing prices of cigarettes especially the factory made ones. For economic reasons, some factory made cigarette smokers may switch to use cheaper hand-rolled or roll your own (RYO) cigarettes. Compared with manufactured filter cigarettes, hand-rolled cigarettes seem to be health safer since they have no additives and have less tobacco weight per cigarette (0.45 vs. 0.7 g).⁶ As the result, RYO smokers were most likely to believe RYO cigarettes posed less risk compared with factory made cigarettes.^{6, 7} Because of this believing, involuntarily exposed subjects may be unaware of their exposure and may not prevent themselves from exposing to ETS of hand-rolled cigarettes. For both economic and health concerns, RYO cigarettes may gain more popularity in the future. To prove whether hand-rolled cigarette smoking is really less harm than filter cigarette smoking, the relative hazard associated with these tobacco smoking should be monitored by measuring biomarkers derived from the smoke such as carbon monoxide and thiocyanate. However, nicotine and its main metabolite, cotinine, have been reported as specific markers of exposure to tobacco smoke.^{8, 9} In this presentation, urinary nicotine and cotinine concentrations were used to compare health risk associated with filter cigarette

smoking, hand-rolled cigarette smoking, and the ETS exposure.

Materials and Method

Subjects

In this study, all subjects were 18 year olds or over and in good general health. A volunteer who registered as a smoker must have an adult healthy non-smoker living with them enroll as a passive smoker exposed to ETS at home. A volunteer who claimed themselves as a non-smoker also has to have an adult healthy non-smoker living with them enroll as a non-smoker unexposed to ETS at home. The enrolled volunteers were screened by physical check up and interviewing to determine whether they were a filter cigarette smoker, a hand-rolled cigarette smoker, a passive smoker exposed to ETS at home, or a non-smoker unexposed to ETS at home. The smokers recruited in this project were allowed to smoke as usual without any limitation or intervention. All subjects gave written informed consent, and the study was approved by Srinakharinwirot university ethic committee (SWUEC) responsible for human experimentation which is in compliance with the Helsinki declaration. Eligible volunteers were received detailed information about study goals and procedures.

Urine collection and analysis

Urine samples were collected after the eligible volunteers signed the informed consent. All were done in morning after the daily first cigarette of smokers; they were asked to collect their 5-10 mL urine in a prepared container. A single urine sample was collected from each volunteer. Samples were frozen on the day of collection and stored at -20°C until time of analysis. Batches of samples were defrosted and analyzed for nicotine and cotinine concentrations by GC/MS according to the previous published methods.¹⁰ Statistical analysis was performed using SPSS 11.0 for Windows software program (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The one tail t-test with 95% confidence intervals was used and a $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

Thirty three filter cigarette smokers and their matched passive exposed subjects were recruited in this study. As shown in table 1, most filter cigarette smokers, approximately 97%, were men. From 44 hand-rolled cigarette smokers recruited, only 70% were men. Total number of passive smokers exposed to ETS at home was 77 about 87% were women. In 161 non-smokers, about 80% were women. The study populations are as shown in Table 1.

The amount of tobacco and number of cigarette smoked were not recorded because the smoking and exposing to the smoke in this project were set as daily life. Although higher average and maximum urinary nicotine and cotinine concentrations were observed in urine of hand-rolled cigarette smokers than in urine of filter cigarette smokers (table 2), the statistical differences from these samples were not found to be significant at the 95% confidence interval (table 3). Statistical analysis of urinary cotinine concentrations did reveal significant differences between smokers and the passive smokers exposed to ETS at home (table 3). Passive exposure to hand-rolled cigarette smoke at home also had significantly lower urinary nicotine concentrations than hand-rolled cigarettes smokers (table 3). Urinary nicotine and cotinine concentrations in passive smokers' samples showed non-statistically significant differences compared to those in samples of non-smokers unexposed to ETS at home (table 3).

Discussion

Compared to factory made filter cigarettes, hand-rolled cigarettes usually contain less tobacco weights. Thus, they seem to be less toxic. However, our analytical information indicates that hand-rolled cigarette smoking is at least as harmful as filter cigarette smoking. The urinary nicotine and cotinine levels in hand-rolled cigarette smokers' samples were not significantly different from the amounts found in filter cigarette smokers' samples. Darrall and Figgins¹¹ have reported that nicotine yields in main stream smoke from hand-rolled cigarette were actually found to be higher than those obtained from manufactured cigarettes. By observing smoking pattern and measuring CO

boost per gram of tobacco, Laugesen and colleagues⁶ also have reported that RYO smoking was associated with increased smoke exposure per cigarette. Therefore, our results support that health risk associated with tobacco smoking is not related to the weight of tobacco used. Habitual smokers most likely have compensatory behavior which is adjusting their smoking habits to receive a desired amount of nicotine, the driving force behind the urge to smoke. The intake of nicotine as well as tars during smoking, in fact, depends on puffing topography such as the puff volume, the rate of puffing, the intensity of puffing, and the depth of inhalation as well as the number of cigarettes smoked per day and the extent of dilution with room air.¹²⁻¹⁶

Urinary nicotine and cotinine concentrations in filter and hand-rolled cigarette smokers were compared with the amounts of nicotine and cotinine in urine samples of passive smokers exposed to ETS at home. Urinary cotinine concentrations are significantly higher in smokers' samples than in passive smokers' samples. But only samples of hand-rolled cigarette smokers had statistically higher nicotine concentrations than samples of passive smokers who exposed to hand-rolled cigarette smoke at home. Since nicotine has shorter half life than cotinine, it is best suited to quantifying exposure over a period of a few hours only.^{17, 18} For filter cigarette, filter tip is designed to dilute nicotine and tars in mainstream smoke but the side stream smoke is unfiltered since it does not pass through the column of tobacco or the filter of the cigarette.^{13, 15, 16, 19} On one hand, passive exposure to side stream smoke from filter cigarette within a few hours, hence, may receive high amount of nicotine into their body. On the other hand, the believing that hand-rolled cigarette posed less risk compared with commercial cigarette may cause hand-rolled cigarette smokers to inhale the mainstream smoke intensively, which, in turn, leave quite small amount of nicotine in the side stream smoke. Urinary cotinine concentrations can be a reliable marker of current daily-life intermittent exposure to tobacco smoke within the past several days.^{17, 18} The significant higher urinary cotinine concentrations in smokers compared with samples of passive smokers exposure to

ETS at home may indicate that ETS at home is not as much as it was concerned. People who live with smokers may be more aware of the health risk from second hand smoking and prevent themselves from smoke exposure.

Compared to urine samples of non-smokers unexposed to ETS at home, urine samples of passive smokers exposed to ETS at home had non-statistically significant differences in both nicotine and cotinine concentrations. The results may indicate that ETS is most common in locations other than at home. This evidence may support that non-smokers unexposed to ETS at home are virtually impossible to avoid completely exposure to ETS in public places in

the present as long as they still have socializing with smokers. Likewise, people who live with smokers, although preventing themselves from ETS at home, are unavoidable from exposure to ETS in public places. In fact, passive exposure to ETS in public places is often not realized by the exposed subjects because, unlike exposure to ETS at home, it is difficult to indicate who is smoking in a public place and the ETS will be emitted randomly which is difficult to avoid. Notwithstanding, passive exposure to ETS in public places will be intermittently and chronically. The banning of cigarette smoking in public places may be an effective way to protect non-smokers' health from ETS toxicity.

Table 1 Study populations

Type of smoking	Number of subjects		
	Male	Female	Total
Filter cigarette smokers	32	1	33
Passive-smokers living with filter cigarette smokers	2	31	33
Hand-rolled cigarette smokers	31	13	44
Passive-smokers living with hand-rolled cigarette smokers	8	36	44
Non-smokers living with non-smokers	32	129	161

Table 2 Ranges and mean values of urinary nicotine and cotinine concentrations

Type of smoking	Urine nicotine concentration (nmol/L)		Urine cotinine concentration (nmol/L)	
	Range	Mean	Range	Mean
Filter cigarette smokers	80 - 72896	4494	108 - 18517	4942
Passive-smokers living with filter cigarette smokers	0 - 13764	666	0 - 3732	392
Hand-rolled cigarette smokers	135 - 153188	9850	341 - 64775	5345
Passive-smokers living with Hand-rolled cigarette smokers	0 - 13641	456	0 - 7736	579
Non-smokers living with non-smokers	0 - 10953	431	0 - 4362	403
All non-smokers	0 - 13764	481	0 - 7736	449

Table 3 Statistical analysis of urinary nicotine and cotinine concentrations

Compared groups	Statistic test	p-value	
		Nicotine	Cotinine
Filter cigarette smokers vs. Non-smokers living with them	Paired t-test	0.07553	9.29355×10^{-9}
Hand-rolled cigarette smokers vs. Non-smokers living with them	Paired t-test	0.00855	4.7551×10^{-5}
Filter cigarette smokers vs. Hand-rolled cigarette smokers	Unpaired t-test	0.120705	0.389585
Non-smokers living with smokers vs. Non-smokers living with non-smokers	Unpaired t-test	0.360833	0.267286

Acknowledgement

The financial support of the HRH Princess Maha Chakri Sirindhorn Medical Center, Srinakharinwirot University is gratefully acknowledged.

References

1. Hammond D, Collishaw NE, Callard C. Secret science: tobacco industry research on smoking behavior and cigarette toxicity. *Lancet* 2006; 367: 781-7.
2. Council on Scientific Affairs, American Medical Association. Environmental tobacco smoke. Health effects and prevention policies. *Arch Fam Med* 1994; 3: 865-71.
3. Davis RM. Current trends in cigarette advertising and marketing. *N Engl J Med* 1987; 316: 725-32.
4. Mitacek EJ, Brunnemann KD, Polednak AP, et al. Composition popular tobacco products in Thailand and its relevance to disease prevention. *Prev Med* 1991; 20: 764-73.
5. Kozlowski LT, O'Connor RJ. Cigarette filter ventilation is a defective design because of misleading taste, bigger puffs, and blocked vents. *Tob Control* 2002; 11 (suppl 1): i40-150.
6. Laugesen M, Epton M, Frampton CMA, et al. Hand-rolled cigarette smoking patterns compared with factory-made cigarette smoking in New Zealand men. *BMC Public Health* 2009; 9: 194.
7. Young D, Borland R, Hammond D, et al. Prevalence and attributes of roll-your-own smokers in the International Tobacco Control (ITC) Four Country Survey. *Tob Control* 2006; 15 (suppl III): iii76 - iii82.
8. Jarvis M, Tunstall-Pedoe H, Feyerabend C, et al. Biochemical markers of smoke absorption and self reported exposure to passive smoking. *J Epidemiol Community Health* 1984; 38: 335-9.
9. Benowitz NL. Cotinine as a biomarker of environmental tobacco smoke exposure. *Epidemiol Rev* 1996; 18(2): 188-204.
10. Shin HS, Kim JG, Shin YJ, et al. Sensitive and simple method for the determination of nicotine and cotinine in human urine, plasma and saliva by gas chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2002; 769(1): 177-83.
11. Darrall KG, Figgins JA. Roll-your-own smoke yields: theoretical and practical aspects. *Tob Control* 1998; 7: 168-75.
12. Benowitz NL, Hall SM, Herning RI, et al. Smokers of low yield cigarettes do not consume less nicotine. *N Engl J Med* 1983; 309: 139-42.
13. Kozlowski LT, Goldberg ME, Yost BA, et al. Smokers are unaware of the filter vents now on most cigarette: results of a national survey. *Tob Control* 1996; 5: 265-70.
14. Bridges RB, Combs JG, Humble JW, et al. Puffing topography as a determinant of smoke exposure. *Pharmacol Biochem Behav* 1990; 37: 29-39.
15. Cummings KM, Morley CP, Hyland A. Failed promises of the cigarette industry and its effect on consumer misperceptions about the health risks of smoking. *Tob Control* 2002; 11 (suppl D): i110-i117.
16. Calafat AM, Polzin GM, Saylor J, et al. Determination of tar, nicotine, and carbon monoxide yields in the mainstream smoke of selected international cigarettes. *Tob Control* 2004; 13: 45-51.
17. Hukkanen J, Jacob P III, Benowitz NL. Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 79-115.
18. Jarvis MJ. Uptake of environmental tobacco smoke. *IARC Sci Publ* 1987; 81: 43-58.

ปัจจัยเสี่ยงของการประกอบอาชีพกับการเกิดมะเร็งโพรงจมูกในจังหวัดอุบลราชธานี

ถวิล กลิ่นวิมล¹ พงศธร ศุภอรรรถกร² เทวินทร์ โชติชนประสิทธิ์² ธนุดม ก้วยเจริญพานิชก์² ชลียา วามะลุน³
 วิไลลักษณ์ ศรีชัยรัตน์⁴ ศุสิทธิ์ แสงกระจ่าง⁵

¹กลุ่มงานศัลยกรรม ² กลุ่มงานรังสีรักษา ³กลุ่มภารกิจบริการวิชาการ ⁴กลุ่มงานพยาธิวิทยา ศูนย์มะเร็งอุบลราชธานี ⁵กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

บทคัดย่อ

มะเร็งโพรงหลังจมูกเป็นมะเร็งที่พบได้ไม่บ่อย แต่ในบางพื้นที่ ได้แก่ ประเทศจีนตอนใต้และในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้พบอุบัติการณ์ของโรคได้ค่อนข้างสูง การมีอุบัติการณ์ของโรคที่แตกต่างกันในแต่ละภูมิภาคทำให้เกิดข้อสงสัยว่าสาเหตุของการเกิดโรคน่าจะเกี่ยวข้องกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม และอาจรวมถึงสิ่งสัมผัสต่างๆ ที่เกิดจากการประกอบอาชีพด้วย การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก ที่เกิดจากการประกอบอาชีพ โดยศึกษาแบบ case-control study ทำการเก็บข้อมูลที่ศูนย์มะเร็งอุบลราชธานี ในระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2550-ตุลาคม พ.ศ. 2552 ในผู้ป่วยรายใหม่ที่มีผลยืนยันทางพยาธิ จำนวน 72 ราย และกลุ่มควบคุมจำนวน 96 ราย มีการเก็บข้อมูลด้วยวิธีการสัมภาษณ์ เกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่างๆ ประกอบด้วย การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การรับประทานอาหาร การเจ็บป่วยในอดีต การมีประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว และประวัติการทำงานทุกตำแหน่งที่ทำมากกว่า 1 ปีขึ้นไป ผลการศึกษาพบความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกเพิ่มขึ้นในผู้ที่ทำงานเป็นช่างไม้ (OR=4.0, 95% CI 1.40-11.32 ส่วนผู้ที่ทำงานการบริหารหรือธุรการทั้งภาครัฐและเอกชนพบว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคลดลง (OR=0.2, 95% CI 0.08-0.55) ในผู้ที่ทำงานที่มีการสัมผัสกับฝุ่นไม้ พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเพิ่มขึ้น 6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้สัมผัส (OR=6.01, 95% CI 1.54-23.56) ส่วนการสัมผัสกับฟอร์มาลดีไฮด์พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=1.9, 95% CI 0.93-3.78) ในทางตรงกันข้ามไม่พบความสัมพันธ์ของการสัมผัสกับตัวทำละลายต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก (OR=1.5, 95% CI 0.76-3.08) อย่างไรก็ตามหากทำงานที่มีการสัมผัสตัวทำละลายมากกว่า 5 ปีขึ้นไป จะพบความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกเพิ่มขึ้น (OR=2.4, 95% CI 1.21-4.85) ผลการศึกษานี้สนับสนุนผลการศึกษาอื่นๆ ในอดีตที่พบว่า การสูดดมฝุ่นไม้ ฟอร์มาลดีไฮด์ หรือตัวทำละลายในระหว่างการประกอบอาชีพ อาจเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกได้ อย่างไรก็ตามจำนวนตัวอย่างอาสาสมัครที่ใช้ในการศึกษานี้มีจำนวนน้อยจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตที่ใช้จำนวนตัวอย่างอาสาสมัครมากขึ้นเพื่อยืนยันผลที่ได้จากการศึกษานี้

คำสำคัญ: มะเร็งโพรงหลังจมูก ปัจจัยเสี่ยง อาชีพ

*Corresponding author:

ดร. ศุสิทธิ์ แสงกระจ่าง

กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ถนนพระราม 6 ราชเทวี กทม. 10400

E-mail: suleesa@yahoo.com

Occupational Risk Factors for Nasopharyngeal Carcinoma in Ubon Ratchathani

Klinvimol T¹, Supaattagorn P², Chottetanaprasith T², Khuayjarernpanishk T², Wamaloon C³
Sritanyarut W⁴, Sangrajang S^{5*}

¹Surgery Division ²Radiation Therapy Division ³Academic Support Division ⁴Pathology Division,
Ubonratchathani Cancer Center ⁵Research Division, National Cancer Institute

ABSTRACT

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is rare in most populations around the world but common in Southern China and Southeast Asia. The marked geographic variation in incidence rates suggests that environment factors, particularly occupational exposures, may play a role in the etiology of disease. The purpose of this study was to evaluate the risk of NPC in different occupational categories. This case-control study was conducted at Ubonratchathani Cancer Center during October 2007- October 2009. Seventy two patients with histopathologically confirmed NPC and 96 controls were included in the study. Information was collected by interviewer about demographic variables including cigarette smoking, alcohol drinking, eating habits, past history of disease, family history of cancer and a lifetime history of every job held for one year or longer. A significant increased risk of NPC was observed among carpenters (OR=4.0, 95%CI 1.40-11.32). Working in public or private sector as administrator or clerk was associated with a decreased risk of NPC (OR=0.2, 95% CI 0.08-0.55). Subjects who were exposed to wood dust were at a 6 time excess risk of disease in relation to those never exposed (OR=6.0, 95% CI 1.54-23.56). For formaldehyde, a non significant increased risk of NPC was observed (OR=1.9, 95%CI 0.93-3.78). By contrast, there was no association between potential exposure to solvents and NPC (OR=1.5, 95% CI 0.76-3.08). However, occupational exposure to solvents for more than 5 years was associated with an increased risk of NPC (OR=2.4, 95%CI 1.21-4.85). This study support previous findings that some occupational exposures such as wood dust, formaldehyde, or solvents may increase risk of NPC. Further studies with larger sample size is suggested to confirm these findings.

Keywords: Nasopharyngeal Cancer, Risk Factors, Occupation

***Corresponding author:**

Suleeporn Sangrajang

Research Division, National Cancer Institute, Rama 6 Rd., Rajthevi, Bangkok 10400

E-mail:suleesa@yahoo.com

บทนำ

มะเร็งโพรงหลังจมูก เป็นหนึ่งในโรคมะเร็งที่พบได้บ่อยในประเทศไทย โดยเฉพาะในเพศชายพบได้บ่อยกว่าในเพศหญิงประมาณ 2 ถึง 3 เท่า สำหรับประเทศไทยจากสถิติปี ค.ศ. 1999 พบอุบัติการณ์ของโรคในเพศชาย 2.8 รายต่อประชากร 100,000 ราย และ 1.4 ราย ต่อประชากร 100,000 ราย ในเพศหญิง

ปัจจุบันเชื่อว่าการติดเชื้อไวรัส EBV (Epstein-Barr Virus) เป็นปัจจัยสำคัญต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก แต่การที่ประชากรส่วนใหญ่ในโลกนี้เป็นผู้ที่เคยได้รับการติดเชื้อ EBV มาก่อน แต่มีเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่การติดเชื้อ EBV ทำให้เกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก¹ จากเหตุนี้จึงทำให้เกิดข้อสงสัยว่าน่าจะมีปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น การรับประทานอาหาร การสูบบุหรี่ หรือการสัมผัสกับสารก่อมะเร็งในการประกอบอาชีพ รวมทั้งปัจจัยภายใน (host factors) เช่น ยีน HLA หรือ CYP2E1² ที่ผ่านมามีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยง เช่น การรับประทานปลาเค็มชนิด Catonese Salted dried fish กับ การเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกมากมายและเป็นที่ยืนยันว่า การรับประทานปลาเค็มแบบ Chinese style นี้ มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิด มะเร็งโพรงหลังจมูก โดยเฉพาะเมื่อเริ่มรับประทานปลาเค็มชนิดนี้ตั้งแต่วัยเด็ก^{3,4} การสูบบุหรี่ก็มีผลการวิจัยหลายการศึกษายืนยันการเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก^{5,6} แต่สำหรับความสัมพันธ์เกี่ยวกับสารก่อมะเร็งที่เกิดจากการประกอบอาชีพยังไม่มี ความชัดเจนในเรื่องนี้ เนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่มีจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ไม่มากนัก^{7,9} แต่จากข้อมูลที่มีอยู่ทำให้เชื่อว่า ฝุ่นไม้ หรือสารฟอรัมาลดีไฮด์ น่าจะมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก¹⁰⁻¹² สำหรับประเทศไทย ข้อมูล

การศึกษาทางระบาดวิทยาโมเลกุลเกี่ยวกับสาเหตุของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกนับว่ามีน้อยมาก

การศึกษานี้เป็นแบบ case-control study ในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการหาความสัมพันธ์ของการประกอบอาชีพกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกในการสัมผัสสาร 3 ชนิด คือ ฝุ่นไม้ (wood dust) ฟอรัมาลดีไฮด์ (formaldehyde) และตัวทำละลาย (solvents)

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มศึกษา (case) เป็นผู้ป่วยใหม่ที่ยังไม่ได้เริ่มการรักษาและมีผลพิสูจน์ทางพยาธิวิทยาว่าเป็นมะเร็งโพรงหลังจมูก ที่มาทำการรักษาที่ศูนย์มะเร็งอุบลราชธานีในปี พ.ศ. 2550-2552 ส่วนกลุ่มควบคุม (control) เป็นผู้ที่สุขภาพแข็งแรงที่เป็นญาติหรือเพื่อนที่มาเยี่ยมผู้ป่วยมะเร็งที่ศูนย์มะเร็งอุบลราชธานีในช่วงเวลาเดียวกันกับที่เก็บตัวอย่างผู้ป่วย ในโครงการวิจัยนี้มีการเก็บตัวอย่างผู้ป่วย 72 ราย และกลุ่มควบคุม 96 ราย ก่อนการเก็บตัวอย่างเจ้าหน้าที่ได้อธิบายให้อาสาสมัครเข้าใจถึงจุดประสงค์ของการทำโครงการ และได้ขอความยินยอมจากผู้เข้าร่วมโครงการ จากนั้นจึงทำการสัมภาษณ์เก็บข้อมูลอาสาสมัครแต่ละรายเกี่ยวกับปัจจัยเสี่ยงต่างๆ เช่น การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา การรับประทานอาหาร ประวัติการเจ็บป่วย การมีประวัติโรคมะเร็งในครอบครัว และประวัติการทำงานทุกตำแหน่งที่ทำมากกว่า 1 ปีขึ้นไป

โครงการวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ

การตรวจหา EBV VCA IgA โดยวิธี Indirect Immunofluorescence

ขั้นตอนของการตรวจมีดังนี้ คือ เตรียมแผ่น slide ที่มี Viral Capsid Antigen (VCA) EBV เคลือบอยู่ จากนั้นนำซีรัมผู้ป่วยที่ต้องการทดสอบหา IgA antibody มาเจือจาง (serial dilution) แล้วนำไปทำปฏิกิริยากับ EBV VCA antigen บนแผ่นสไลด์นั้น เกิดปฏิกิริยา antigen antibody complex แล้วใช้ antibody ต่อ immunoglobulin ติดสลาด้วยสารเรืองแสงเป็นตัวทำปฏิกิริยาอีกตัวหนึ่ง แล้วนำสไลด์ที่ย้อมแล้วไปดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เรืองแสง และรายงานเป็นไคเตอร์สูงสุดที่พบการเรืองแสงของปฏิกิริยา ในการศึกษาจะใช้ค่า cut-off ที่ 1: 10

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ chi-square-test ในการศึกษาความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก พร้อมทั้งหาอัตราเสี่ยงสัมพันธ์ (Odds ratio, ORs) โดยใช้สมการ multiple logistic regression โดยมีการควบคุมอิทธิพลของปัจจัยอื่นร่วมด้วย และหาระดับนัยสำคัญทางสถิติโดยใช้ 95% confidence interval (CI) ของ ORs และ P -value (< 0.05)

ผลการวิจัย

ตารางที่ 1 แสดงให้เห็นลักษณะทั่วไปของข้อมูลอาสาสมัครในโครงการ โดยมีอาสาสมัครโครงการทั้งสิ้น 168 ราย แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งโพรงหลังจมูก 72 ราย และกลุ่มควบคุม 96 ราย ในกลุ่มผู้ป่วยพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 76.4 มีอายุเฉลี่ย 49.96 ปี ส่วนในกลุ่มควบคุมเป็นเพศชายร้อยละ 74.0 มีอายุเฉลี่ยเท่ากับ 51.07 ปี ผู้เข้าร่วมโครงการเป็นชาวไทยเกือบทั้งหมด พบอัตราการสูบบุหรี่ในกลุ่มผู้ป่วย (ร้อยละ

58.3) สูงกว่าในกลุ่มควบคุม (ร้อยละ 38.5) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.011$) เช่นเดียวกับการดื่มสุราพบว่า ในกลุ่มผู้ป่วยมีอัตราการดื่มสุรามากกว่าในกลุ่มควบคุม โดยพบร้อยละ 68.1 และ 43.7 ตามลำดับ ($P=0.012$) ส่วนการรับประทานปลาเค็มกลับพบว่าในกลุ่มควบคุมมีจำนวนผู้รับประทานปลาเค็มมากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์ (ร้อยละ 24.0) สูงกว่าในกลุ่มผู้ป่วย (ร้อยละ 18.1) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.054$) นอกจากนี้การรับประทานปลาร้า ปลาสาม เนื้อหมูเค็ม ไส้กรอก แหนม และผักดอง ก็ไม่พบความสำคัญของการเกิดโรค (ข้อมูลไม่ได้แสดงในตาราง) การมีประวัติเจ็บป่วยในอดีตไม่พบความแตกต่างของการมีประวัติเยื่อจมูกอักเสบเรื้อรังในคนทั้งสองกลุ่ม อย่างไรก็ตาม พบจำนวนผู้ที่ป่วยเป็นไซนัสอักเสบเรื้อรังในกลุ่มผู้ป่วย (ร้อยละ 11.1) สูงกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 1.0) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P=0.004$) อัตราของการติดเชื้อไวรัส EBV และ HCV การตรวจหา IgA ต่อ VCA EBV ผลการวิจัย พบว่า กลุ่มผู้ป่วยร้อยละ 95.8 (69 ราย ใน 72 ราย) เป็นผู้ที่ติดเชื้อ EBV ซึ่งสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่พบการติดเชื้อเพียงร้อยละ 36.4 (35 ราย ใน 96 ราย) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$)

การหาความสัมพันธ์ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกในแต่ละประเภทอาชีพ พบว่า กลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มควบคุมส่วนใหญ่ทำอาชีพเกษตรกรรมโดยพบได้ร้อยละ 42.5 และ 35.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกกับอาชีพเกษตรกรรม ($OR=1.3$, 95% CI 0.80-2.24) อีกทั้งไม่พบความแตกต่างของอาชีพค้าขาย พ่อครัว ช่างฝีมือทั่วไป พนักงานขับรถ และรับจ้างทั่วไปในคนทั้งสองกลุ่มอาชีพที่พบความเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือ อาชีพช่างไม้ พบได้ร้อยละ 13.3 ในกลุ่มผู้ป่วย และร้อยละ 3.7 ในกลุ่มควบคุม ($OR=4$,

95% CI 1.40-11.32) ในทางตรงกันข้าม อาชีพที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกต่ำ คือ อาชีพรับราชการ หรือพนักงานบริษัท ที่ส่วนใหญ่ทำงานบริหารหรือธุรการอยู่ในสำนักงาน (OR=0.2, 95% CI 0.08-0.58)

การวิเคราะห์การสัมผัสสิ่งคุกคามที่เกิดจากการประกอบอาชีพ ซึ่งในโครงการนี้ศึกษาสิ่งสัมผัส 3 ชนิด คือ ฝุ่นไม้ ฟอร์มัลดีไฮด์ และตัวทำละลาย ผลการศึกษาพบว่า การสัมผัสฝุ่นไม้มีผลต่อการเพิ่มความถี่ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกถึง 6 เท่า (OR=6.0, 95% CI 1.54-23.56) (ตารางที่ 3) การสัมผัสกับฟอร์มัลดีไฮด์ก็พบความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเช่นกัน แต่ไม่มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=1.9, 95% CI 0.93-3.78) ส่วนการสัมผัสตัวทำละลายไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดโรค (OR=1.5, 95% CI 0.76-3.08) แต่เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลเพิ่มเติมในผู้ที่สัมผัสสิ่งคุกคามเหล่านี้ โดยเลือกระยะเวลาการสัมผัสที่มากกว่า 5 ปีขึ้นไปพบว่า การสัมผัสฝุ่นไม้หรือฟอร์มัลดีไฮด์ยังคงให้ผลเช่นเดิม ต่างจากการสัมผัสตัวทำละลายที่พบความเสี่ยงของการเกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=2.4, 95% CI 1.21-4.85) ซึ่งเดิมไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดโรคในผู้ที่สัมผัสตัวทำละลายที่น้อยกว่า 5 ปี

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

	Case (%)	Control (%)	P-value
เพศ			0.791
ชาย	55 (76.4)	71 (74.0)	
หญิง	17 (23.6)	25 (26.0)	
อายุเฉลี่ย \pm SD	49.96 \pm 12.43	51.07 \pm 12.18	0.944
เชื้อชาติ			0.385
ไทย	72 (100)	95 (99.0)	
ไทย-จีน	-	1 (1.0)	
สูบบุหรี่			0.011
สูบบุหรี่	42 (58.3)	37 (38.5)	
ไม่สูบบุหรี่	30 (41.7)	59 (61.7)	
ดื่มสุรา			0.002
ดื่มสุรา	49 (68.1)	42 (43.7)	
ไม่ดื่มสุรา	23 (31.9)	54 (56.3)	
ปลาเค็ม			0.054
< 1 ครั้ง/สัปดาห์	59 (81.9)	73 (76.0)	
\geq 1 ครั้ง/สัปดาห์	8 (18.1)	23 (24.0)	
เยื่อจมูกอักเสบ			0.464
เคยเป็น	3 (4.2)	1 (1.0)	
ไม่เคยเป็น	69 (95.8%)	95 (99.0%)	
ไซนัสอักเสบ			0.004
เคยเป็น	8 (11.1)	1 (1.0)	
ไม่เคยเป็น	64 (88.9)	95 (99.0)	
การติดเชื้อ EVB			< 0.001
ผลบวก	69 (11.1)	35 (36.4)	
ผลลบ	64 (88.9)	61 (63.6)	

ตารางที่ 2 ความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งหลังโพรงจมูกในแต่ละประเภทอาชีพ (เปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ทำงานในอาชีพนั้นๆ)

อาชีพ	Case (%)	Control (%)	OR ^a (95%CI)
ราชการ, พนักงานบริษัท	6 (5.3)	30 (22.2)	0.2 (0.08-0.58)
ค้าขาย, ธุรกิจส่วนตัว	4 (3.5)	8 (5.9)	0.6 (0.17-1.99)
พ่อครัว, แม่ครัว	6 (5.3)	7 (5.2)	1.0 (0.33-3.14)
เกษตรกรกรรม	48 (42.5)	48 (35.6)	1.3 (0.80-2.24)
ช่างฝีมือทั่วไป	10 (8.8)	10 (7.4)	1.2 (0.49-3.03)
ช่างไม้	15 (13.3)	5 (3.7)	4.0 (1.40-11.32)
พนักงานขับรถ	7 (6.2)	10 (7.4)	0.8 (0.31-2.29)
รับจ้างทั่วไป	14 (12.5)	15 (11.1)	1.1 (0.52-2.46)
ไม่ได้ทำงาน	3	2	

^a adjusted OR โดย อายุ เพศ บุหรี่ สุรา ^b รับประทานมากกว่า 1 ครั้งต่อสัปดาห์

ตารางที่ 3 ความเสี่ยงของการสัมผัสกับสารฝุ่นไม้ พอร์มาลดีไฮด์ และ ตัวทำละลายที่เกิดจากการประกอบอาชีพกับการเกิดมะเร็งหลังโพรงจมูก

สิ่งสัมผัส	Case (%)	Control (%)	OR ^a (95% CI)
ฝุ่นไม้	13 (18.1)	3 (3.1)	6.0 (1.54-23.56)
> 5 ปี	7 (9.7)	2 (2.0)	5.3 (1.13-25.24)
พอร์มาลดีไฮด์	8 (11.1)	4 (4.2)	1.9 (0.93-3.78)
> 5 ปี	5 (6.9)	3 (3.1)	2.4 (0.61-10.85)
ตัวทำละลาย	26 (36.1)	20 (20.8)	1.5 (0.76-3.08)
> 5 ปี	24 (33.3)	17 (17.7)	2.4 (1.21-4.85)
ไม่สัมผัส	25	69	

*adjusted OR โดย อายุ เพศ บุหรี่ สุรา

อภิปรายผล

โรคมะเร็งเป็นโรคที่เกิดจากหลายปัจจัยเสี่ยงร่วมกัน โดยสาเหตุหลักเกิดจากการสัมผัสสารก่อมะเร็งที่มาจากสิ่งแวดล้อมรวมถึงพฤติกรรมเสี่ยงต่างๆ โดยทั่วไปการสัมผัสสารก่อมะเร็งที่เกิดจากการประกอบอาชีพ พบว่ามีความแตกต่างกันในแต่ละอาชีพ ข้อมูลจากมหาวิทยาลัยฮาร์วาร์ดเปิดเผยว่าสาเหตุการเกิดโรคมะเร็งที่เกิดจากการประกอบอาชีพพบได้ร้อยละ 5 ของการเกิดโรคมะเร็งทั้งหมด¹³ นอกจากนี้ Leigh และคณะ¹⁴ ได้ประมาณการไว้ว่าในปีหนึ่งๆจะพบผู้ป่วยที่เกิดจากการประกอบอาชีพ 10.7 ล้านคนทั่วโลก และในจำนวนนี้จะเป็นโรคมะเร็งปีละประมาณ 190,000 คน

การศึกษาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกในครั้งนี้พบว่า อัตราการสูบบุหรี่ในกลุ่มผู้ป่วยสูงกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งผลการวิจัยคล้ายกับ

การศึกษาอื่นๆ^{5, 15} โดยเฉพาะรายงานการศึกษาในปี ค.ศ. 2008 ของ Abdulami และ ทีมผู้วิจัยได้ทำการศึกษาในชาวตะวันออกกลาง พบว่า การสูบบุหรี่มีความสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกอย่างชัดเจน โดยเฉพาะเมื่อเปรียบเทียบกับมะเร็งหลอด จมูก อย่างไรก็ตามในบางการศึกษาไม่พบความสัมพันธ์ของการสูบบุหรี่กับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก^{17, 18} การดื่มสุราก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรค การศึกษาในครั้งนี้พบอัตราการดื่มสุราในกลุ่มผู้ป่วยสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ร้อยละ 68.1 และ 43.7 ตามลำดับ) ($P=0.002$) และมีบางรายงานการศึกษาที่ให้ผลคล้ายกับการศึกษาในครั้งนี้^{19, 16} อย่างไรก็ตาม การศึกษาส่วนใหญ่ไม่พบความสัมพันธ์ของการดื่มสุรากับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก ยกเว้นการดื่มในปริมาณมากเท่านั้น²⁰

การรับประทานปลาเค็ม ปลาข้าว หรือผักดอง ไม่พบความแตกต่างของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก ในกลุ่มประชากรศึกษานี้ ซึ่งผลที่ได้แตกต่างจากรายงานของ Sriamporn และคณะ ในปี ค.ศ. 1992 ที่พบความเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มขึ้น 2.5 เท่าในผู้ที่รับประทานปลาเค็ม¹⁸ และอีกหลายการศึกษาในประเทศจีนและไต้หวันที่พบการเพิ่มความถี่ของการเกิดโรคมะเร็งโพรงหลังจมูกอย่างชัดเจนในคนที่รับประทานปลาเค็มชนิด cantonese salted dried fish โดยเฉพาะเมื่อเริ่มรับประทานตั้งแต่ในวัยเด็ก^{3,4} อย่างไรก็ตามการศึกษาในประเทศฟิลิปปินส์ในปี ค.ศ. 1993 โดย West และคณะไม่พบความสัมพันธ์ของการรับประทานปลาเค็มกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก¹¹ ถึงแม้ว่าปลาเค็มเกือบทุกชนิดจะตรวจพบสารในโตรซามีน แต่ปริมาณที่ตรวจพบอาจแตกต่างกันเนื่องจากวิธีการทำที่แตกต่างกันในแต่ละพื้นที่

การหาความสัมพันธ์ระหว่างอาชีพกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก วิเคราะห์โดยปรับปัจจัยรบกวน (adjusted odds ratio) ด้าน อายุ เพศ การสูบบุหรี่ การดื่มสุรา และการเป็นช่างไม้ อักเสบเรื้อรัง แต่ในการวิเคราะห์นี้ไม่ได้้นำปัจจัยการติดเชื้อ EBV มาวิเคราะห์ด้วย เนื่องจากมีข้อมูลค่อนข้างชัดเจนว่าการติดเชื้อ EVB เป็นปัจจัยพื้นฐานสำคัญในการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก จึงทำให้การศึกษาส่วนใหญ่ไม่ได้นำมาคิดเป็นปัจจัยรบกวน^{18, 21} และในการศึกษานี้ผู้ป่วยส่วนใหญ่ก็เป็นผู้ติดเชื้อไวรัส EBV (95.8%) ส่วนการวิเคราะห์เรื่องอาชีพผลการศึกษพบว่า ประชากรส่วนใหญ่ทั้งในกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่ม

ควบคุมประกอบอาชีพเกษตรกรรม (ร้อยละ 42.5 และ 35.6 ตามลำดับ) แต่ไม่พบความแตกต่างของความถี่ต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกในคนทั้ง 2 กลุ่ม ผลการศึกษานี้แตกต่างจากของ Sriamporn และคณะ¹⁸ ที่พบว่าผู้ที่ทำอาชีพเกษตรกรรมมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก 2.8 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ประกอบอาชีพเกษตรกรรม และทำงานเกี่ยวข้องกับการตัดเลื่อยไม้ (OR=2.8, 95% CI 1.3-6.2) อาชีพช่างไม้เป็นเพียงอาชีพเดียวเท่านั้นในการศึกษานี้ที่พบได้สูงในกลุ่มผู้ป่วย (ร้อยละ 13.3) มากกว่ากลุ่มควบคุม (ร้อยละ 3.7) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติโดยพบความเสี่ยงเพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ประกอบอาชีพช่างไม้ ซึ่งผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Vaughan และคณะ²² ที่พบความเสี่ยงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในผู้ที่ประกอบอาชีพช่างไม้ก่อสร้าง (OR=4.8, 95% CI 1.2-5.9) และคล้ายกับของ Sriamporn และคณะ¹⁸ ที่รายงานความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งโพรงหลังจมูก 4.1 เท่าในผู้ที่ทำงานตัดเลื่อยไม้ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่ไม่ได้ประกอบอาชีพเกษตรกรรมและไม่ได้ประกอบอาชีพเกี่ยวข้องกับการตัดเลื่อยไม้ อย่างไรก็ตามการศึกษาดังกล่าวไม่พบว่ามี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=4.1, 95% CI 0.8 -22.1) ในทางกลับกันพบว่าผู้ที่ทำงานธุรการหรือการบัญชีมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=0.2, 95% CI 0.08 - 0.58) ขณะนี้ยังไม่มีการรายงานจากการศึกษาอื่นที่รายงานความสัมพันธ์ของ

การเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกกับอาชีพนี้ จึงไม่สามารถเปรียบเทียบผลการศึกษานี้กับการศึกษาอื่นๆ ได้อย่างไรก็ตามเหตุผลที่อาจอธิบายผลการศึกษานี้ได้น่าจะเกี่ยวข้องกับการมีเศรษฐกิจฐานะที่แตกต่างกัน มีการศึกษาในหลายประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมทั้งในประเทศอินเดีย ที่เคยรายงานว่าคนที่เศรษฐกิจฐานะดีน้อยกว่าจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกสูงกว่าคนมีเศรษฐกิจฐานะดี²³ ในการศึกษาที่พบว่าร้อยละ 22.2 ในกลุ่มควบคุมประกอบอาชีพรับราชการหรือเป็นพนักงานบริษัท ซึ่งพบได้มากกว่ากลุ่มควบคุมที่ประกอบอาชีพนี้เพียงร้อยละ 5.3

การศึกษานี้ยังได้วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของการสัมผัสฝุ่นไม้ (Wood dust) ฟอรัมาลดีไฮด์ (formaldehyde) และตัวทำละลาย (solvents) กับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก ซึ่งเป็นสิ่งสัมผัสที่เคยมีรายงานการศึกษาอย่างกว้างขวางมาแล้วในอดีต ผลการศึกษาทางระบาดวิทยาชี้ให้เห็นค่อนข้างชัดเจนว่าการสัมผัสกับฝุ่นไม้ มีความเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก (Nasal cavity)^{24,25} มีการศึกษาพบว่าสารสกัด จากฝุ่นไม้ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (point mutation) ของแบคทีเรีย Salmonella typhimurium ได้^{26,27} ทำให้เกิด DNA single-strand breaks ของเซลล์ตับของหนูในหลอดทดลองได้²⁸ หรือทำให้เกิดลักษณะ micronuclei มากขึ้นในเซลล์ลำไส้เล็กและเยื่อจมูกของหนู²⁹ อย่างไรก็ตามข้อมูลการศึกษาในสัตว์ทดลอง เช่น การสัมผัสฝุ่นไม้ด้วย

การสูดดม³⁰ การฉีดฝุ่นไม้เข้าช่องท้องของ Wistar rats³¹ พบว่าฝุ่นไม้ไม่สามารถทำให้เกิดมะเร็งได้ จากข้อมูลที่มีทั้งหมดในขณะนี้ International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้จัดให้ฝุ่นไม้เป็นสารก่อมะเร็งกลุ่ม 1 คือกลุ่มที่เชื่อว่าสามารถทำให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ได้ ซึ่งผลการศึกษานี้พบว่าการสัมผัสฝุ่นไม้มีผลต่อการเพิ่มความถี่ต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก 6 เท่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR=6, 95% CI 1.54-23.56) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้ก็คล้ายกับการศึกษาอื่น ที่พบว่าความเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นในผู้ที่ประกอบอาชีพที่มีการสัมผัสกับฝุ่นไม้^{11,21} อย่างไรก็ตามมีบางการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกกับการสัมผัสกับฝุ่นไม้^{32,10}

ฟอรัมาลดีไฮด์ เป็นสารก่อมะเร็งที่อยู่ในกลุ่ม 1 เช่นเดียวกับฝุ่นไม้ การศึกษาส่วนใหญ่รายงานผลไปในทิศทางเดียวกันคือ การสัมผัสฟอรัมาลดีไฮด์มีผลเพิ่มความถี่ต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก¹⁰⁻¹² ในการศึกษาที่พบความเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มขึ้น 1.9 เท่า อย่างไม่มีนัยสำคัญ (OR=1.9, 95% CI 0.93-3.78) ในผู้ที่ทำงานสัมผัสกับฟอรัมาลดีไฮด์ ส่วนการสัมผัสกับตัวทำละลายไม่พบว่าจะไม่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก (OR=1.5, 55% CI 0.76-3.08) ซึ่งก็คล้ายกับการศึกษาในประเทศฟิลิปปินส์¹¹ และได้หวัน²¹ แต่การศึกษาในประเทศจีนที่เป็น cohort study พบความเสี่ยงของการเกิดโรคเพิ่มสูงขึ้นในผู้ที่ทำงานสัมผัสกับตัวทำละลาย³³ แต่หากวิเคราะห์ผลจากการสัมผัส

ตัวทำลายที่มากกว่า 5 ปีขึ้นไป จะพบว่าการสัมผัสตัวทำลายสามารถเพิ่มความถี่ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกได้ 2.4 เท่า (OR=2.4,95% CI 1.21-4.85) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้อาจมีความคลาดเคลื่อนเพราะบางรายไม่ทราบว่าอาชีพที่ตนเองทำอยู่มีการสัมผัสกับอาชีพนี้หรือไม่

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น โดยมีจุดมุ่งหมายหาปัจจัยเสี่ยงของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก โดยเฉพาะอาชีพที่อาจมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีข้อจำกัดอยู่หลายประการ ประการแรกคือ รูปแบบของการศึกษาแบบ case-control study นั้น ข้อมูลที่ได้เป็นการถามสิ่งที่เกิดขึ้นในอดีตทำให้คำตอบมีความคลาดเคลื่อนอีกประการหนึ่งคือ จำนวนตัวอย่างอาสาสมัครที่มีจำนวนน้อยเกินไปควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตด้วยจำนวนตัวอย่างอาสาสมัครที่มากกว่าเดิม การวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับการสัมผัสสารก่อมะเร็งที่เกิดจากการประกอบอาชีพควรมีการวิเคราะห์โดยใช้ปัจจัยอื่น ๆ มาวิเคราะห์ด้วยเช่น อายุที่เริ่มมีการสัมผัสสารแต่ละชนิด ปริมาณความเข้มข้นของการสัมผัส เพราะในแต่ละตำแหน่งของการทำงานจะมีโอกาสสัมผัสสารในปริมาณที่แตกต่างกัน แต่การวิเคราะห์ข้อมูลโดยละเอียดนั้นเป็นเรื่องที่ซับซ้อนเนื่องจากสถานประกอบการส่วนใหญ่ในประเทศไทยไม่มีการรายงานข้อมูลเหล่านี้ การวิเคราะห์ข้อมูลอาจจะทำได้โดยใช้ความเห็นจากผู้เชี่ยวชาญ

เช่น ให้นักสุขศาสตร์อุตสาหกรรมเป็นผู้ประเมินการสัมผัส ซึ่งขณะนี้กำลังดำเนินการศึกษาในเรื่องนี้อยู่

โดยสรุปการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าอาชีพช่างไม้เป็นอาชีพที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูก และนอกจากการสัมผัสกับฝุ่นไม้แล้วการสัมผัสฟอร์มาลดีไฮด์ หรือตัวทำลายเป็นระยะเวลาานานก็อาจมีผลต่อการเพิ่มความถี่ของการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกได้ การศึกษานี้ถึงแม้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นแต่น่าจะเป็นประโยชน์ต่อความรู้ความเข้าใจของสาเหตุการเกิดมะเร็งโพรงหลังจมูกในคนไทยและจะเป็นประโยชน์ต่อการป้องกันการเกิดโรคต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณอาสาสมัครโครงการทุกท่าน ที่ได้สละเวลาให้ข้อมูลและบริจาคเลือดเพื่อการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ ศูนย์มะเร็งอู่บลราชธานี ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือเก็บตัวอย่างอาสาสมัคร โครงการ โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยที่ได้รับการอนุมัติจาก เงินงบประมาณประจำปี พ.ศ. 2550 – พ.ศ. 2552 จากสถาบันมะเร็งแห่งชาติ กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารอ้างอิง

1. Fedder M, Gonzalez MF. Nasopharyngeal carcinoma-Brief review. Am J Med 1985; 79: 365.

2. Hildesheim A, and Levine PH. Etiology of nasopharyngeal carcinoma: a review. *Epidemiol* 1993; 15: 466–485.
3. Key TJ, Schatzkin A, Willett WC, et al. Diet, nutrition and the prevention of cancer. *Public Health Nutr* 2004; 7(1A): 187-200.
4. Zheng YM, Tuppin P, Hubert A, et al. Environmental and dietary risk factors for nasopharyngeal carcinoma: a case-control study in Zangwu County, Guangxi, China. *Br J Cancer* 1994; 69(3): 508–514.
5. Nam JM, McLaughlin JK, Blot WJ. Cigarette smoking, alcohol, and nasopharyngeal carcinoma: a case-control study among US Whites. *J Natl Cancer Inst* 1992; 84: 619-22.
6. Yu MC, Garabrant DH, Huang TB, et al. Occupational and other non-dietary risk factors for nasopharyngeal carcinoma in Guangzhou, China. *Int J Cancer* 1990; 45: 1033-1039.
7. Lynge E, Anttila A, and Hemminki K. Organic solvents and cancer. *Cancer Causes Control* 1997; 8: 406–419.
8. Vaughan TL, Davis S. Wood dust exposure and squamous cell cancers of the upper respiratory tract. *Am J Epidemiol* 1991; 133: 560–564.
9. Zheng W, McLaughlin JK, Gao YT, et al. Occupational risks for nasopharyngeal cancer in Shanghai. *J Occup Med* 1992; 34: 1004–1007.
10. Vaughan TL, Stewart PA, Teschke K, et al. Occupational exposure to formaldehyde and wood dust and nasopharyngeal carcinoma. *Occup Environ Med* 2000; 57: 376–384.
11. West S, Hildesheim A, Dosemeci M. Non-viral risk factor for nasopharyngeal carcinoma in The Philippines: results from a case-control study. *Int J Cancer* 1993; 55: 1–6.
12. Partanen T. Formaldehyde exposure and respiratory cancer: a meta-analysis of the epidemiologic evidence. *Scand J Work Environ Health* 1993; 19: 8–15.
13. Harvard reports on cancer prevention. Human causes of cancer. *Cancer Causes Control* 1996; 7: 33-35.
14. Leigh J, Macaskill P and Kuosama E. Global burden of disease and injury due to occupational factors. *Epidemiology* 1999; 10: 626-631.
15. Chen CI, Liang KY, Chang YS, et al. Multiple risk factors of nasopharyngeal carcinoma: Epstein-Barr virus, malarial infection, cigarette smoking and familial tendency. *Anticancer Res* 1990; 10: 547 -554.
16. Abdulmir AS, Hafidh RR, Abdulmuhammen N, et al. The distinctive profile of risk factors of nasopharyngeal carcinoma in comparison with other head and neck cancer types. *BMC Public Health* 2008; 8: 400.
17. Ning JP, Yu MC, Wang QS, et al. Consumption of salted fish and other risk factors for nasopharyngeal carcinoma (NPC) in Tianjin, a low-risk region for NPC in the People's Republic of China. *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 291 -296.
18. Sriamporn S, Vatanasapt V, Pisani P, et al. Environmental Risk Factors for

- Nasopharyngeal Carcinoma: A Case-Control Study in Northeastern Thailand. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 1992; 345-348.
19. Armstrong RW, Imrey PB, Lye MS, et al. Nasopharyngeal carcinoma in Malaysian Chinese: salted fesh and other dietary exposures. *Int J Cancer* 1998; 77: 228-35.
20. Liwei C, Galliccho L, Boyd K, et al. Alcohol consumption and the risk of nasopharyngeal cancer: A Systematic Review. *Nutr Cancer* 2009; 61: 1-15.
21. Hildesheim A, Dosemeci M, Chan CC, et al. Occupational exposure to wood, formaldehyde, and solvents and risk of nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001 Nov; 10(11): 1145-53.
22. Vaughan T L. Occupation and squamous cell cancers of the pharynx and sinonasal cavity. *Am J Ind Med* 1989; 16: 493-510.
23. Geser A, Charnay N, Day NE, et al. Environmental factors in the etiology of nasopharyngeal carcinoma: report of a case-control study in Hong Kong. In: de The G, Ito Y, eds. *Nasopharyngeal Carcinoma Etiology and Control*, Vol 20. Lyon: IARC,1978: 213-229.
24. International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic risks to humans. Wood Dust and Formaldehyde. IARC Scientific Publ. No 62. Lyon, France: IARC, 1995.
25. Pesch B, Pierl CB, Gebel M, et al. Occupational risks for adenocarcinoma of the nasal cavity and paranasal sinuses in the German wood industry. *Occup Environ Med* 2008; 65(3): 191-196.
26. Mohtashampur E, Norpoth K. Release of mutagens after chemical or microbial degradation of beech wood lignin. *Toxicol Lett* 1990 May; 51(3): 277-85.
27. Mohtashampur E, Norpoth K, Hallerberg B. A fraction of beech wood mutagenic in the Salmonella/mammalian microsome assay. *Int Arch Occup Environ Health* 1986; 58(3): 227-34.
28. Schmezer P, Kuchenmeister F, Klein RG, et al. Study of the genotoxic potential of different wood extracts and of selected additives in the wood industry. *Arbeitsmed Sozialmed Umweltmed* 1994; 21: 13 - 7.
29. Nelson E, Zhou Z, Carmichael PL, et al. Genotoxic effects of subacute treatments with wood dust extracts on the nasal epithelium of rats: assessment by the micronucleus and 32P-postlabelling. *Arch Toxicol* 1993; 67(8): 586-9.
30. Tanaka I, Haratake J, Horie A, et al. Cumulative toxicity potential of hardwood dust and sidestream tobacco smoke in rats by repeated inhalation. *Inhal Toxicol* 1991; 3: 101 - 12.
31. Pott F, Roller M, Ziem U, et al. Carcinogenicity studies on natural and man-made fibres with the

intraperitoneal test in rats. IARC Sci Publ 1989;
90(90): 173-9.

32. Olsen JH, Jensen SP, Hink M, et al.
Occupational formaldehyde exposure and
increased nasal cancer risk in man. Int J Cancer
1984 Nov 15; 34(5): 639-44.
33. Hayes RB, Yin SN, Dosemeci M, et al.
Mortality among benzene-exposed workers in
China. Environ Health Perspect 1996; 104:
1349-1352.

การศึกษาเปรียบเทียบระดับของแคดเมียมในไตของปลุสัตว์จากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก กับตัวอย่างจากปริมณฑลของกรุงเทพฯ

ปารณีย์ ญาติมาก¹, ชาวลิต นาคทอง¹ และ นพมาศ ตระการรังสี^{1*}

¹คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม

บทคัดย่อ

แคดเมียมจัดเป็นโลหะหนักที่มีความเป็นพิษ ซึ่งการปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมสามารถส่งผ่านมาตามห่วงโซ่อาหารสู่มนุษย์ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระดับการตกค้างของแคดเมียมในไตของปลุสัตว์ 2 ชนิด คือ วัวเนื้อและสุกรที่รวบรวมจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ซึ่งเป็นพื้นที่ที่พบปัญหาการปนเปื้อนเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ได้จากบริเวณปริมณฑลของกรุงเทพฯ และพื้นที่ใกล้เคียง ผลการศึกษาตรวจพบระดับของแคดเมียมในตัวอย่างจากแม่สอด ดังนี้ ไตวัวเนื้อ, geomean: 0.91 ± 0.43 mg/kg, range: 0.19 – 19.60 mg/kg, n=53; ไตสุกร, geomean: 0.73 ± 0.67 mg/kg, range: 0.09 - 40.14 mg/kg, n=112 ในขณะที่ตัวอย่างจากบริเวณกรุงเทพฯ พบค่าการตกค้างในระดับที่น้อยกว่า ดังนี้ ไตวัวเนื้อ, geomean: 0.14 ± 0.11 mg/kg, range: 0.02 – 2.38 mg/kg, n=27; ไตสุกร, geomean: 0.56 ± 0.44 mg/kg, range: 0.01 – 20.21 mg/kg, n=102 ทั้งนี้หากพิจารณาจากเกณฑ์ความปลอดภัยทางด้านอาหารซึ่งกำหนดให้มีการตกค้างของแคดเมียมในไตปลุสัตว์ได้ไม่เกิน 1 mg/kg แล้วจะพบว่าตัวอย่างไตวัวเนื้อจากแม่สอดประมาณ 50% จัดอยู่ในกลุ่มที่ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค โดยมีจำนวนมากว่าตัวอย่างจากบริเวณกรุงเทพฯ ซึ่งพบอยู่ที่ระดับ 7% ส่วนกรณีของไตสุกรนั้นมีข้อน่าสังเกตว่าทั้ง 2 พื้นที่ที่ทำการศึกษามพบสัดส่วนของจำนวนตัวอย่างที่มีการตกค้างของแคดเมียมเกินกว่าค่าที่กำหนดไว้ในระดับที่ใกล้เคียงกัน คือ แม่สอด 27% และบริเวณกรุงเทพฯ 29% จึงอาจกล่าวโดยรวมได้ว่าการพบการปนเปื้อนของแคดเมียมในระดับที่ไม่ปลอดภัยและพบในสัดส่วนที่ค่อนข้างสูงในตัวอย่างทั้งในและนอกพื้นที่ปนเปื้อน อาจส่งผลให้ผู้บริโภค โดยเฉพาะกลุ่มที่นิยมการบริโภคเครื่องในสัตว์ มีโอกาสเสี่ยงต่อการได้รับแคดเมียมเข้าสู่ร่างกายในปริมาณสูง อย่างไรก็ตามควรมีการสุ่มตรวจตัวอย่างในพื้นที่อื่นๆ เพิ่มเติม รวมถึงการส่งเสริมให้มีมาตรการเฝ้าระวัง พร้อมกับการณรงค์ให้ความรู้แก่ผู้บริโภคอย่างสม่ำเสมอในการหลีกเลี่ยงอาหารกลุ่มเสี่ยง อันจะเป็นการช่วยสร้างความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยของอาหารกลุ่มที่เป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และช่วยลดความเสี่ยงต่อการได้รับแคดเมียมผ่านทางอาหารเหล่านั้น

คำสำคัญ: แคดเมียม ไต วัวเนื้อ สุกร กรุงเทพฯ ตาก

* Corresponding author:

รศ.สพ.ญ.ดร. นพมาศ ตระการรังสี

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม ๗๓๑๖๐

E-mail: vsntk@mahidol.ac.th

Comparative Evaluation of Cadmium Contents in Livestock's Kidney from Measot District, Tak Province and the SW Vicinity of Bangkok.

Yatmark P¹, Nakthong C¹ and Trakranrungsie N^{1*}

¹Faculty of Veterinary Science, Mahidol University-Salaya, Nakhonpathom 73170 Thailand

ABSTRACT

Cadmium (Cd), a toxic metal, is considered as an environmental and industrial pollutant. The risk of Cd exposure in non-smoking population is constantly increasing through its contamination via the food chain. In the present study, Cd contents in kidney samples of beef and pig collected from 2 locations: 1) a Cd polluted region of Maesot, Tak and 2) SW vicinity of Bangkok were evaluated. The results revealed that samples from Maesot had broader ranges of Cd levels both in bovine kidneys (geomean: 0.91 ± 0.43 mg/kg, range: 0.19 – 19.60 mg/kg, n=53) and pig kidneys (geomean: 0.73 ± 0.67 mg/kg, range: 0.09 - 40.14 mg/kg, n=112), compared to those from SW vicinity of Bangkok (geomean: 0.14 ± 0.11 mg/kg, range: 0.02 – 2.38 mg/kg, n=27, for bovine kidneys; and geomean: 0.56 ± 0.44 mg/kg, range: 0.01 – 20.21 mg/kg, n=102, for pig kidneys). Based on the maximum limit for Cd in kidney (1 mg/kg), the results also indicated a significantly higher ratio of unsafe beef kidneys from Maesot. Interestingly, although the highest level of Cd detected in pig kidneys from Maesot was twice higher, the percentage of unsafe products was comparable between the 2 locations. As such levels of contamination render these animal products the potential risk to consumer, it is suggested that monitoring of Cd level in livestock organs should be regularly conducted and not be limited to the polluted areas. Consumer education and the routine removal of the high-risk products from the food chain would also help reduce human Cd intake.

Keywords: cadmium, kidney, beef cattle, pig, Bangkok, Tak

***Corresponding author:**

Assoc. Prof. Dr. Nopamart Trakranrungsie
Faculty of Veterinary Science, Mahidol University
Salaya, Nakhonpathom 73170, Thailand
E-mail: vsntk@mahidol.ac.th

Introduction

Cadmium (Cd), a nonessential trace mineral, is a highly toxic metal that occurs widely in nature as a contaminant of zinc. It is present as an industrial pollutant, a food contaminant and as one of the major constituents of cigarette smoke. Cd has been proved toxic to many organs including cardiovascular system, immune system, liver, lung, kidney, brain and bone. It can also interfere reproductive function and has been classified as a category I carcinogen (human carcinogen), mutagen and a teratogen.¹⁻³

The incidence of Cd-polluted environment has been reported in many regions around the world during the past 50 years.⁴⁻⁶ Recently, the case of Cd pollution near the zinc-mineralized area in Mae Sot district, Tak province, Thailand has been described. Investigation of Cd levels in soil samples revealed several magnitudes higher than the Thai background soil Cd levels and European Economic Community Maximum Permissible levels.^{7, 8} Due to the high mobility of this metal in soil-plant systems, Cd can be readily transferred through the food chain and can be found in virtually all foods.⁸⁻¹¹ As evidence of this, for example, rice samples from the polluted fields were found to be contaminated with Cd at the levels ranging from 0.1 to 4.4 mg/kg, whilst the average Thai background rice Cd concentrations was 0.043 mg/kg.^{8, 9} Since food is generally the main Cd source in non-smoking population and the limits are considered to have very small margins of safety, it is not then surprised that the adverse health impact of Cd on exposed local populations of Mae Sot district have been confirmed.¹²⁻¹⁵

With regard to foods from animal origin, kidney is the first organ to reach the

limit of fitness for human consumption.¹⁶ In addition, many Thais habitually consume offal, in which domestic information concerning Cd concentration appears limited. The aim of this study therefore was to investigate the presence of Cd in kidney samples from two livestock species, beef cattle and pig, collected from Maesot district, Tak province, where it has been considered a potentially Cd polluted area, and the southwest (SW) vicinity of Bangkok (BKK), treated as a reference site. Cadmium contents and levels compared between the two locations were determined. It is anticipated that the knowledge of Cd levels in livestock species would be valuable for risk estimation of Cd carrying over to human as the final consumer.

Materials and Method

Study sites

The present study was conducted in Mae Sot district, considered a zinc mineralized area in Tak Province, Thailand, of which earlier reports revealed average Cd concentrations in water ranged from ND (not detectable) to 5 µg/l during dry and rainy season, and total Cd levels in surface sediments and soils ranged from 64 to 1458 mg/kg.^{10, 11} Meanwhile, the southwest (SW) vicinity of Bangkok (BKK) was treated as a reference site where incidence of Cd pollution has not been reported.

Samples collection

Kidney samples from 53 beef cattle raised in Maesot area were collected either at the abattoirs or the local market. The 112 pig kidneys were obtained from Maesot market, of which were further classified into 2 categories: supermarket (n=57) and local market (n=55) types. The 'supermarket' type of Maesot pig kidneys was defined as

samples from a major local producer, while those of 'local market' type were samples from several small-scale holders in the area.

In the area of SW vicinity of BKK, bovine kidneys (n=27) from locally raised animals were collected. Meanwhile, of 102 pig kidney samples, 46 samples were obtained from two major-chained supermarkets of which animals' origins were considerably diverse but mostly from lower central part of Thailand. The other 56 samples of a local market type were from small-scale producers in SW vicinity of BKK.

Collection of samples at Maesot and SW vicinity of BKK was conducted on a monthly basis during Nov. 2007 to May 2008. The cranial half of each kidney sample was packed separately in plastic bag and kept frozen at -20°C until analysis. The lag time between each collection and analysis was approximately 1 week.

Analytical method

Approximately 1 g subsamples were excised from semi-thawed tissues and digested in 5 ml concentrated nitric acid and 1 ml hydrogen peroxide in a microwave digestion system (Milestone, Ethos Plus). Digested samples were allowed to cool, then transferred to volumetric flask and diluted to 25 ml with ultrapure water. The sample solutions were analyzed for Cd by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS; Agilent-7500CX). Samples with Cd levels >14 ppm were re-analyzed and confirmed with ICP-OES (Perkin-Elmer The Optima 4300DV). The analytical process was conducted under a strict quality assurance. Precision and accuracy of Cd determination was evaluated, using the Standard Reference Material treated in the same system. Analytical recoveries were also evaluated using spiked samples

(n=5-8 for each batch of analysis), and ranging from 92%-97%. The limit of detection (LOD) and limit of quality (LOQ) were 0.002 and 0.004 mg/kg, respectively.

Statistical analysis

Data were reported as mean \pm sem, and 'n' being the number of animals from which samples were obtained. Statistical analysis was performed with SPSS (PASW Statistics 17.0). Comparison between locations was carried out by binomial test. The level of significance was set at 5%.

Result

Table 1 summarized Cd levels in kidneys from beef cattle and pigs collected from Maesot compared to those in samples from SW vicinity of BKK. It was noted that the 51% of beef kidneys from Maesot contained Cd greater than the permitted levels (maximum limits, MLs: 1 mg/kg), compared to 7% positive samples collected from SW vicinity of BKK. Regarding pig kidneys, samples from both locations had relatively broad range in Cd levels, of which the highest level found in Maesot sample was twice higher than that of the sample from SW of BKK. It is noteworthy, however, that the ratio of positive pig kidneys was comparable between the 2 locations.

When further examined the origin of high Cd contaminated pig kidneys samples, the results were tabulated in Table 2 and revealed that the samples from Maesot local market had the higher ratio of unsafe kidneys than the samples obtained from supermarket. On the contrary in the SW of BKK, the percentage of positive samples was slightly higher in samples of supermarket type than those from the local market type. It was also noted that 92% of positive samples from BKK supermarket were advertised under the quality assurance production. Concerning

the sample with the highest Cd level in this study (Maesot: 40.14 mg/kg and SW of BKK: 20.21 mg/kg), the record showed that each was the sample classified under the local market type.

Discussion

Although Cd contamination can be detected in almost all animal products, offal particularly kidney and liver from grazing ruminant and other mammals are regarded as high-risk products due to their ability to accumulate high Cd levels, which in turn present major sources of Cd being transferred to human. Cadmium intake is log-normally distributed and a small portion of the population might have an intake that is much higher than the average population. A fraction of population, including those who inhabit in the polluted areas and those regularly consume offal, could be considered as a high-risk group because offal would contribute significantly to their average daily Cd intake.¹⁷

Since 1998, a region where water has been naturally supplied by Mae Tao creek in Maesot district, Tak province, Thailand, has been suggested as the potentially high Cd polluted area.⁷⁻¹¹ The cattle, mainly fed on local grown fodder and pasture, could be considered the primary livestock species exposed to Cd contamination. As evidence of this, 51% of bovine kidneys from Maesot area, compared to 7% of those collected from SW vicinity of BKK, contained Cd at the levels regarded unsafe. Moreover, the highest level of Cd contamination in Maesot sample was approximately 10 times greater than the level detected in bovine sample from SW of BKK. Since beef cattle are normally grazing, animals reared in Cd contaminated areas are likely at greater risk of Cd exposure. This tendency has been shared by several studies and thus it has been suggested

that the degree of exposure observed in these animals could, at some extent, be an indicator reflecting the degree of contamination in the environment, but also a possible increment in human Cd exposure.¹⁸⁻²⁰

On the contrary and noteworthy, the ratios of positive pig kidneys were comparable between the 2 locations. Nonetheless, the highest level of Cd identified in kidney sample collected from Maesot was twice higher than that detected in the sample from SW of BKK. These findings were in agreement with the previous investigation that the markedly high Cd levels were found in kidneys, but not meat, of the pigs obtained from the Maesot area.²¹ It is then likely that the strikingly high Cd contamination in pig kidneys could be a result from multiple point sources, in which the local environmental Cd exposure may partly involve but has less impact than the bovine species. Although the source(s) of contamination were not clear, previous reports revealed that a premix containing Cd-contaminated zinc salt could be a major source of Cd at extremely high levels.^{21, 22} Additionally, non-identified individual factors, genetic and environmental, may also have the effect on Cd levels in pig kidney.²³ These lines of evidence would possibly explain the relatively high Cd accumulation in pig kidneys and the high percentage of unsafe products identified outside the contaminated region.

Due to the limited domestic information concerning levels of Cd residue in livestock kidney, data of Cd contamination in the bovine kidney from industrialized areas among countries were presented in Table 3 in order to evaluate relative consumer risk of high level exposure via this offal product. Our data in the present study were in the lower range of those recently reported in China and Jamaica.^{27, 28}

Meanwhile, the reported levels of Cd in pig kidneys from other countries, based on the available information thus far, were in the ranges of 0.3-10 mg/kg.^{23, 29-31} Hence, our present investigation revealing such a high level of Cd in pig kidneys and high ratios of positive samples at both study locations suggests that these products would likely pose Thais, particularly the offal consumers, at greater risk. Interestingly, it is well established that Cd intakes differ widely in different countries. While the provisional tolerance for Cd intake in humans has been set at 57-71 µg/day, the mean values of 177, 72 and 15 µg/day were estimated in Thailand, the US and the UK, respectively.^{16, 32} It is noteworthy that the average consumption of Cd reveals only part of the population. Certain groups of consumer including those habitually consume offal could further experience 'an extreme daily exposure' as suggested by the Cd levels reported in this study.

Based on the information concerning renal Cd contents in 2 livestock species, it is concluded that the samples from a polluted area accumulated higher Cd levels and at several magnitudes exceeding the permitted levels. The unsafe products however could be detected at both study locations and could potentially pose risk to the consumer. In addition, renal Cd contents in different livestock species might implicate the different point sources of Cd exposure in animals, prompting the need for further study in order to characterize those point sources, particularly in the pig production.

The FAO/WHO guidelines state that it is the national authorities' responsibility to assure that the food products do not contain toxic chemical substances at the levels susceptible to affect the health status of the consumer. Therefore, a continuous surveillance system of contaminants in food

is essential for consumer protection and facilitates international trade.³³ In the case of Cd-contaminated food of animal origin, the regular monitoring program in close cooperation with veterinary inspection should be implemented and the high-risk products should be removed from the food chain. Moreover, consumer education on food-derived Cd-related toxicity should also be strengthening since effective and safe regimens for reversal of cadmium accumulation in the body has not yet been available. Self-protection by avoiding cadmium intake would be an effective measure.

Acknowledgement

We would like to express our gratitude to the veterinary officers of the Department of Livestock Division, Mae Sot district, and Khun Pilaipan Ngamlamom, the former pharmacist of Maesot Hospital, for their great assistance on this project. We also thank Dr. Manop Muangyai of Chulalongkorn University for his kind suggestion and help in making a collaborative network. This work was supported in part by Faculty of Veterinary Science, Mahidol University.

References

1. ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological profile for cadmium. U.S. Department of Health and Human Service, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999: 281-90.
2. WHO-IPCS. Cadmium. Environmental Health Criteria, vol. 134. Geneva: WHO, 1992.
3. Järup L, Åkesson A. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 201-8.

4. Jin T, Nordberg M, Frech W, *et al.* Cadmium bio-monitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad). *Biometals* 2002; 15: 397-410.
5. Kobayashi E, Okubo Y, Suwazono Y, *et al.* Association between total cadmium intake calculated from the cadmium concentration in household rice and mortality among inhabitants of the cadmium-polluted Jinzu River basin of Japan. *Toxicol Lett* 2002; 129: 85-91.
6. Nordberg GF. Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol* 2009; 238: 192-200.
7. Zarcinas BA, Pongsakul P, McLaughlin MJ, *et al.* Heavy metals in soils and crops in Southeast Asia. 2. Thailand. *Environ Geochem Health* 2004; 26: 359-71.
8. Simmons RW, Pongsakul P, Saiyasitpanich D, *et al.* Elevated levels of cadmium and zinc in paddy soils and elevated levels of cadmium in rice grain downstream of a zinc mineralized area in Thailand: Implications for public health. *Environ Geochem Health* 2005; 27: 501-11.
9. Simmons RW, Pongsakul P, Chaney RL, *et al.* The relative exclusion of zinc and iron from rice grain in relation to rice grain cadmium as compared to soybean: Implications for human health. *Plant Soil* 2003; 257: 163-70.
10. Phaenark C, Pokethitiyook P, Kruatrachue M, *et al.* Cd and Zn accumulation in plants from the Padaeng zinc mine area. *Int J Phytoremediat* 2009; 11: 479-95.
11. Krissanakriangkrai O, Supanpaiboon W, Juwa S, *et al.* Bioavailable cadmium in water, sediment, and fish, in a highly contaminated area on the Thai-Myanma Border. *Thammasat Int J Sci Tech* 2009; 14: 60-8.
12. Honda R, Swaddiwudhipong W, Nishijo M, *et al.* Cadmium induced renal dysfunction among residents of rice farming area downstream from a zinc-mineralized belt in Thailand. *Toxicol Lett* doi:10.1016/j.toxlet.2010.04.023.
13. Padungtod C, Swaddiwudhipong W, Nishijo M, *et al.* Health Risk Management for Cadmium Contamination in Thailand: Are Challenges Overcome?, 2005. Available at http://www.who.int/ifcs/documents/forums/forum5/thai_padungtod.pdf; accessed June 7, 2010.
14. Swaddiwudhipong W, Limpatanachote P, Mahasakpan P, *et al.* Cadmium-Exposed Population in Mae Sot district, Tak province: I. Prevalence of high urinary cadmium levels in the adults. *J Med Assoc Thai* 2007; 90: 143-8.
15. Teeyakasem W, Nishijo M, Honda R, *et al.* Monitoring of cadmium toxicity in a Thai population with high-level environmental exposure. *Toxicol Lett* 2007; 169: 185-95.
16. Prankel SH, Nixon RM, Phillips CJC. Implications for the human food chain of models of cadmium accumulation in sheep. *Environ Research* 2005; 97: 348-58.
17. Saegerman C, Pussemier L, Huyghebaert A, *et al.* On-farm contamination of animals with chemical contaminants. *Rev Sci Tech Off Int Epiz* 2006; 25: 655-73.
18. Sedki A, Lekouch N, Gamon S, *et al.* Toxic and essential trace metals in muscle, liver and kidney of bovines from a polluted area of Morocco. *Sci Total Environ* 2003; 317: 201-5.
19. Miranda M, López-Alonso M, Castillo C, *et al.* Effects of moderate pollution on toxic and trace metal levels in calves

- from a polluted area of northern Spain. *Environ Int* 2005; 31: 543-8.
20. Brekken A, Steinnes E. Seasonal concentrations of cadmium and zinc in native pasture plants: consequences for grazing animals. *Sci Total Environ* 2004; 326: 181-95.
21. Satayavivad J. Chapter 21 Heavy Metals. In: Ruchirawat M, Satayavivad J, eds. *Environmental Toxicology*. Bangkok: Trinity Publishing Ltd, 2006: 257-72. (in Thai)
22. Sapunar-Postružnik J, Bažulić D, Grubelić M, *et al.* Cadmium in animal feed and in foodstuffs of animal origin. *Food Technol Biotechnol* 2001; 39: 67-71.
23. Lindén A, Olsson I-M, Bensryd I, *et al.* Monitoring of cadmium in the chain from soil via crops and feed to pig blood and kidney. *Ecotox Environ Safe* 2003; 55: 213-22.
24. López-Alonso M, Benedito JL, Miranda M, *et al.* Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *Sci Total Environ* 2000; 246: 237-48.
25. Farmer AA, Farmer AM. Concentrations of cadmium, lead and zinc in livestock feed and organs around a metal production center in eastern Kazakhstan. *Sci Total Environ* 2000; 257: 53-60.
26. Wlostowski T, Bonda E, Krasowska A. Free-ranging European bisons accumulate more cadmium in the liver and kidneys than domestic cattle in north-eastern Poland. *Sci Total Environ* 2006; 364: 295-300.
27. Nriagu J, Boughanen M, Linder A, *et al.* Levels of As, Cd, Pb, Cu, Se and Zn in bovine kidneys and livers in Jamaica. *Ecotox Environ Safe* 2009; 72: 564-71.
28. Cai Q, Long ML, Zhu M, *et al.* Food chain transfer of cadmium and lead to cattle in a lead-zinc smelter in Guizhou, China. *Environ Pollut* doi:10.1016/j.envpol.2009.05.048; 2009.
29. Falandysz J. Some toxic and essential trace metals in swine from Northern Poland. *Sci Total Environ* 1993; 136: 193-204.
30. Petersson Grawé K, Thierfelder T, Jorhem L, *et al.* Cadmium levels in kidneys from Swedish pigs in relation to environmental factors – temporal and spatial trends. *Sci Total Environ* 1997; 208: 111-22.
31. Sapunar-Postružnik J, Bažulić D, Grubelić M, *et al.* Cadmium in animal feed and in foodstuffs of animal origin. *Food Technol Biotechnol* 2001; 39: 67-71.
32. Joint FAO/WHO food standards programme. Codex committee on food additives and contaminants. Thirty-first Session. Discussion Paper on Cadmium, December 1998. Codex alimentarius commission (CX/FAC 99/21).
33. World Health Organization. Guidelines for the Study of Dietary Intakes of Chemical Contaminants, WHO offset publication no. 87. Geneva: WHO, 1985

Table 1 Cadmium levels (mg/kg) in kidneys of beef cattle and pigs collected from Maesot, Tak and SW vicinity of Bangkok

	n	Geomean \pm sem	Range	% Positive samples (Cd>1 mg/kg)
Maesot, Tak				
Beef cattle	53	0.91 \pm 0.43	0.19 - 19.60	50.94
Pig	112	0.73 \pm 0.67	0.09 - 40.14	26.79
SW vicinity of Bangkok				
Beef cattle	27	0.14 \pm 0.11	0.02 - 2.38	7.41
Pig	102	0.56 \pm 0.44	0.01 - 20.21	29.41

Table 2 Cadmium levels (mg/kg) in pig kidneys collected from Maesot, Tak and SW vicinity of Bangkok, classified by the market type

	n	Geomean \pm sem	Range	% Positive samples (Cd>1 mg/kg)
Maesot, Tak				
Supermarket	57	0.57 \pm 0.93	0.09 - 33.26	22.81
Local market	55	0.89 \pm 0.97	0.11 - 40.14	30.91
SW vicinity of Bangkok				
Supermarket	46	0.56 \pm 0.58	0.01 - 15.76	30.43
Local market	56	0.56 \pm 0.65	0.14 - 20.21	28.57

Table 3 Comparative cadmium levels in kidney samples among reports.

	Cadmium levels (mg/kg)	References
Average	0.39	Spain ²⁴
Range	0.11 - 1.35	(n=56)
Average	0.57	Kazakhstan ²⁵
Range	0.13 - 1.06	(n=140)
Average	1.48	Poland ²⁶
Range	0.35 - 3.52	(n=19)
Average	7.92	Jamaica ²⁷
Range	0.01 - 117.00	(n=100)
Average	6.64	China ²⁸
Range	2.15 - 38.30	(n=75)
Average	0.91	Thailand (n=53)
Range	0.20 - 19.60	(present study)

การศึกษาเบื้องต้นถึงความเป็นพิษเฉียบพลันทางปากของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากผลตำรอง

สรียา เรืองพัฒนพงศ์^{*}, วิภาพร พัฒน์เวช¹, เตือนตา เสมาทอง¹, ฉันทรา พูนศิริ¹ และวัลลภา อรุณไพโรจน์¹

ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

35 หมู่ 3 เทคโนโลยีธานี ถ.เลียบคลองห้า ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 ประเทศไทย

บทคัดย่อ

“ตำรอง” หรือ “พุททะลาย” มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Scaphium scaphigerum* (G.Don) จัดอยู่ในวงศ์ Sterculiaceae ผลของต้นตำรองใช้เป็นสมุนไพรที่เข้าตำรับยาไทยโบราณ มีสรรพคุณในการรักษาโรคต่างๆ เช่น แก้ร้อนใน กระหายน้ำ แก้โรคท้องเสีย และช่วยในเรื่องระบบการทำงานของไตและลำไส้ใหญ่ ในงานวิจัยได้นำสารสกัดจากผลตำรองมาใช้เป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (SCD) ซึ่งมีส่วนช่วยในการปรับสมดุลและกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะทำการประเมินความปลอดภัยในการรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารนี้ วัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้ คือ เพื่อศึกษาข้อมูลความเป็นพิษในการรับประทานของ SCD โดยทดสอบในสัตว์ทดลอง ซึ่งจะทำการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันทางการกิน และศึกษาผลของ SCD ต่อความเสียหายของโครโมโซมในเซลล์ไขกระดูกของหนูขาว จากผลการทดลองสรุปได้ว่า SCD ในขนาดที่ใช้ทดสอบ 5,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว มีความปลอดภัยในการรับประทาน และไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อโครโมโซม

คำสำคัญ: *Scaphium scaphigerum*, ผลตำรอง, ความเป็นพิษเฉียบพลันทางปาก, การวิเคราะห์ โครโมโซม

* Corresponding author:

คุณสรียา เรืองพัฒนพงศ์

ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

E-mail: noo_toxmu@hotmail.com

Preliminary Studies on Acute Oral Toxicity Effects of Dietary Supplement Derived from *Scaphium scaphigerum* (G.DON) Fruit.

Reungpatthanaphong S^{1*}, Phatvej W¹, Sematong T¹, Phoonsiri C¹ and Arunpairojana V¹

Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR), Department of Pharmaceutical and Natural Products, 35 Moo 3, Technopolis, Klong 5, Klong Luang Pathumthani, 12120, Thailand

ABSTRACT

Scaphium scaphigerum fruit (Malva nut; in Thai “Phungthalai” or “Samrong”) has been used as food and a traditional medicine in many Asian countries. It has been used in folklore medicine to treat many diseases such as fever, diarrhea, kidney and large intestine disorders. In this research, the water extract of Malva nut is an active ingredient of dietary supplement which is proposed to be used as a health promoting agent and immunostimulant in human body. Therefore, it is interesting to evaluate the oral toxic effect of dietary supplement derived from *Scaphium scaphigerum* fruit (SCD). The objective of this study was to establish and investigate oral toxic effects of the SCD in animal testing. The acute oral toxicity study and chromosome analysis of the SCD were conducted by following the Test Guidelines No. 420 and No. 475 of the OECD guidelines for testing of chemical, respectively. The results of this study showed that an oral administration of the SCD at a dose of 5,000 mg/kg body weight to Wistar rats did not cause toxicity or death and did not cause chromosomal aberrations in the rat bone marrow cells.

Keywords: *Scaphium scaphigerum*; Malva nut; Acute oral toxicity; Chromosomal analysis

* **Corresponding author :**

Sareeya Reungpatthanaphong,

Thailand Institute of Scientific and Technological Research

E-mail : noo_toxmu@hotmail.com

Introduction

Recently, dietary supplement consumption is a new trend for the people who concern about their health. Dietary supplement has been widely believed to enhance the immune system in human body. Malva nut (in Thai “Phungthalai” or “Samrong”) is the fruit of *Scaphium scaphigerum* (G.Don) which belongs to the plant family *Sterculiaceae*. This plant is distributed throughout tropical and sub-tropical regions of the world. It is mostly found in South East Asian countries, especially in Thailand, Cambodia, Malaysia and Indonesia. It is an indigenous plant normally found in the eastern part of Thailand and its fruit is locally used as a laxative. It grows to height of 4-5 meters and the characteristic of its fruit is a small brownish oval shape [3]. The fruits are known to contain a large amount of mucilaginous substance and have been used as a traditional medicine in South East Asia. The sweetened jelly from Malva nut is consumed as dessert but its principle use is for relief of sores and cough. In Thailand, the jelly made from Malva nut is consumed as food fortified which may be accepted by the consumer since there is well-established knowledge of its medicinal uses. However, there had been sparsely reports of its biological properties in terms of health promotion [4].

Although, Malva nut has been used for a long time but some toxicity reports or published data on its toxicity and safety has been limited. In this research, the acute oral toxicity study and the effect of SCD on chromosomal aberrations in rats were investigated.

Material and Methods

Animals

Healthy adult male and female Wistar rats, *Rattus norvegicus*, 5-7 weeks old were used in acute oral toxicity and chromosomal aberration tests. They were supplied by the National Laboratory Animal Center, Mahidol University, Salaya, Nakhon Pathom. They were kept in controlled conditions at the room temperature of 22-25°C and relative humidity of 60 ± 10 percent. They were housed in stainless steel cages, 5 animals with the same sex per cage and were fed with food (Pokphan Animal Feed Co., Ltd., Thailand) and water *ad libitum*.

Test material

The dietary supplement derived from *Scaphium scaphigerum* fruit (SCD) was prepared in the tablet form by Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) which used the water extract of Malva nut and banana powder as major ingredients.

Methods

1. Acute Oral Toxicity Test

The acute oral toxicity test was conducted according to the Test Guideline (TG) No. 420: Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Method (Limit test) of the OECD guidelines for testing of chemicals (2001) [1]. Twenty rats were assigned as control and treatment groups. Each group consisted of five male and five female rats. They were acclimatized to the laboratory environment for one week prior to experimentation. The rats were randomly chosen using the simple random sampling method and identified numbers by tail labeling. All rats were fasted for 16 hrs prior to the dosing with the test material while drinking water was available *ad libitum*.

On experimentation day, the SCD was freshly prepared in the form of suspension in distilled water and mixed well before oral

administration to the rats in the treatment group at a dose of 5,000 mg/kg body weight based on their body weights after fasting. The rats in the control group were dosed with distilled water at the equivolume as the treated rats. After dosing, all rats were further

Chromosomal Aberration Test

Based on the Test Guideline No. 475 "Genetic Toxicology: *In vivo* Mammalian Bone Marrow Cytogenetic Test – Chromosomal Analysis" of OECD Guidelines for Testing of Chemicals 1997 [2]. The SCD was freshly prepared in the form of suspension in distilled water and mixed well before oral administration for 14 consecutive days to the rats in the treatment group at a dose of 5,000 mg/kg body weight calculated based on their body weights after fasting. The rats of the negative control group were dosed with distilled water at the equivolume as the treated group. Cyclophosphamide (CP) was freshly prepared by dissolving in sterile distilled water at a dose of 50 mg/kg body weight. CP was injected intraperitoneally as a single agent to the rats as the positive control. The animals were sacrificed under CO₂ anesthesia 24 h after mutagen administration

Ninety minutes before sacrifice, all animals were injected intraperitoneally with colchicine at the dose of 3.5 mg/kg body weight. Their femurs were removed and the femoral marrow cells were flushed out with HBSS medium for chromosomal analysis [5]. Bone marrow cells preparations were made by hypotonic solution and fixative. All slides were coded and stained with 10% Giemsa [6].

In this study, metaphase cells with one or more chromosome aberrations were scored from 50 well-spread metaphases per animal at random. The types of aberration were scored and recorded strictly in accordance with the method of Ito & Ito. The severity of chromosome aberrations included the aberrations with break, exchange and multiple

aberrations, but not the aberrations with gap [7].

Statistical analysis

The data was analyzed and expressed as mean \pm SEM. Each treatment group was compared to the control group. The Student's t-Test was done to observe the significant differences between individual treated group and the control groups. The level of significance was established at $p < 0.05$

Results

After dosing, all treated rats received 5,000 mg/kg body weight of the SCD showed normal appearances and survived through the termination. Necropsy findings at the termination did not show any gross pathological lesions. The mean of body weight gain of the treated rats did not show significant difference from those of control rats. The results demonstrated that the oral LD₅₀ of the SCD in Wistar rats was more than 5,000 mg/kg body weight. The mortality data and the means of body weight gain of the rats in the control and treatment groups were shown in Table 1 and 2, respectively.

The chromosomal analysis of each rat, the number of cells at metaphase stage was scored and the number of cells with structural chromosome aberrations was evaluated. Different types of structural chromosome aberrations were listed for all groups. Gaps were recorded separately but not included in the total aberration frequency. The mitotic index (M.I.), which is the fraction of cells in a given population that undergo mitosis at a given time, indicates cell proliferation activity. The number of M.I. was determined by counting 500 cells for each rat. Changes in the M.I. reflect the cytotoxic effect of the test material [5]. In this study, at least 2,000 cells per animal were counted for M.I. determination. The results of chromosomal analysis demonstrated that M.I. of SCD-

treated group (Group2) was decreased but did not show significant difference from negative control group (Group1). This means that the SCD at the given dose did not show cytotoxic effect on rat bone marrow cells.

Furthermore, there was no significant difference in chromosome aberration between SCD-treated and negative control groups. This means that the SCD at the given dose had no effect on chromosome damage to the rat bone marrow cells.

The results of chromosomal analysis in rat bone marrow cells at metaphase stage after receiving the SCD at a dose of 5,000 mg/kg body weight by oral administration for 14 consecutive days were summarized in Table 3.

Discussion

Malva nut has been used as a traditional medicine and food fortified [4]. Although, it has been used for a long time but some toxicity report or published data on its toxicity and safety in use have been limited. There was no previous study on toxic effect of Malva nut in animal model. In this study, the acute oral toxicity – fixed dose method (Limit test) of the OECD guidelines for testing of chemicals [1] is initially conducted with the aim to establish a dosage regimen in subchronic and other studies and may provide initial information on the mode of toxic action of a test substance. Dosing animals with test material at 5,000 mg/kg body weight is generally considered high enough and if no mortality or significant toxic signs could be observed in animals receiving this dose level, no higher doses are required for further study [8]. Our results showed that the dietary supplement derived from the water extract of

Malva nut (SCD) at a given dose did not cause toxicity or death of the tested rats. Therefore, the oral LD₅₀ of the SCD in both

sexes of Wistar rats was more than 5,000 mg/kg body weight.

Mammalian bone marrow cytogenetic test is a useful-short term technique for elucidating the mechanism as well as to identify the substances for their clastogenic activity [2]. In this study, *in vivo* metaphase chromosome analysis was conducted in order to evaluate the effect of the SCD on rat bone marrow cells. Our results showed that the SCD at a dose of 5,000 mg/kg body weight did not show cytotoxic effect on rat bone marrow cells and did not cause chromosome aberrations. However, long term consumption may increase cytotoxic risk of the user. Therefore, further study on the cytotoxic effect of the SCD in the animal model is recommended.

Conclusion

In conclusion, our results demonstrated that an oral administration of the SCD at a dose of 5,000 mg/kg body weight did not cause toxicity or death and did not show any gross pathological lesions on necropsy of the tested rats. The acute oral LD₅₀ of the SCD in both sexes of Wistar rats was more than 5,000 mg/kg body weight. Moreover, the SCD at a given dose did not cause chromosome aberrations in the rat bone marrow cells. These toxicity studies might provide enough evidences to consider further studies in subchronic toxicity and others. Further studies are needed for safety evaluation of the SCD in human consumption.

Table 1 The mortality data of the rats in the control and treatment groups.

Treatment/Dose	*Mortality rate		
	Male	Female	Total
Control group Distilled water equivolume to the treatment group	0/5	0/5	0/10
Treatment group “SCD” 5,000 mg/kg body weight	0/5	0/5	0/10

Table 2 The means of body weight gain of the rats in the treatment and control groups

Sex	Treatment/Dose	*Mean of body weight gain (g)	
		Day 8	Day 15
Male	Control group Distilled water equivolume to the treatment group	18.40 ± 0.51	37.60 ± 0.87
	Treatment group “SCD” 5,000 mg/kg body weight	18.40 ± 0.24	43.20 ± 1.93
Female	Control group Distilled water equivolume to the treatment group	18.80 ± 0.58	45.20 ± 3.89
	Treatment group “SCD” 5,000 mg/kg body weight	19.20 ± 0.49	40.60 ± 0.92

Table 3 Chromosomal analysis of rat bone marrow cells receiving the SCD for 14 consecutive days

Group	Treatment	^{a,b} %M.I.±SEM	^{a,c} Type of chromosomal aberration			Total cells with aberration
			Break	Exchange	Multiple aberrations	
1	Distilled water	6.03 ± 0.31	0	0	0	0
2	SCD	5.54 ± 0.20	0	0	0	0
3	CP	*2.86 ± 0.09	*2.17 ± 0.72	*2.67 ± 1.04	*8.50 ± 1.59	*13.33 ± 1.66

^a Data were expressed as Mean ± SEM, n= 6 and analyzed statistically by Student's t-Test.

^b Mitotic Index (M.I.) was based on 2,000 cells per animal.

^c Chromosome aberration was based on 50 cells per animal.

* $p < 0.05$; Significant difference from Group 1 and 2.

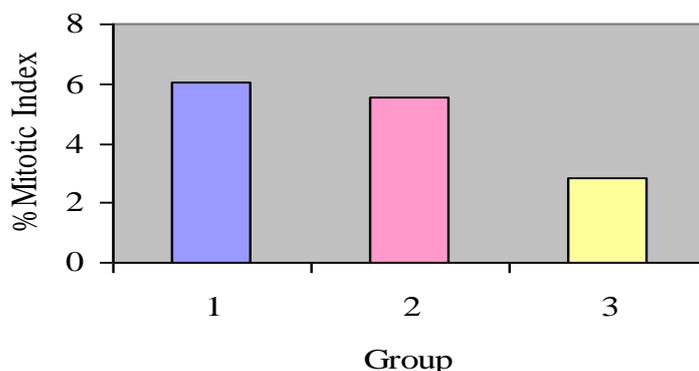


Figure 1 The %M.I. of rat bone marrow cells treated with the SCD for 14 consecutive days.

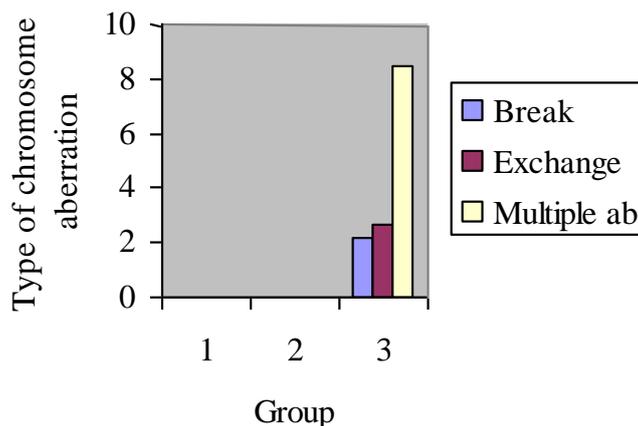


Figure 2 The type of chromosomal aberrations of rat bone marrow cells treated with the SCD for 14 consecutive days.

References

1. Organization for Economic Co-operation and Development. OECD guidelines for testing of chemicals, Volume 2, Section 4: Health Effects. Acute Oral Toxicity – Fixed Dose Method (Limit test). Test Guideline No. 420, 2001.
2. Organization for Economic Co-operation and Development. OECD guidelines for testing of chemicals, Volume 2, Section 4: Health Effects. Genetic Toxicology: *In vivo* Mammalian Bone Marrow Cytogenetic Test – Chromosomal Analysis, Test Guideline No. 475, 1997.
3. Yamada T, Itoh A, Kanzaki M, *et al.* Local and geographical distributions for a tropical tree genus, *Scaphium* (*Sterculiaceae*) in the Far East. *Plant Ecology* 2000; 148: 23-8.
4. Yuttana S. Antihypertensive and antioxidant activities of methanol extract from Malva nut (*Scaphium scaphigerum*). *The Public Health Journal of Burapha University* 2008; 3(1): 24-8.
5. World Health Organization (WHO). Environmental health criteria 51: Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals, 1985.
6. Adler ID. Cytogenic tests in mammals. Oxford IRL Press, 1984; 275–306.
7. Ito Y, Ito M. Suppressive effect of (-)-Epigallocatechin gallate on aflatoxin B₁-induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells. *Journal of Health Science* 2001; 47(3): 248–57.
8. Auletta CS. Acute, Subchronic and Chronic Toxicity. In: Michael JD, Manfred AH, eds. *CRC Handbook of Toxicology*. CRC Press, 1995: 51-104.

ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดน้ำใบมะรุม

ศุภชัย เจริญสิน^{1*} และรวีวรรณ วงศ์ภูมิชัย²

¹ สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

² ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

บทคัดย่อ

มะรุมเป็นพืชที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายในประเทศ ส่วนต่าง ๆ โดยเฉพาะใบถูกนำมาใช้ในการประกอบอาหารรวมถึงการแพทย์พื้นบ้าน การศึกษาในครั้งนี้ทำการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของสารสกัดน้ำใบมะรุมโดยการทดสอบเอมส์ในแบคทีเรียซัลโมเนลลาไทพิมิวริยม สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ในระบบที่มีและไม่มีเอนไซม์เพื่อกระตุ้นการออกฤทธิ์ ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบมะรุมความเข้มข้น 0-5 mg/pl ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ แต่พบว่าสารสกัดใบมะรุมออกฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 100 เมื่อป้อนร่วมกับ AF-2 ในสภาวะที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้น โดยสารสกัดใบมะรุมสามารถลดจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์แบบแปรผันตามความเข้มข้นในช่วง 0 - 5 mg/pl และมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นสูงสุด ($p < 0.05$) โดยมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 51.33 ซึ่งกลไกในการออกฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์อาจเกี่ยวข้องกับ การยับยั้งการเข้าสู่เซลล์หรือลดล้างฤทธิ์ของ AF-2 โดยตรง ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำสารสกัดจากใบมะรุมไปทดสอบฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ และฤทธิ์ต้านการเกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองต่อไป

คำสำคัญ มะรุม ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ และการทดสอบเอม

* Corresponding author:

ศุภชัย เจริญสิน

สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์

มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

โทรศัพท์ 0-5446-6666 ต่อ 1744-45, อีเมล suphachaich@nu.ac.th

Mutagenic and Antimutagenic Activities of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* Leaves**Charoensin S.^{1*}, Wongpoomchai R.²**¹ Division of Biochemistry, School of Medical Science, University of Phayao, Phayao 56000, Thailand.² Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.**ABSTRACT**

Moringa oleifera is a cosmopolitan tree that grows in many tropical countries and useful for its various nutritional and pharmacological applications. In this study, aqueous extract of *M. oleifera* leaves was evaluated for its mutagenic and antimutagenic activities by Salmonella/microsome mutagenicity assay (Ames test). Mutagenic assay in *Salmonella typhimurium* (TA 98 and TA 100 as tester strains) with and without metabolic activation showed that 0.2-5 mg/plate of *M. oleifera* extract did not induce the growth of His⁺ revertant colonies in both strains, indicating the absence of mutagenicity. Therefore, antimutagenic activities of *M. oleifera* extract against the standard mutagens, aflatoxin B1 (AFB1) and 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) were tested in *S. typhimurium* TA100 strain. The number of His⁺ revertants/plate of *S. typhimurium* after incubation of *M. oleifera* extract (1-5 mg/plate) with AFB1 (0.1 µg/plate) was not different from positive control, however, 5 mg/plate of the extract exhibited the significant inhibition of the His⁺ revertant colonies (51.33% Inhibition) when incubated with AF-2 (0.01 µg/plate). It was clear from the present studies that aqueous extract *M. oleifera* was capable of antimutagenicity through the mechanism in which some active compounds contained might inhibit the mutagen penetration into *S. typhimurium* cells or neutralize the mutagenic potency prior to nucleus entering, thus protecting the hot-spot region of gene from mutation. Of the results obtained, the further studies will be forward to the investigations including antimutagenicity and cancer chemoprevention *in vivo*.

Keywords: *Moringa oleifera*, Mutagenicity, Antimutagenicity, and Ames test*** Corresponding author:**

Suphachai Charoensin

Division of Biochemistry, School of Medical Science,

University of Phayao, Phayao, Thailand.

Tel: +66 54 466666 ext. 1744-45, E-mail: suphachaich@nu.ac.th

Introduction

Moringa oleifera (a member of Moringaceae) is a highly valued plant, distributed in many countries of the tropic and subtropics as food and herb.¹ In some parts of the world *M. oleifera* is referred to as the drumstick tree or the horse radish tree. In Thailand, immature pods, leaves, and fruits have been used as food ingredient, particularly, its leaves as a commercial food supplement. There has been an impressive range of medicinal uses with high nutritional value of its leaves, fruits, flowers, and immature pods.^{2,3} It has been reported that *Moringa* leaves are rich in β -carotene, protein, calcium, potassium, vitamin C and E, and polyphenols.^{4,5} Moreover, the biochemical and pharmacological investigations revealed its various properties including antioxidant, hypolipidemic, antiatherosclerotic,⁶⁻⁸ antimicrobial activities,⁹ protective activity of oxidative DNA damage⁷ and myocardial destruction,¹⁰ antitumor activities,¹¹ hypoglycemic potential,¹² and liver detoxification enhancement.^{13,14}

It is well understood that dietary factors play a critical role in human cancer and strong efforts have been made to identify protective substances in food. Therefore, searching for herbs or diets capable of antimutagenic and anticarcinogenic activities is the most interesting alternative for disease prevention.¹⁵⁻¹⁹ It has been reported that *M. oleifera* drumstick shows chemopreventive activity against two stage model of DMBA-induced skin papillomagenesis by modulating carcinogen-metabolizing enzymes and antioxidant system.²⁰ To date, little is known about biological activity of *M. oleifera* leaves especially both antimutagenesis and anticarcinogenesis. As it is widely consumed as food ingredient, folk medicine, and food supplement. The present study was aimed to

evaluate the mutagenic and antimutagenic activities of aqueous extract of *M. oleifera* leaves by Salmonella/microsome mutagenicity assay (Ames test) that is extensively used as *in vitro* standard method.²¹⁻²⁴ The obtained results will be the preliminarily scientific data for the further antimutagenic and anticarcinogenic studies.

Materials and Methods

Chemicals

All chemicals and solvents used were the analytical grade. The standard mutagens used including 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2), 2-aminoanthracene (2-AA) were purchased from Wako Pure Chemicals Industries, Ltd. (Osaka, Japan), and aflatoxin B1 (AFB1) was purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA). The tryptic soy broth, bacto agar was purchased from Difco Laboratories (Detroit, Michigan, USA). Nutrient broth no. 2 was purchased from Oxoid, Ltd. (Basingstoke and Hants, England).

Preparation of *M. oleifera* extract

The air-dried leaves of *M. oleifera* were kindly provided from Lampang Herb Conservation (Muang, Lampang, Thailand.). The dried leaves were grounded into powder and stored at 4 °C until extraction. 15 g of powdered leaves was extracted with 350 ml of hot water for 15 min. The liquid extract was filtered through Whatman no. 1 filter paper, and then the filtrate was lyophilized to obtain the powder of extract. The yellow-green powder of aqueous extract (% Yield = 28.12) was kept in amber glass at -20 °C until use.

Salmonella typhimurium preparation

Both TA98 and TA100 of *S. typhimurium* used as tester strains, and S9 mix (for enzymatically metabolic activation)

were kindly provided by Asst. Dr. Rawiwan Wongpoomchai, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. In brief, 20 μ l of inoculum from the permanent culture was incubated in 10 ml of nutrient broth no. 2 at 37 °C for 14 hr, the bacterial concentration of an approximate 1.2×10^9 bacterial/ml was obtained.

Mutagenic assay

According to Maron and Ames,²⁵ the described method (preincubation technique) was performed to assay mutagenicity in both non-metabolic (-S9 mix) and metabolic (+S9 mix) activation of the extract. Briefly, 50 μ l of solvent (negative control), 0.2-5 mg/plate of the extract, or standard mutagens as positive control, AF-2 or 2-AA, were added by 500 μ l of phosphate buffer or S9 mix. The mixtures were then preincubated with 100 μ l of overnight culture of TA98 or TA100 strains at 37 °C for 20 min before adding 2 ml of top agar containing 0.5 mM *L*-histidine/*D*-Biotin. The His⁺ revertant colonies in all plates were analyzed after 37 °C incubation for 48 hr. Triplicate plates per run were assayed.

Antimutagenic assay

As mentioned in mutagenic assay, the preincubation technique was modified. In brief, the mixtures consisting of solvent alone (DMSO) or 1-5 mg/plate of extract in the presence of AFB1 (0.1 μ g/plate) or AF-2 (0.01 μ g/plate) were preincubated with overnight culture of TA100 strain with or without S9 mix at 37 °C for 20 min before 2 ml of top agar addition. The His⁺ revertant colonies were analyzed after 37 °C incubation for 48 hr. Triplicate plates per run were assayed. The number of counted revertant colonies was subtracted by the spontaneous

revertants before calculating the percentage inhibition.

Statistic analysis

Data obtained from three-independent experiments were expressed as mean \pm standard error of the mean (SEM). Analysis of variance was performed using ANOVA, and Bonferroni test with $p < 0.05$ was considered as significant difference between control and treated groups.

Results and DISCUSSION

For the testing doses, killing effect, the sign of cytotoxicity, was not observed in both TA98 and TA100 strains of *S. typhimurium*. As shown in Table 1, the number of TA98 His⁺ revertants from plates treated with 0.2-5 mg/plate of extract was ranged from 40.00 ± 7.94 – 43.33 ± 4.60 (-S9 mix) and 32.50 ± 0.87 – 40.00 ± 0.58 (+S9 mix) that were not different from negative control, 37.33 ± 4.50 (-S9 mix) and 54.00 ± 13.91 (+S9 mix). Likewise, the similar results were found in *S. typhimurium* TA100 strain treated with the same concentration of the extract. In table 2, the revertant colonies of dosing plates with non-metabolic and metabolic activation was 113.33 ± 5.59 – 145.00 ± 17.64 and 143.50 ± 18.76 – 152.50 ± 20.50 compared with negative control 124.00 ± 13.70 and 168.00 ± 37.63 , respectively. The results suggested that 0.2-5 mg/plate of *M. oleifera* leave extract was non-mutagenic in both strains of *S. typhimurium* either with or without metabolic activation. In consideration of antimutagenicity of *M. oleifera* extract in TA100 strain (Table 3), co-treatment of AF-2 and 1-5 mg/plate of extract in the absence of S9 mix showed an antimutagenic activity in dose-dependent manner, and highest dose treated exhibited significant reduction ($p < 0.05$) of the revertant colonies (331.00 ± 90.64 , % Inhibition = 51.33 ± 13.90)

in comparison with positive control (556.00±54.39). However, the revertant colonies observed from 1-5 mg/plate of extract co-treated with AFB1 in the presence of S9 mix were not different from positive control. In 2001, Rao and colleagues investigation exhibited the radioprotective effect of *M. oleifera* leave extract against γ -radiation induced chromosomal aberration in bone marrow cells and micronucleus formation in erythrocytes of mice.²⁶ Moreover, there are the investigations with the antioxidant assay of *M. oleifera* leaves extracted with different solvents, they indicated that the polyphenolic compounds contained in the extracts were involved in antioxidant properties.^{6, 8} With regard to the observed results, it is possible that the antimutagenic activity might be from the polyphenolic compounds contained by mechanisms (1) inhibition of the mutagen penetration into *S. typhimurium* cells or (2) neutralization of mutagenic potency prior to nucleus entering, thus protecting the hot-spot region of gene from mutation. Of the present and previous studies including antioxidant,⁶ anticlastogenicity,²⁶ protective effect of oxidative DNA damage,⁷ and enhancement of detoxification,^{13, 14} it is the interesting point for the further studies of antimutagenicity and cancer chemoprevention by *M. oleifera* leaves *in vivo*.

In conclusion, aqueous extract of *M. oleifera* showed non-mutagenic in both TA98 and TA100 strains of *S. typhimurium* and was able to inhibit the mutagenicity of AF-2 in non-metabolic activation condition.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by The Thailand Research Fund-Industrial project (with regard to Ms. Wagee Inchantuk for her participation). The authors would like to thank Mr. Manop Pralomrum for a kind

supply of plant material and colleagues at Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

REFERENCES

1. Anwar F, Latif S, Ashraf M, *et al.* *Moringa oleifera*: A food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res* 2007; 21: 17-25.
2. D' souza J, Kulkarni AR. Comparative studies on nutritive values of tender foliage of seedlings and mature plants of *Moringa oleifera* Lam. *J Econ Taxon Bot* 1993; 17: 479-85.
3. Anwar F, Bhangar MI. Analytical characterization of *Moringa oleifera* seed oil grown in temperate regions of Pakistan. *J Agric Food Chem* 2003; 22: 6558-63.
4. Dillard CJ, German JB. Phytochemicals: nutraceuticals and human health: A review. *J Sci Food Agri* 2000; 80: 1744-56.
5. Siddhuraju P, Becker K. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 2144-55.
6. Verma AR, Vijayakumar M, Mathela CS, *et al.* In vitro and in vivo antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2196-201.
7. Singh BN, Singh BR, Singh RL, *et al.* Oxidative DNA damage protective activity, antioxidant and anti-quorum sensing potentials of *Moringa oleifera*. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1109-16.
8. Chumark P, Khunawat P, Sanvarinda Y, *et al.* The in vitro and ex vivo antioxidant properties, hypolipidaemic and

- antiatherosclerotic activities of water extract of *Moringa oleifera* Lam. leaves. *J Ethnopharmacol* 2008; 116: 439-46.
9. Caceres A, Cabrera O, Morales O, *et al.* Pharmacological properties of *Moringa oleifera*. 1: Preliminary screening for antimicrobial activity. *J Ethnopharmacol* 1991; 33: 213-6.
 10. Nandave M, Ojha SK, Joshi S, *et al.* *Moringa oleifera* leaf extract prevents isoproterenol-induced myocardial damage in rats: evidence for an antioxidant, antiperoxidative, and cardioprotective intervention. *J Med Food* 2009; 12: 47-55.
 11. Murakami A, Morita H, Safitri R, *et al.* Screening for in vitro anti-tumor-promoting activities of edible plants from Indonesia. *Cancer Detect Prev* 1998; 22: 516-25.
 12. Jaiswal D, Kumar Rai P, Kumar A, *et al.* Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *J Ethnopharmacol* 2009; 123: 392-6.
 13. Fakurazi S, Hairuszah I, Nanthini U. *Moringa oleifera* Lam prevents acetaminophen induced liver injury through restoration of glutathione level. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 2611-5.
 14. Gupta R, Kannan GM, Sharma M, *et al.* Therapeutic effects of *Moringa oleifera* on arsenic-induced toxicity in rats. *Envi Toxicol and Pharmacol* 2005; 20: 456-64.
 15. Barrett JC, Anderson M. Molecular mechanisms of carcinogenesis in humans and rodents. *Mol Carcinog* 1993; 7: 1-13.
 16. Knasmuller S, Steinkellner H, Majer BJ, *et al.* Search for dietary antimutagens and anticarcinogens: methodological aspects and extrapolation problems. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 1051-62.
 17. Ferguson LR, Philpott M, Karunasinghe N. Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology* 2004; 198: 147-59.
 18. Johnson IT. Phytochemicals and cancer. *Proc Nutr Soc* 2007; 66: 207-15.
 19. Johnson IT. New approaches to the role of diet in the prevention of cancers of the alimentary tract. *Mutat Res* 2004; 551: 9-28.
 20. Bharali R, Tabassum J, Azad MR. Chemomodulatory effect of *Moringa oleifera*, Lam, on hepatic carcinogen metabolising enzymes, antioxidant parameters and skin papillomagenesis in mice. *Asian Pac J Cancer Prev* 2003; 4: 131-9.
 21. Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347-64.
 22. Mortelmans K, Zeiger E. The Ames *Salmonella/microsome* mutagenicity assay. *Mutat Res* 2000; 455: 29-60.
 23. MacGregor JT, Casciano D, Muller L. Strategies and testing methods for identifying mutagenic risks. *Mutat Res* 2000; 455: 3-20.
 24. Waters MD, Stack HF, Jackson MA. Short-term tests for defining mutagenic carcinogens. *IARC Sci Publ* 1999; 146: 499-536.
 25. Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173-215.
 26. Rao AV, Devi PU, Kamath R. In vivo radioprotective effect of *Moringa oleifera* leaves. *Indian J Exp Biol* 2001; 39: 858-63

Table 1 Mutagenicity of aqueous extract of *M. oleifera* leaves in *S. typhimurium* TA98 strain with and without metabolic activation

Treatment	His ⁺ Revertants/plate	
	Metabolic activation	
	-	+
AF-2 (0.1 µg/plate)	257.00±24.67	N.A.
2-AA (0.5 µg/plate)	N.A.	446.50±61.50
Negative control	37.33±4.50	54.00±13.91
<i>M. oleifera</i> 0.2 mg/plate	40.00±7.94	40.00±0.58
<i>M. oleifera</i> 1 mg/plate	43.00±6.03	32.50±0.87
<i>M. oleifera</i> 5 mg/plate	43.33±4.60	35.00±0.58

Values expressed as Mean±SEM were obtained from three-independent experiments. No killing effect was observed.

2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as standard mutagens.

- = Non-metabolic activation (-S9 mix)

+ = Metabolic activation (+S9 mix)

N.A. = Not analyzed

Table 2 Mutagenicity of aqueous extract of *M. oleifera* leaves in *S. typhimurium* TA100 strain with and without metabolic activation

Treatment	His ⁺ Revertants/plate	
	Metabolic activation	
	-	+
AF-2 (0.01 µg/plate)	428.33±53.95	N.A.
2-AA (0.5 µg/plate)	N.A.	393.50±6.01
Negative control	124.00±13.70	168.00±37.63
<i>M. oleifera</i> 0.2 mg/plate	130.67±12.89	143.50±18.76
<i>M. oleifera</i> 1 mg/plate	145.00±17.64	152.50±20.50
<i>M. oleifera</i> 5 mg/plate	113.33±5.59	151.50±18.66

Values expressed as Mean±SEM were obtained from three-independent experiments. No killing effect was observed.

2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) and 2-aminoanthracene (2-AA) were used as standard mutagens.

- = Non-metabolic activation (-S9 mix)

+ = Metabolic activation (+S9 mix)

N.A. = Not analyzed

Table 3 Antimutagenic activities of aqueous extract of *M. oleifera* leaves towards the mutagenicities of AF-2 and AFB1 in *S. typhimurium* TA100 strain

Treatment	His ⁺ Revertants/plate	
	Metabolic activation	
	-	+
DMSO	80.50±3.48	N.A.
AF-2 (0.01 µg/plate)	556.00±54.39	N.A.
AF-2 (0.01 µg/plate) + <i>M. oleifera</i> 1 mg/plate	476.50±85.74	N.A.
AF-2 (0.01 µg/plate) + <i>M. oleifera</i> 5 mg/plate	331.00±90.64*	N.A.
DMSO	N.A.	117.50±5.38
AFB1 (0.1 µg/plate)	N.A.	827.00±39.84
AFB1 (0.1 µg/plate) + <i>M. oleifera</i> 1 mg/plate	N.A.	965.00±110.91
AFB1 (0.1 µg/plate) + <i>M. oleifera</i> 5 mg/plate	N.A.	1024.50±131.23

Values expressed as Mean±SEM were obtained from three-independent experiments.

*Significant difference in comparison with positive control ($p < 0.05$)

2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) and aflatoxin B1 (AFB1) were used as standard mutagens.

- = Non-metabolic activation (-S9 mix)

+ = Metabolic activation (+S9 mix)

N.A. = Not analyzed

ผลของอุณหภูมิ เวลา และความเป็นกรดต่อความเสถียรของ Permethrin ในตัวอย่างเลือด

ศรินทิพย์ จันทรแก้ว¹, เบญจมาศ จันทรฉวี^{2,3}, สถาพร พงศ์พิพรรฒต²

¹หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

²ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

³สถานวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

บทคัดย่อ

Permethrin เมื่ออยู่ในร่างกายจะเกิดเมแทบอลิซึมที่ตับ โดยปฏิกิริยา Hydrolysis ด้วยเอนไซม์ Carboxylesterase ให้ Phenoxybenzyl alcohol เนื่องจากในเลือดมีเอนไซม์นี้อยู่ด้วยจึงอาจมีผลต่อความถูกต้องของการวิเคราะห์ permethrin ในเลือด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของ Permethrin ในตัวอย่างเลือด ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาโดยตั้งตัวอย่างเลือดไว้ที่อุณหภูมิ 25, 4 และ -20°C เป็นระยะเวลา 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าค่า Metabolic ratio ของ trans- และ cis-Permethrin มีค่ามากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป และมีค่าต่ำสุดที่อุณหภูมิ -20°C การศึกษาอิทธิพลของกรด trifluoroacetic acid (100: 1 และ 200: 1) และ HClO₄ (50: 1, 100: 1, 200: 1, 225: 1 และ 250: 1) และอิทธิพลของกรด HClO₄ (200: 1 และ 225: 1) ร่วมกับการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งพบว่า การเติมกรด HClO₄ อัตราส่วน 200: 1 ร่วมกับการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งทำให้มีค่า Metabolic Ratio ต่ำที่สุด จึงสรุปว่า การเตรียมตัวอย่างเลือดโดยการเติมกรดและลดอุณหภูมิเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการลดการสูญเสีย permethrin ก่อนการวิเคราะห์

คำสำคัญ: ความเสถียร, เลือด, ไฮโดรไลซิส, อุณหภูมิ, เวลา, ความเป็นกรด

* Corresponding Author :

รศ.ดร.เบญจมาศ จันทรฉวี

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112 โทรศัพท์: 0 7428 8171-2

E-mail: benjamas.j@psu.ac.th

Effects of Temperature, Time and Acidity on Stability of Permethrin in Blood **Chunkhew S¹, Janchawee B^{2,3}, Prutipanlai S²**

¹Forensic Science Program, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

²Department of Pharmacology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

³Natural Products Research Center, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Songkhla 90112, Thailand

ABSTRACT

Permethrin is metabolized by hydrolysis via carboxylesterase in liver producing phenoxybenzyl alcohol. Since this enzyme also exists in blood, that may affect the accuracy of permethrin quantification. This study was aimed to determine the stability of permethrin in blood sample. To investigate effects of temperature and time, blood samples were left at 25, 4 and -20°C for 0, 0.5, 1, 2 and 4 h, respectively. Metabolic ratios for trans- and cis-permethrin increased when the time increased, and were the lowest at -20 °C. Effects of trifluoroacetic acid (100: 1 and 200: 1) and HClO₄ (50: 1, 100: 1, 200: 1, 225: 1 and 250: 1), and those of HClO₄ (200: 1 and 225: 1) in combination with cooling the sample in ice showed that adding HClO₄ (200: 1) combining with cooling in ice resulted in the lowest metabolic ratio. In conclusion, sample preparing by adding acid and reducing the sample temperature are the optimum conditions to decrease the loss of permethrin before analysis.

Keywords: Permethrin, Stability, Blood, Pyrethroids, Hydrolysis, Temperature, Time, Acid

***Corresponding author:**

Assoc. Prof. Dr. Benjamas Janchawee

Department of Pharmacology, Faculty of Science, Prince of Songkla University

Tel: 074-288171-2

E-mail: benjamas.j@psu.ac.th

บทนำ

Permethrin เป็น สาร กำจัด แมลง กลุ่ม Synthetic Pyrethroids ที่พัฒนามาจากสาร Pyrethrum ซึ่งสกัดจากดอกไม้กลุ่มเบญจมาศ (*Chrysanthemum spp.*) Synthetic Pyrethroids มีความเสถียรต่อแสง มากกว่าสาร Pyrethrum แต่มีความเป็นพิษต่อสัตว์ เลี้ยงลูกด้วยนมต่ำกว่า สาร Pyrethroids แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ type I และ type II โครงสร้างทางเคมี ของทั้ง 2 กลุ่มแตกต่างกันตรงที่ type II มี cyanide อยู่ ด้วย จึงเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า α -Cyanopyrethroids โครงสร้างที่แตกต่างกันนี้ทำให้สาร 2 กลุ่ม มีความ เป็นพิษแตกต่างกัน ความเป็นพิษในคนมักเกิดจาก type II มากกว่า type I การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่า สาร pyrethroids type I ทำให้เกิดกลุ่มอาการ tremor Syndrome ได้แก่ Fine Tremor, Hyperreflexia และ Sympathetic Overactivity ส่วน Pyrethroids Type II ทำให้เกิดกลุ่มอาการ Choreoathetosis/salivation syndrome ซึ่งได้แก่ Salivation, Coarse Tremor, Choreoathetosis, Hyperreflexia, Sympathetic Overactivity และ Convulsion⁽¹⁾ สารกลุ่ม Synthetic Pyrethroids เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะเกิดเมแทบอลิซึมที่ตับ เป็นส่วนใหญ่โดยการเกิดปฏิกิริยา hydrolysis ด้วย เอนไซม์ Carboxylesterase ทำให้ได้ Phenoxybenzyl alcohol ซึ่งไม่มีพิษ ก่อนจะถูกขับออก⁽²⁾ Carboxylesterase นอกจากจะมีอยู่ที่ตับแล้วยังมีอยู่ที่ อวัยวะอื่นๆ ได้แก่ ไต ลำไส้เล็ก และเลือด^(3,4) ในด้าน การแพทย์ พิษวิทยา และนิติวิทยาศาสตร์ ที่ต้องมีการ เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจวัดระดับสาร Permethrin

จึงควรตระหนักถึงการเกิดปฏิกิริยา Hydrolysis โดย เอนไซม์ดังกล่าวในตัวอย่างเลือดซึ่งจะมีผลต่อความ เสถียรของ Permethrin ก่อนที่จะนำมาสกัดและ วิเคราะห์หาปริมาณของ Permethrin ได้อย่างถูกต้อง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของปัจจัยทางกายภาพ ได้แก่ อุณหภูมิ เวลา ความเป็นกรด ต่อระดับของ Permethrin และ Phenoxybenzyl alcohol ในตัวอย่าง เลือด

2. ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่จะทำให้ Permethrin ในตัวอย่างเลือดมีความเสถียรสูงสุด

วิธีดำเนินการวิจัย

สารเคมี

Acetonitrile (HPLC grade, Millinckrodt Baker Inc., NJ, U.S.A.), methanol (HPLC grade, Millinckrodt Baker Inc., NJ, U.S.A.), chloroform (VWR International Ltd, Pool, U.K.), acetic acid (Millinckrodt Baker Inc., NJ, U.S.A.), สารมาตรฐาน permethrin ความบริสุทธิ์ 98% (trans-permethrin 71.7%, cis-permethrin 26.4%) (SIGMA-ALDRICH, Inc., P.O., Germany), heparin, trifluoroacetic acid (TFA) (Millinckrodt Baker Inc., NJ, U.S.A.), perchloric acid (HClO₄) (Millinckrodt Baker Inc., NJ, U.S.A.)

วัสดุและเครื่องมือ

VertiPakTM C₁₈ (200 mg/3mL) (Vertical chromatography Co., LTD, Thailand), SunfireTM C₁₈ guard column, 20×4.6 mm i.d., 5 μm (Waters

Corporation, Massachusetts, U.S.A), Fortis™ C₁₈ column, 150×4.6 mm i.d., 5 μm (Fortis™ Technologies Ltd., UK), analytical balances model AB 204-S (METTLER TOLEDO, Greifensee, Switzerland), automatic pipette 100 μL (Eppendorf, Hamburg, Germany), automatic pipette 1000 μL (SOCOREX, Isba S.A., Switzerland), ultrasonic bath model JAC 2010 (Kodo, Hwaseong, South Korea), vortex genie-2 (Scientific Industries, New York, USA), refrigerated centrifuge (SORVALL RC-3B Plus, Greifensee, Switzerland)

รูปแบบการทดลอง

การเตรียมสารละลายเข้มข้นและสารละลายมาตรฐาน permethrin

เตรียมสารละลายเข้มข้น permethrin ที่ความเข้มข้น 1000 μg/mL โดยชั่งสารมาตรฐาน 10 mg ละลายด้วย Acetonitrile ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย Acetonitrile หลังจากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Permethrin โดยทำการเจือจางสารละลายเข้มข้นด้วย Acetonitrile ให้ได้ความเข้มข้น 500 μg/mL

การเก็บตัวอย่างเลือดและการเตรียมพลาสมา

ทำการวางยาสลบหนูด้วย Ether หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างเลือดโดยการเจาะเลือดจากแองเงอเลือดได้ใส่ในหลอดทดลองที่มีสาร Heparin ความเข้มข้น 60 u/mL โดยใช้อัตราส่วนของ Heparin 0.1 mL ต่อเลือด 1 mL ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นนำตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ heparin แล้ว (Heparinized Blood) ไปปั่น

ทันทีที่ 1600×g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อแยกส่วนของพลาสมา

การเตรียมตัวอย่าง plasma blank

นำตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ Heparin แล้ว ไปปั่นทันทีที่ 1600×g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อแยกส่วนของพลาสมา หลังจากนั้นเปิดพลาสมา ปริมาตร 200 μL ใส่ลงในหลอดทดลอง แล้วจึงนำมาสกัด หลังจากนั้นนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

อิทธิพลของตัวกลาง

เตรียมสารละลาย Permethrin ในตัวทำละลายอินทรีย์โดยเปิดสารละลายมาตรฐาน Permethrin ความเข้มข้น 500 μg/mL ปริมาตร 50 μL ลงในหลอดทดลองเติม Acetonitrile ปริมาตร 450 μL เพื่อให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 50 μg/mL เขย่าให้เข้ากันเบาๆ (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

เตรียมสารละลาย Permethrin ในตัวอย่างเลือดโดยเปิดสารละลายมาตรฐาน Permethrin ความเข้มข้น 500 μg/mL ปริมาตร 50 μL ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ Heparin แล้ว ปริมาตร 450 μL เขย่าให้เข้ากันเบาๆ แล้วนำไปแยกส่วนของพลาสมา ก่อนทำการสกัด (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลา

เปิดสารละลายมาตรฐาน Permethrin ความเข้มข้น 500 μg/mL ปริมาตร 50 μL เติมลงไป ในหลอดทดลอง หลังจากนั้นเติมตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ heparin แล้ว ปริมาตร 450 μL เพื่อให้ได้ตัวอย่างเลือดที่มีความเข้มข้นของ Permethrin 50 μg/mL เขย่าให้เข้ากันเบาๆ นำตัวอย่างเลือดไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ

25 °C (อุณหภูมิห้อง) 4 °C (ช่องทำความเย็นปกติของตู้เย็น) และ -20 °C (ช่องแช่แข็งของตู้เย็น) ทั้งนี้ได้ตรวจสอบอุณหภูมิโดยใช้เทอร์โมมิเตอร์

ตัวอย่างเลือดถูกตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 0, 0.5, 1, 2, และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ ก่อนนำไปปั่นแยกเพื่อเอาส่วนของพลาสมาทำการสกัด (ทำซ้ำ 3 ครั้ง)

อิทธิพลของความเป็นกรด

ปิเปตตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ Heparin แล้วปริมาตร 450 μ L เติมลงไปในหลอดทดลอง หลังจากนั้นเติมกรด TFA เข้มข้น 70% ด้วยอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างเลือดต่อกรด 100: 1 และ 200: 1 หรือกรด HClO₄ เข้มข้น 98% ด้วยอัตราส่วนตัวอย่างเลือดต่อกรด 50: 1, 100: 1, 200: 1, 225: 1 และ 250: 1 หลังจากนั้นเขย่าให้เข้ากันและ เติมสารละลายมาตรฐาน Permethrin ที่ความเข้มข้น 500 μ g/mL ปริมาตร 50 μ L เพื่อให้ได้ตัวอย่างเลือดที่มีความเข้มข้นของ Permethrin 50 μ g/mL เขย่าให้เข้ากันนำไปปั่นแยกทันทีเพื่อเอาส่วนของพลาสมาทำการสกัด (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

อิทธิพลของความเป็นกรดร่วมกับการรักษาอุณหภูมิ

ปิเปตตัวอย่างเลือดที่ผสมกับ Heparin แล้วปริมาตร 450 μ L เติมลงไปในหลอดทดลอง เติมกรด HClO₄ อัตราส่วน 200: 1 และ 225: 1 เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน Permethrin ที่ความเข้มข้น 500 μ g/mL ปริมาตร 50 μ L เพื่อให้ได้ตัวอย่างเลือดที่มีความเข้มข้นของ Permethrin

50 μ g/mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปแช่ไว้ในบีกเกอร์ที่มีน้ำแข็งซึ่งวัดอุณหภูมิได้ 3 °C เป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปปั่นแยกทันทีเพื่อเอาส่วนของพลาสมาทำการสกัด (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

วิธีการสกัดตัวอย่างพลาสมา

วิธีการสกัดดัดแปลงมาจากวิธีของ Juntung และ Chuichang⁽⁵⁾ โดยนำตัวอย่างพลาสมา 200 μ L ใส่ในหลอดทดลองขนาด 5 mL ทำตัวอย่างให้เป็นกรดด้วยการเติม 1 N Acetic Acid 60 μ L เขย่าให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 30 วินาที นำไปสกัดโดยใช้เทคนิค solid phase extraction (SPE) โดยใช้ VertiPak™ C₁₈ - Tubes 200 mg/3mL เริ่มจากการ Precondition Cartridge ด้วย Chloroform, Methanol, Methanol: Deionized Water (อัตราส่วน 1: 1) และ deionized water อย่างละ 3 mL ตามลำดับ หลังจากนั้น load ตัวอย่างพลาสมาใส่ลงไปใน Cartridge ทำการล้างด้วย Deionized Water 3 mL แล้วชะด้วย Chloroform 3 mL ตัวอย่างที่ทำการสกัดได้นำไประเหยจนแห้งด้วยไอไนโตรเจนที่อุณหภูมิห้อง ละลายส่วนที่เหลือด้วย Acetonitrile 200 μ L แล้วทำการวิเคราะห์ด้วย HPLC

เครื่องมือและสภาวะในการวิเคราะห์ด้วย

HPLC

เครื่อง High Performance Liquid Chromatograph, HPLC (Agilent 1200 Series, DE, U.S.A.) ต่อกับตัวตรวจวัด diode array และระบบประมวลผล Agilent Chemstation Software System (CA, U.S.A) สภาวะของ HPLC ดัดแปลงมาจากวิธี

ของ Abu-Qare และคณะ⁽⁶⁾ คอลัมน์ที่ใช้เป็นชนิด Reverse-Phase Fortis™ C₁₈ column (150×4.6 mm i.d., 5 μm) ซึ่งต่อกับ Sunfire™ C₁₈ guard column (20×4.6 mm i.d., 5 μm) อุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 25 °C เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วย Deionized Water และ Acetonitrile และแยกสารโดย Gradient Program โดยเริ่มต้นที่ 70% Acetonitrile ที่เวลา 0-4 นาที แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 100% Acetonitrile ในนาทีที่ 5-20 หลังจากนั้นปรับลดลงเป็น 70% Acetonitrile ในนาทีที่ 21-23 อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่เท่ากับ 1.4 mL/min ปริมาตรของตัวอย่างที่ฉีดเข้าสู่ระบบเท่ากับ 20 μL และตรวจวัด Permethrin และ Phenoxybenzyl Alcohol ที่ความยาวคลื่น 210 nm

วิเคราะห์ผลการทดลอง

บันทึกค่าพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของ Permethrin ทั้ง trans- และ cis-isomers และ Phenoxybenzyl alcohol แล้วนำมาคำนวณหาค่า Metabolic Ratio (MR) สำหรับ trans- และ cis-isomers จากสูตรต่อไปนี้

$$MR_{trans-permethrin} = \frac{\text{mean peak area}_{\text{phenoxybenzylalcohol}}}{\text{mean peak area}_{\text{trans-permethrin}}}$$

$$MR_{cis-permethrin} = \frac{\text{mean peak area}_{\text{phenoxybenzylalcohol}}}{\text{mean peak area}_{\text{cis-permethrin}}}$$

คำนวณหาค่าร้อยละการคืนกลับ

(%recovery) สำหรับ trans- และ cis-isomers จากสูตรต่อไปนี้

$$\%recovery_{trans-permethrin} = \frac{\text{mean peak area}_{\text{trans-permethrin}} \text{ after extraction}}{\text{mean peak area}_{\text{trans-permethrin}} \text{ direct injection}}$$

$$\%recovery_{cis-permethrin} = \frac{\text{mean peak area}_{\text{cis-permethrin}} \text{ after extraction}}{\text{mean peak area}_{\text{cis-permethrin}} \text{ direct injection}}$$

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

อิทธิพลของตัวกลาง

ผลของตัวกลางที่ Permethrin ละลายอยู่นั้นคือในตัวทำละลายอินทรีย์ และในเลือดแสดงดังรูปที่ 1 ค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของ trans- และ cis-Permethrin ที่อยู่ในตัวอย่างเลือดมีค่าต่ำกว่าค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของ Permethrin ที่อยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟของ Permethrin ในตัวอย่างเลือดมีค่าต่ำกว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ 50.77% สำหรับ trans-isomer และ 24.28% สำหรับ cis-isomer อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟ ของ trans-: cis-Permethrin ที่อยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ มีค่าเท่ากับ 2.54 ในขณะที่อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของ trans-: cis-Permethrin ในตัวอย่างเลือดมีค่าเท่ากับ 1.65 ซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงอย่างมากของ trans-isomer ในตัวอย่างเลือด นอกจากนี้ยังตรวจพบ Phenoxybenzyl Alcohol ในตัวอย่างเลือดแต่ไม่พบในตัวทำที่เป็นสารละลาย Permethrin ในตัวทำละลายอินทรีย์ Phenoxybenzyl Alcohol เป็นเมแทบอไลต์ที่เกิดจากปฏิกิริยา Hydrolysis ของ Permethrin โดยเฉพาะ trans-isomer⁽²⁾ โดยเอนไซม์ carboxylesterase ซึ่งมีอยู่ในเลือด จึงเป็นไปได้ว่า ในระหว่างการเตรียมพลาสมาซึ่งต้องใช้เวลาอย่างน้อย 15 นาที ในการปั่นเหวี่ยง Permethrin ซึ่งอยู่ในเลือด ได้ถูกเปลี่ยนให้เป็น Phenoxybenzyl Alcohol การที่ Peak Area ของ trans-Permethrin ลดลงมากกว่า cis-isomer และการที่อัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของ trans-:

cis- ลดลง รวมทั้งการตรวจพบ Phenoxybenzyl alcohol เฉพาะในตัวอย่างเลือด แสดงให้เห็นว่า ในตัวอย่างเลือดมีการเปลี่ยนแปลงของ trans-Permethrin ให้เป็น Phenoxybenzyl Alcohol นั่นคือมีการเกิด Hydrolysis ของ Permethrin

อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลา

ผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีต่อการเกิด hydrolysis ของ trans- และ cis-permethrin ไปเป็น phenoxybenzyl alcohol แสดงด้วยค่า MR (รูปที่ 2) ผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิห้องนั่นคือ 25°C การตั้งตัวอย่างเลือดที่มีสาร permethrin อยู่ด้วยเป็นเวลาต่างๆ ตั้งแต่ 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ทำให้ค่า MR สำหรับ trans-permethrin มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมาก และที่อุณหภูมิ 25°C นี้ค่า MR มีค่าสูงสุดตั้งแต่ 1 ชั่วโมง เป็นต้นไป MR สำหรับ cis-permethrin มีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย (รูปที่ 2A)

ในทำนองเดียวกัน เมื่อตั้งตัวอย่างเลือดที่มี permethrin ความเข้มข้นที่เท่ากันอยู่ด้วยที่อุณหภูมิ 4°C ค่า MR สำหรับ trans-permethrin มีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ผ่านไป แต่มีค่าเพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิห้อง(25°C) (รูปที่ 2B) เมื่อตั้งตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ -20°C ค่า MR สำหรับ trans-permethrin มีค่าเพิ่มขึ้นตามเวลาเช่นกัน โดยเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับที่อุณหภูมิ 25°C และ 4°C (รูปที่ 2C) ค่า MR มีค่าสูงสุดที่เวลา 4 ชั่วโมง และค่า MR สำหรับ trans-permethrin ที่อุณหภูมิ 25°C มีค่าเป็น 29 และ 117 เท่า ของค่า MR ที่อุณหภูมิ 4°C และ -20°C ตามลำดับ

โดยปกติการทำ การทดลอง มักทำที่ อุณหภูมิห้องซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ 25°C อาจสูงกว่า หรือต่ำกว่านี้เล็กน้อย แม้ว่าตัวอย่างเลือดจะถูกเก็บ ออกมาจากสัตว์ทดลองและนำไปปั่นแยกพลาสมาทันที ก็ยังมีการสูญเสียของ permethrin ไปบางส่วน ซึ่งเป็นไปได้ว่าเกิดจากปฏิกิริยา hydrolysis โดย เอนไซม์ในเลือด ดังที่ได้ กล่าวมาแล้วข้างต้น จากการ ทดลองนี้พบว่าค่า MR มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลา เพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึง การมีระดับของ phenoxybenzyl alcohol เพิ่มขึ้น นั่นก็คือมีการเกิด hydrolysis ของ permethrin และการที่ MR สำหรับ trans-permethrin สูงกว่า MR สำหรับ cis-permethrin ก็เป็นการแสดงให้เห็นว่า phenoxybenzyl alcohol เกิดจาก trans-isomer มากกว่า cis-isomer ดังนั้นผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า เมื่อตัวอย่างเลือดถูกตั้งทิ้งไว้ ยืนนาน ขึ้นก็ยิ่งทำให้เกิดการสูญเสีย permethrin ไปมากขึ้น ตั้งแต่เวลา 1 ชั่วโมง เป็นต้น ไปการสูญเสีย permethrin เกิดขึ้นสูงสุด

อย่างไรก็ตามการตั้งตัวอย่างเลือดไว้ที่ อุณหภูมิที่ต่ำลง ในที่นี้คือ ที่ 4°C และ -20°C พบว่า ยังคงมีการสูญเสีย permethrin เกิดขึ้นแต่น้อยลง และ เมื่อตั้งไว้ นานขึ้นการสูญเสียเกิดมากขึ้น ผลการ ทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ลดลงไม่สามารถหยุด ปฏิกิริยา hydrolysis ได้เพียงแต่ช่วยชะลอการ เกิดปฏิกิริยาให้ช้าลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Avramides ⁽⁷⁾ ได้ศึกษาสถานะของการเก็บรักษาสาร กำจัดแมลงต่างๆซึ่งรวมทั้ง permethrin ด้วยที่อุณหภูมิ ต่างกันคือ ที่อุณหภูมิของช่องแช่แข็ง อุณหภูมิห้อง

4°C และ -20°C ตามลำดับ พบว่า permethrin เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องใช้ระยะเวลาในการเก็บไว้ได้สั้นที่สุด การสูญเสีย permethrin ในการทดลองนี้ไม่น่าจะเป็นผลมาจากการถูกทำลายด้วยแสงสว่าง เนื่องจากกระหว่างทำการทดลอง ผู้ทดลองได้ป้องกันแสงสว่างด้วยการหุ้มหลอดทดลองทุกหลอดที่ใส่ตัวอย่างที่มี permethrin ด้วยอะลูมิเนียมฟอล์ย

อิทธิพลของความเป็นกรด

ผลของการเติมกรด TFA และ HClO₄ ในอัตราส่วน 100: 1 และ 200: 1 ลงในตัวอย่างเลือดที่มีต่อ ค่า MR และค่าเปอร์เซ็นต์ร้อยละการคืนกลับของการสกัดแสดงดังรูปที่ 3 ค่า MR สำหรับทั้งทั้ง trans- และ cis-permethrin มีค่าลดลง หลังการเติมกรด TFA และ HClO₄ ลงในตัวอย่างเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเลือดที่ไม่ได้เติมกรดทั้งสอง เปรียบเทียบการเติมกรด TFA หรือ HClO₄ ในอัตราส่วน 100: 1 ทำให้ค่า MR สำหรับ trans- และ cis-permethrin ต่ำกว่าการเติมกรดในอัตราส่วน 200: 1 แต่ค่าเปอร์เซ็นต์ร้อยละการคืนกลับมีค่าต่ำกว่า การเติมกรด TFA 200: 1 ทำให้ค่า MR มีค่าสูงกว่าเมื่อเติมกรด HClO₄ 200: 1 ดังนั้นชนิดของกรดที่น่าจะพิจารณาสำหรับการเติมลงในตัวอย่างเลือดน่าจะเป็น HClO₄ เพราะสามารถทำให้ค่า MR มีค่าน้อยและยังให้ประสิทธิภาพการสกัดที่ดี

เมื่อทดลองปรับอัตราส่วนของกรด HClO₄ ตั้งแต่ 50: 1 ถึง 250: 1 พบว่าด้วยอัตราส่วน 200: 1 และ 225: 1 ทำให้ค่า MR ของ permethrin มีค่าต่ำกว่าเมื่อเทียบกับอัตราส่วน 50: 1 และ 250: 1 (รูปที่ 4)

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า การทำให้ตัวอย่างเลือดเป็นกรดช่วยชะลอการสูญเสีย permethrin ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดและอัตราส่วนที่เติมลงไปซึ่งมีผลต่อความเป็นกรดในตัวอย่างเลือด อย่างไรก็ตามปัจจัยทั้งสองมีผลต่อประสิทธิภาพการสกัดด้วย ในการหาสถานะที่เหมาะสมจึงต้องคำนึงถึงเรื่องนี้ด้วย

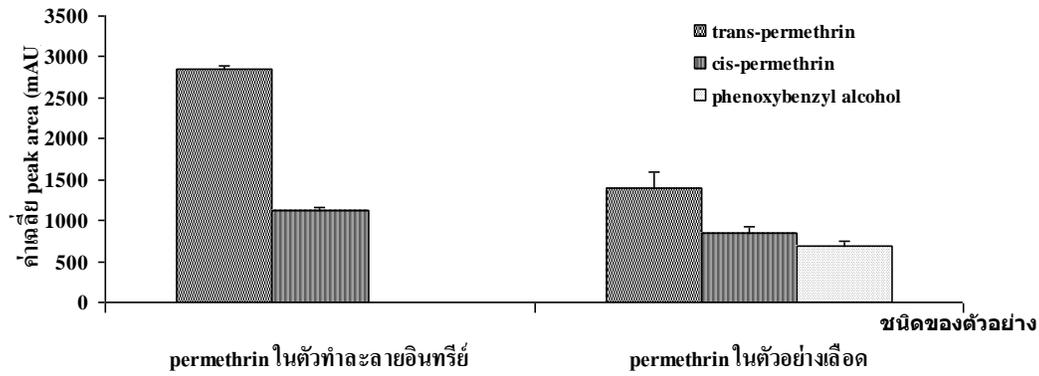
อิทธิพลของความเป็นกรดร่วมกับการลด

อุณหภูมิ

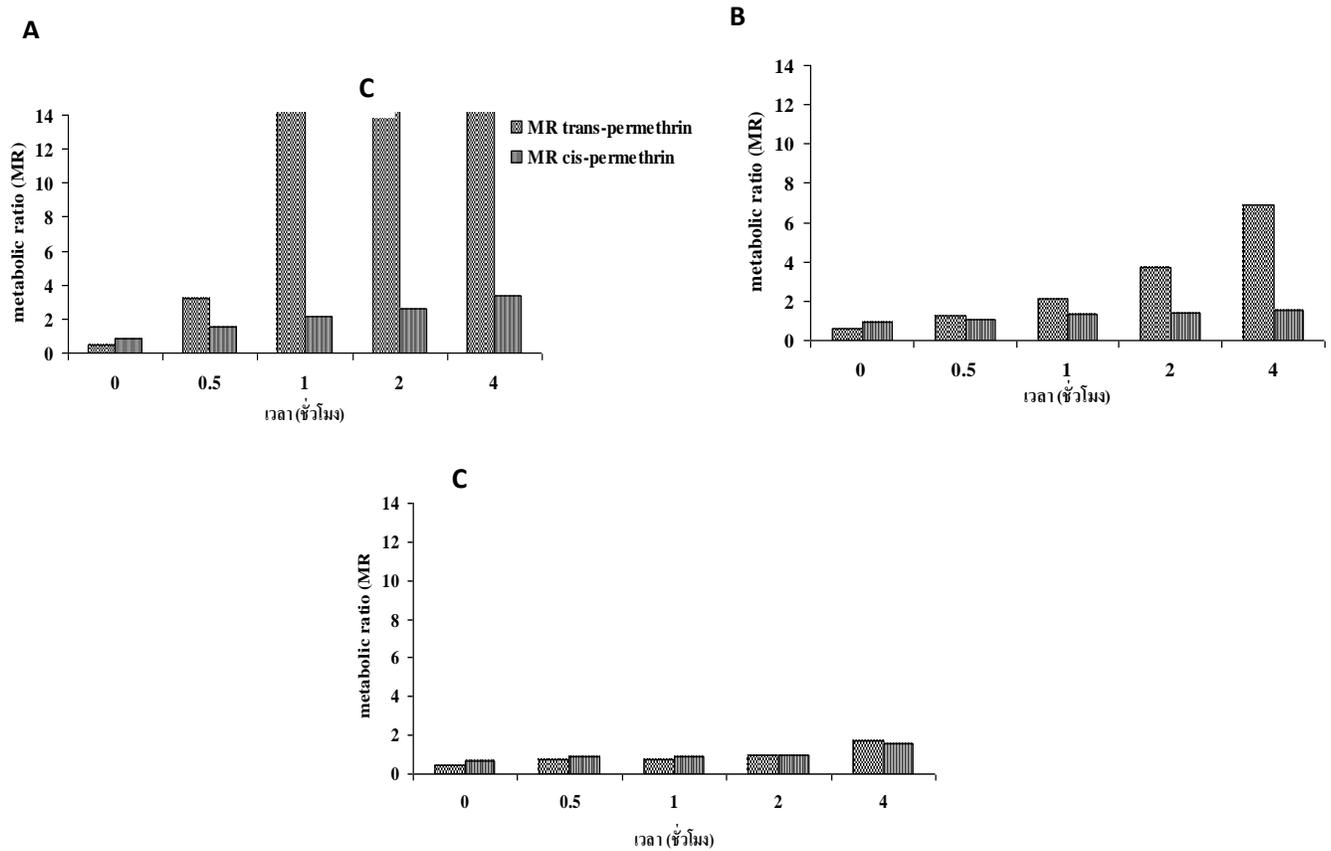
เมื่อเติมกรด HClO₄ ลงในตัวอย่างเลือดด้วยอัตราส่วน 200: 1 และ 225: 1 ร่วมกับการลดอุณหภูมิโดยการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็ง พบว่าการเติมกรดด้วยอัตราส่วน 200: 1 ร่วมกับการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งทำให้ค่า MR มีค่าต่ำที่สุด (< 0.1) (รูปที่ 4) ซึ่งต่ำกว่าการเติมกรดที่อัตราส่วนเดียวกัน หรือการลดอุณหภูมิเพียงอย่างเดียว ดังนั้นการทำสถานะนี้จึงเป็นสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการชะลอการสูญเสีย permethrin ในตัวอย่างเลือด

สรุปผลการทดลอง

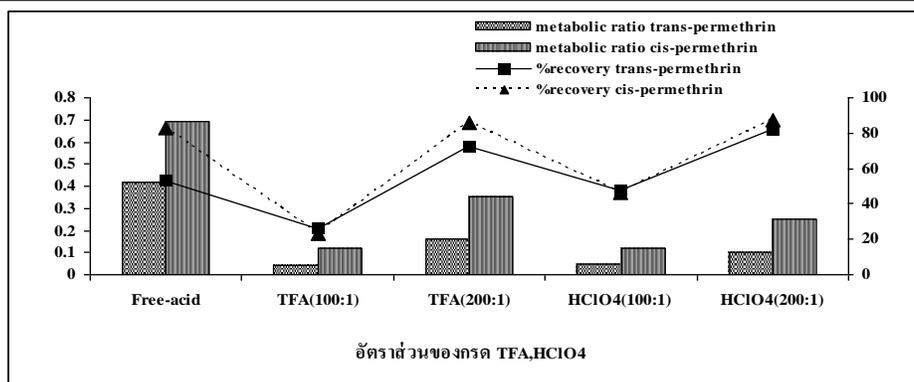
ที่อุณหภูมิที่คงที่การสูญเสีย permethrin ที่อยู่ในตัวอย่างเลือด เพิ่มขึ้นเมื่อตั้งตัวอย่างไว้เป็นระยะเวลาเวลานานขึ้น การสูญเสียลดลงเมื่ออุณหภูมิลดลง และทำให้ตัวอย่างให้เป็นกรด การสูญเสีย permethrin ต่ำที่สุดเมื่อทำตัวอย่างให้เป็นกรดร่วมกับการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างให้ต่ำลง ดังนั้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเลือดก่อนการสกัดและวิเคราะห์ permethrin ควรควบคุมสถานะให้เหมาะสมที่สุดเพื่อทำให้ permethrin ในตัวอย่างเลือดมีความเสถียรมากที่สุด



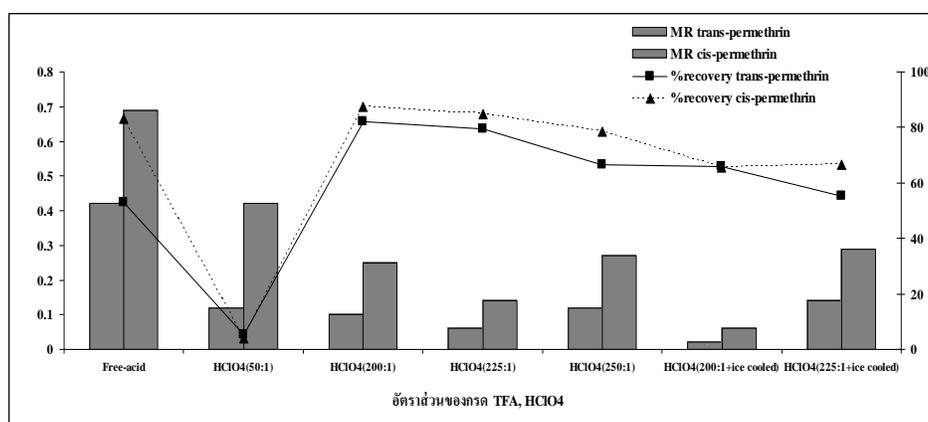
รูปที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ยพื้นที่ใต้กราฟ (\pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) ของ trans-permethrin, cis-permethrin และ phenoxybenzyl alcohol ที่อยู่ในตัวทำละลายอินทรีย์ (acetonitrile) กับ ในตัวอย่างเลือด (n=3)



รูปที่ 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง metabolic ratio (MR) สำหรับ trans-permethrin ($MR_{trans-permethrin}$) และ cis-permethrin ($MR_{cis-permethrin}$) กับเวลาต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25°C (A), 4°C (B) และ -20°C (C)



รูปที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการทำตัวอย่างให้เป็นกรดด้วย TFA, HClO₄ ที่อัตราส่วน 100: 1 และ 200: 1 กับ metabolic ratio (MR) และค่าร้อยละของการกลับคืน (%recovery) ของ trans-permethrin และ cis-permethrin



รูปที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการทำตัวอย่างให้เป็นกรดด้วย HClO₄ ที่อัตราส่วน 50: 1, 200: 1, 225: 1, 250: 1, และ 200: 1 และ 225: 1 ร่วมกับการแช่ตัวอย่างในน้ำแข็ง (ice cooled) กับ metabolic ratio (MR) และค่าร้อยละของการกลับคืน (%recovery) ของ trans-permethrin และ cis-permethrin

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สำหรับทุนอุดหนุนการวิจัยเพื่อวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.เบญจมาศ จันทร์ฉวี และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร.สถาพร พลฤทธิพรหลาย ที่ได้กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา และชี้แนะแนวทางอันเป็นประโยชน์ในการทำงานวิจัย จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ ภาคเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการศึกษา และการทำวิจัย

ขอขอบคุณ สถานสัตว์ทดลองภาคใต้ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้สัตว์ทดลองและสถานที่ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Soderlund DM, Clark JM, Sheets LP, *et al.* Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology* 2002; 171: 3-59.
2. Nakamura Y, Sugihara K, Sone T, *et al.* The *in vivo* metabolism of a pyrethroid insecticide, permethrin, its hydrolysis products in rats. *Toxicology* 2007; 235: 176-184.
3. Satoh T, Hosokawa M. Structure, function and regulation of carboxylesterase. *Chemical-Biological Interactions* 2006; 162: 195-211.
4. Crow JA, Borazjani A, Potter PM, *et al.* Hydrolysis of pyrethroids by human and rat tissues: Examination of intestinal, liver and serum carboxylesterase. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2007; 221: 1-12.
5. Jung L, Chuichang F. Solid phase extraction method for rapid isolation and clean-up of some synthetic pyrethroid insecticides from human urine and plasma. *Forensic Science International* 1991; 51: 89-93.
6. Abu-Qare AW, Abou-Donia MB. Simultaneous determination of malathion, permethrin, DEET (N,N-diethyl-m-toluamide), and their metabolites in rat plasma and urine using high-performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001; 26: 291-299.
7. Avramides EJ. Long-term stability of pure standards and stock standard solutions for the determination of pesticide residues using gas chromatography. *Journal of chromatography A* 2005; 1080: 166-176.

การกำจัดพิษของแคดเมียมที่เหนียวนำไปไตและตับหนูขาวบาดเจ็บด้วยสารสกัดใบรางจืด

ณัฐธิดา หมอกเหมม', พลอยไพลิน ฉัตตะวริยะ', นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข', ศิริรัตน์ จันท์จารุณี' และวีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์'

'สาขาวิชาพิษวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

'ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

'ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ใช้ *Thunbergia laurifolia* Lindl. หรือรางจืด ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่มีสรรพคุณระบุในตำราแพทย์แผนไทยว่าสามารถแก้พิษของสารพิษได้หลายชนิด มาทำการทดสอบลดพิษที่ไตและตับของหนูขาวหลังการถูกเหนียวนำไปเกิดพิษด้วยสารละลายแคดเมียมคลอไรด์โดยให้สารสกัดใบรางจืดแก่หนูขาวเพศผู้ขนาด 125 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยการกรอกทางปาก ก่อนและหลังการให้แคดเมียมคลอไรด์ 1.2 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมโดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังทุก 5 วัน นาน 4 สัปดาห์ และเก็บปัสสาวะและเลือดของหนูขาวเพื่อตรวจหาปริมาณแคดเมียมโดยใช้เครื่องวิเคราะห์กราฟฟิฟเฟอเนสอะตอมมิกแอบซอร์บชัน สเปกโตรมิเตอร์ หลังจากนั้นนำไปตรวจทางพยาธิวิทยา ผลการทดลองพบว่าสารสกัดใบรางจืดที่ให้ไม่สามารถช่วยให้หนูขาวที่ได้รับแคดเมียมรอดตายได้ อย่างไรก็ตามลักษณะภายนอกและพฤติกรรมที่ผิดปกติของหนูขาวลดลงเมื่อได้รับสารสกัดใบรางจืด หรือตรวจพบความผิดปกติได้น้อยกว่าหนูขาวที่ได้รับแคดเมียมเพียงอย่างเดียว องค์ประกอบของสารในใบรางจืดได้ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์ สเปกโทรสโกปี พบว่าใบรางจืดมีสารประกอบ กลุ่มอโรมาติก, เฮกซิล และกลุ่มกลูโคไซด์ ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถช่วยลดพิษของแคดเมียมได้แต่ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนเนื่องจากการตายของหนูขาวเกิดขึ้นระหว่างการทดลอง ดังนั้นการทดลองครั้งต่อไปจะลดขนาดของแคดเมียมที่ให้กับหนูขาวและเปลี่ยนวิธีการให้สารสกัด

คำสำคัญ: แคดเมียม, การบาดเจ็บของไตและตับ, รางจืด

*Corresponding author:

รศ.ดร.วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์

สาขาวิชาพิษวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Email: werawan52@gmail.com

Detoxification of Cadmium Induced Renal and Hepatic Injuries in Rats by *Thunbergia laurifolia* Lindl. Leaf Extract

Morkmek N¹, Chattaviriya P¹, Lertprasertsuke N², Chuncharunee S³, Ruangyuttikarn W^{1*}

¹Division of Toxicology, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Thailand

ABSTRACT

Cadmium can damage kidney and liver cells. *Thunbergia laurifolia* Lindl. is a herb used as an antidote for several poisonous agents in Thai traditional medicine. This study tested the effectiveness of the herb to prevent renal and hepatic injuries induced by cadmium chloride (CdCl₂). Male Wistar rats were fed 125 mg/kg of the leaf extract before and after administration of 1.2 mg/kg of CdCl₂ solution subcutaneously for 5 days/week for 4 weeks. Blood and urinary samples were collected for quantification of cadmium concentrations using graphite furnace atomic absorption spectrometer. The kidneys and livers were removed and examined for histopathological changes. The results showed that the leaf extract given to rats orally did not prevent mortality in rats exposed to cadmium. However, abnormal appearance and behaviour was less in rats fed the leaf extract prior to cadmium exposure than in those fed leaf extract after cadmium exposure. The constituents of the extract were identified as aromatic, hexyl and glucoside compounds by nuclear magnetic resonance spectroscopy. The *T. laurifolia* leaf extract may reduce some effects of cadmium toxicity, but this conclusion is uncertain due to the high mortality rate of the rats in these experiments. Future trials will use a lower cadmium dosage and alternative routes of treating the animals with the leaf extract.

Keywords: cadmium, renal and hepatic injuries, *Thunbergia laurifolia* Lindl.

*Corresponding author:

Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn,
Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine,
Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand,
Email: werawan52@gmail.com

INTRODUCTION

Environmental contamination by cadmium (Cd) is a subject of serious international concern as the metal can enter the food chain and be bioaccumulated, endangering human health.¹ The main pathways of Cd exposure to humans are by inhalation of particles or fumes during industrial operations or in cigarette smoke and by ingestion of Cd in food or water.¹⁻⁴ The extremely long biological half-life of Cd essentially makes it a cumulative toxin in the liver and kidney which makes up the bulk of total body burden.⁵ It has been reported that after absorption, Cd is taken up by hepatocytes and then circulates in blood as a metallothionein complex (Cd-Mt). Because of its small molecular size, Cd-Mt can pass easily through the glomerular membrane and be taken up by renal tubular cells. The methallothionein is then catabolized releasing Cd⁺² into the cytoplasm. This induces synthesis of new methallothionein molecules, which in turn, bind and retain Cd in the kidney for a long period of time^{6,7} causing toxicity.

In the Mae Sot District, Tak Province of Thailand, farmers irrigating crops using water Mae Tao and Mae Ku creeks, which have a zinc mine in the catchment, have been exposed to Cd contaminated rice and water over a long period of time. An epidemiological study revealed that persons who mainly consumed rice grown in contaminated fields around Mae Sot had higher urinary Cd than those who did not.^{8,9} Cd intoxication has been managed by metal chelating compounds, but there are numerous undesirable side effects.¹⁰ Medical plants such as ginger, onion, and garlic have also been used for Cd detoxification.¹¹⁻¹³ There is no report of the use of *Thunbergia laurifolia* Lindl. as a detoxifying agent.

Thunbergia laurifolia Lindl. or “Rang Jerd” (in Thai) has various uses in Thai traditional medicine. Aqueous extract of fresh and

dried leaves, dried root and bark are used as an antidote for insecticide poisoning,^{14,15} and dried root is used as an anti-inflammatory and antipyretic agent.^{16,17} Other reported uses of the plant are for treatment of amphetamine addiction¹⁸, reducing the toxicity of parathion insecticide¹⁵, and as antimicrobial agent¹⁹ and antioxidant.²⁰ Other study has reported that the aqueous extract of *T. laurifolia* Lindl. in the massive single dose was not toxic to rats, did not affect the behaviour of rats, did not induce free radical formation and was not mutagenic for bacteria.²¹

Therefore, the aim of this study was to use a rat model induced renal and hepatic injuries by Cd exposure in order to study the effectiveness of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract as a detoxifying agent.

MATERIALS AND METHODS

Induction of rat model

Animals : Male Wistar rats purchased from the National Laboratory Animal Centre, Mahidol University, weighing between 275-300 g were maintained under standardized laboratory conditions (temperature 22 ± 2°C, 12/12 hr light/dark cycle) for one week acclimatization. They were allowed free access to drinking water and commercial standard rodent pellets. The study protocol including number of animal use was approved by the Animal Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

Induction of renal and liver injuries by cadmium chloride : Six of male Wistar rats were randomized into two groups of three. The control group (n=3) was injected subcutaneously with normal saline solution (0.9% NaCl). The treated group (n=3) was injected with CdCl₂ solution at the concentration of 1.2 mg/kg BW subcutaneously for 5 days/week for 4 weeks (28 days, d1-d28; 20 doses of CdCl₂). The dose of CdCl₂ and the period of treatment were modified from the study of Prozialeck.²²

Collection of rats' urine and blood : A urinary sample was collected from each rat over 24 hr using metabolic cage on day 0 and day 28 and a blood sample was collected by cardiac puncture on the last day of the experiment after the rats were anesthetized intraperitoneally with sodium phenobarbital solution. After perfusion of the whole animal with physiological saline via the portal vein, the kidneys and livers were removed, washed with physiological saline solution and fixed in 10% neutral-buffered formalin for 48 hr for histopathological examination.

Determination of blood and urinary cadmium and urinary creatinine : Blood and urinary Cd concentrations were quantified by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) with Zeeman-GFAAS background correction (Varian, SpectraA800Z) using 5% monobasic ammonium phosphate as a modifier. Blood samples were digested in 5% nitric acid solution with a ratio of 1:3 (v/v), then mixed, and centrifuged after standing for an hour. The supernatant was removed for analysis by GFAAS. Urine samples were diluted in 0.1% nitric acid solution with a ratio of 1:1 (v/v). Urinary creatinine levels were measured based on the Jaffe reaction.²³

Histopathological study : The rat kidneys and livers were processed and individually embedded in the paraffin wax. Sections (5 µm) were cut and stained with haematoxylin and eosin (H&E) dye for examination under a light microscope to determine the morphological changes.

Plant extract

Thunbergia laurifolia Lindl. leaf extract : *T. laurifolia* Lindl. (Acanthaceae) leaves were collected from Ob Khan National Park, Hangdong District, Chiang Mai Province in July and October 2009. Taxonomy of the plant has been identified at the Queen Sirikit Botanic Garden, Mae Rim District, Chiang Mai Province.²⁴ The leaves were washed with tap

water, dried and grounded to powder, then stored in an amber glass bottle at room temperature before extraction.

The leaves powder was soaked in boiled distilled water (1:10 w/v) for 1 hr then filtered through three layers of gauze followed by Whatman No.4 filter paper. The filtrate was lyophilized and stored in a desiccator at 4°C. The extract was redissolved in distilled water to desired concentrations just prior to use.

Characterization of T. laurifolia Lindl. leaf extract : Lyophilized residue of the *T. laurifolia* Lindl. leaf extract was dissolved in D₂O as aqueous solvent and the constituents were characterized by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) using a Bruker AVANCE-400 spectrometer with water suppression technique.

Detoxification experiments

Detoxification effects of T. laurifolia Lindl. against cadmium toxicity : Eighteen rats were randomized into three groups of six rats. The positive control group (group 1) was injected subcutaneously with 1.2 mg/kg BW CdCl₂ solution for 5 days/week for 4 weeks followed by water orally for the next 28 days. The leaf extract treatment group (group 2) was injected with CdCl₂ solution as for the positive control group. Then after CdCl₂ injection was completed, the group was fed daily with the leaf extract for 4 more weeks. Rats in group 3 were injected with CdCl₂ solution and fed the leaf extract twice a day at the same frequency as the CdCl₂ injections (20 doses over 28 days). This experimental design was expected to test the antagonistic effect of the leaf extract.

To investigate the prophylactic effect of the leaf extract, eighteen rats were separated into three equal groups and treated as above except the group 2 and 3 were fed the leaf extract before and during the CdCl₂ treatment. Urine, blood, kidneys and livers were collected and removed from all rats for Cd quantification and

histopathological examination. The appearances and behaviour of the rats was also observed and recorded daily.²¹

Statistical analysis

All data were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). The statistical significance was evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA) using SPSS version 12.0. Values were considered statistically significant when $p < 0.05$.

RESULTS

Induction of rat model

Body, kidneys and liver's weight of rats after treatment with Cd : Body weight of the control rats gradually increased during the experiment. The body weight of the rats treated with CdCl₂ did not increase but at the conclusion of the experiment, the mean weights of both groups were different (Figure 1). The weights of kidneys and liver's were not significantly different between the control and the Cd treated rats even though the data appeared that Cd treated rats had larger organs than the control rats without CdCl₂ treatment (Table 1).

Blood and urinary Cd in cadmium treated rats : After the Cd exposure, the blood Cd concentration of treated rats was approximately 5,000 times greater than in the control rats (Table 2). Likewise, the urinary Cd concentration in treated rats was much higher than for the control rats.

Histopathological study of cadmium treated rats : The kidneys of the control rats had normal structure of glomerulus (G) and proximal convoluted tubules (T) (Figure 2A). The kidneys of Cd treated rats had proximal renal tubular damage (Figure 2B and 2C). The cuboidal shaped cells were disrupted with undefined epithelial cell lining. The intracellular space or lumen (L) increased. Protein casts (arrow) were present in collecting tubules. Some glomeruli had increased

cellular appearance and diminished capsule space.

Histological examination indicated the hepatic architectures in the control group was normal (Figure 3A). The liver of rats exposed to Cd (Figure 3B and 3C) showed degenerative changes like swollen hepatocytes with pale cytoplasm and condensed nuclear chromatin with pyknosis. Single cell necrosis (white arrow), marked by contracted cells detached from the others and densely hyperchromatic nuclear chromatin, together with sinusoidal (black arrow) widening was also observed in all animals with Cd treatment.

Plant extract

Characterization of the constituents of T. laurifolia Lindl. Leaves : The NMR spectra of the aqueous extract of *T. laurifolia* Lindl. leaves collected in the rainy season (July) and cool season (October) were similar (Figure 4A and 4B). The major constituents were aromatic, hexyl and glucoside compounds.

Detoxification experiments

Detoxification effects of T. laurifolia Lindl. against Cd toxicity : Most rats treated with Cd died during the Cd exposure period in both the antagonistic and prophylactic studies. The appearance and behaviour of group fed the leaf extract during the Cd exposure (prophylactic study) was different to positive control group (CdCl₂ treatment only). Abnormal behaviours included, such as bleeding nose, hunched back, falling hair, passive head tap, sensitive body touch and statue position.

The mortality of animals in the positive control group commenced from day 5 while animals fed the leaf extract from commencement of the study started to die after day 10. At the conclusion of the experiment, there was one survivor in the positive control group and two survivors in group 3 in the prophylactic study.

DISCUSSION

Chronic exposure to Cd leads to damage to several organs and systems primarily the kidney.^{1,2} Our results showed a significant increase in Cd level in blood and urine as has been reported elsewhere.^{10,25,26} Cd exposure increased body, kidneys and liver weight. The high concentrations of Cd in blood and urine indicated a high level exposure. This high exposure and organ weight increase indicated Cd toxicity could have resulted from Cd-associated pathologies in renal tubular epithelium such as calculuria, magnesuria and proteinuria as well as bone demineralization and anemia.¹³ In this study, we observed the degenerative changes in rat kidney and liver accorded with the high blood Cd concentrations.

Lyophilized *T. laurifolia* Lindl. leaf extract administrated to rats at 500 mg/kg BW for 28 days did not affect rat behaviour²¹ and the lower dosage used in this study also had no abnormal effect on the animals prior to CdCl₂ injection.

The high mortality rate of rats during the Cd exposure period indicated the Cd dose was too high or the experimented rats were more sensitive to Cd than rats in our previous experiments when we established a rat model for renal and liver injuries induced by Cd. The antagonistic and prophylactic effects of the leaf extract were not defined at the Cd dose used in this study because of the high mortality rate. However, rats fed the leaf extract before and during Cd exposure had a slightly lower mortality rate than the positive control group treated with CdCl₂ alone. Administration of the *T. laurifolia* Lindl. leaf extract by gavage may reduce Cd toxicity but not antagonize or prevent the lethality caused by high Cd exposure. Therefore, our next study will be focus on reducing Cd dosages and pretreatment experimented rats with *T. laurifolia* Lindl. leaf

extract by other routes of administration, such as drinking water.

The compounds in the NMR spectra in our study were similar to those previously reported from *T. laurifolia* Lindl. leaves that consisted of two iridoid glycosides; 8-*epi*-grandifloric and 3'-*O*-β-glucopyranosylstibericoside along with seven known compounds; benzyl β-glucopyranoside, benzyl β-2-*O*-β-glucopyranosyl, glucopyranoside, grandifloric acid, *E*-2-hexynyl β-glucopyranoside, hexanol β-glucopyranoside, 6-*C*-glucopyranosylapigenin and 6,8-di-*C*-glucopyranosylapigenin.²⁷

In conclusion, we have established a renal and hepatic injuries model of rats by CdCl₂ subcutaneously treatment for studying the antagonistic and prophylactic effects of *T. laurifolia* Lindl. leaf extract. This study could not demonstrate that the leaf extract could not be used to treat Cd toxicity. However, the leaf extract may provide some protection if administrated prior to Cd exposure. The routes of the leaf extract administration to reduce Cd toxicity and/or the dosage of CdCl₂ need to be modified in future.

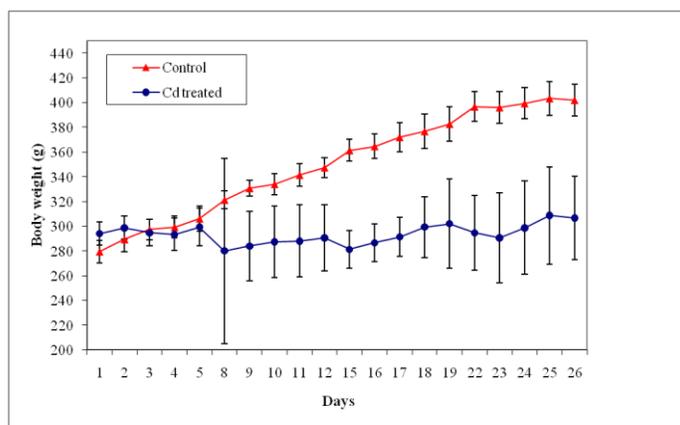


Figure 1 The effect of Cd on body weight. Each point represents mean \pm SEM of 3 rats.

Table 1 Left and right kidneys and the liver's weight of cadmium (1.2 mg/kg CdCl₂) treated rats compared to the control rats

Rats	Left kidney weight (g)	Right kidney weight (g)	Liver weight (g)
Control	1.16 \pm 0.09	1.28 \pm 0.04	11.75 \pm 0.25
Cd treated	1.30 \pm 0.11	1.34 \pm 0.13	18.96 \pm 1.91

Values represent mean \pm SEM of 3 rats.

Table 2 Cadmium concentrations in blood and urine of the cadmium (1.2 mg/kg CdCl₂) treated rats compared to the control rats

Rats	Blood Cd (μ g/L)	Urinary Cd (μ g/gCr) Day 0	Urinary Cd (μ g/gCr) Day 20
Control	1.67 \pm 0.33	56.00 \pm 31.34	4.67 \pm 1.67
Cd treated	5,114.33 \pm 1,081.98*	202.33 \pm 73.13	220,792.33 \pm 81,714.00

Values represent mean \pm SEM of 3 rats. * p <0.05

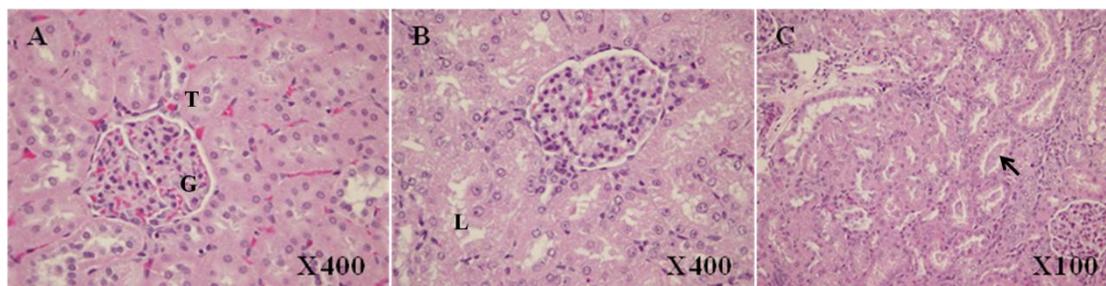


Figure 2 Kidney histopathology of control rat (A) showed normal structure of glomerulus (G) and proximal convoluted tubules (T), and of rat exposed to cadmium (B and C) showed proximal tubular damage with dilation of lumen (L) and protein casts (arrow).

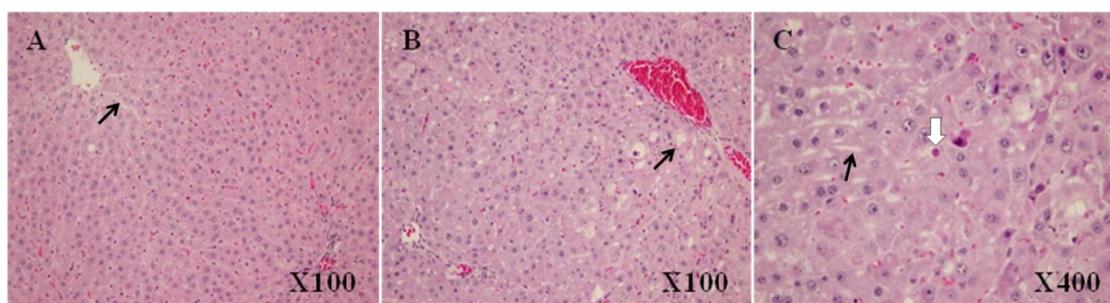


Figure 3 Liver histopathology of control rat (A) and of rat exposed to cadmium showed degenerative hepatocytes with sinusoidal (arrow) widening and the presence of single cell necrosis (white arrow) (B and C).

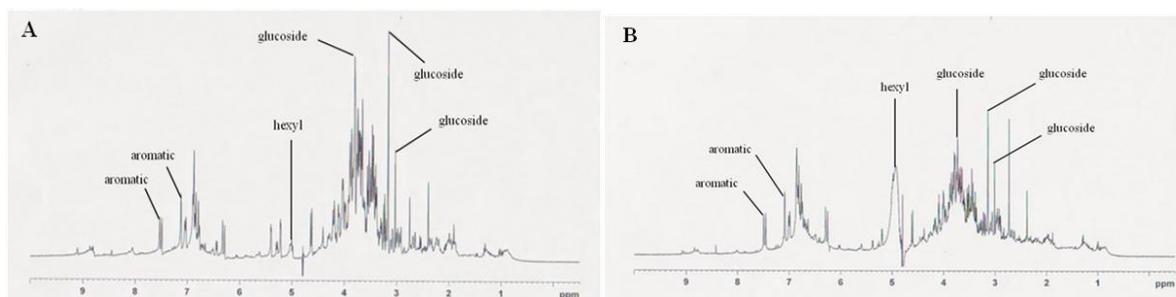


Figure 4 NMR spectra of the aqueous extract of *Thunbergia laurifolia* Lindl. leaves collected in July (A) and October 2009 (B) showing similar constituents

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Dr. Peter R. Hawkins for proofreading the manuscript and for his valuable comments. We also thank the staff of the Department of Forensic Medicine, Department of Pathology, Laboratory Animal House and Medical Science Research Equipment Center, Faculty of Medicine, Chiang Mai University for their kindly technical assistance. The study was supported by The Graduate School of Chiang Mai University.

REFERENCES

1. WHO, "Environmental health criteria 134: Cadmium", World health Organization, Geneva, 1992.
2. Jarup L, Berglund M, Elinder CG, et al. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scand J Work Environ Health* 1998; 24: 1-52.
3. Zalups RK, Ahmad S. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol Appl Pharm* 2003; 186: 163-88.
4. Mendez-Armenta M, Rios C. Cadmium neurotoxicity. *Environ Toxicol Phar* 2007; 23: 350-8.
5. Gonick HC. Nephrotoxicity of cadmium & lead. *Indian J Med Res* 2008; 128: 335-52.
6. Tarasub N, Narula K, Devakul Na Ayutthaya W. Effects of curcumin on cadmium-induced hepatotoxicity in rats. *Thai J Toxicology* 2008; 23(2): 100-7.
7. Fowler BA. Mechanisms of kidney cell injury from metals. *Environ Health Persp* 1992; 100: 57-63.
8. Swaddiwudhipong W, Limpatanachote P, Mahasakpan P, et al. Cadmium-exposed population in Mae Sot district, Tak province: 1. prevalence of high urinary cadmium levels in the adults. *J Med Assoc Thai* 2007; 90: 143-8.

9. Limpatanachote P, Swaddiwudhipong W, Mahasakpan P, *et al.* Cadmium-exposed population in Mae Sot district, Tak province: 2. Prevalence of renal dysfunction in the adults. *J Med Assoc Thai* 2009; 92: 1345-53.
10. Yadav N, Khandelwal S. Effect of picroliv on cadmium-induced hepatic and renal damage in the rat. *Hum Exp Toxicol* 2006; 25: 581-91.
11. Egwurugwu JN, Ufearo CS, Abanobi OC, *et al.* Effects of ginger (*Zingiber officinale*) on cadmium toxicity. *Afr J Biotech.* 2007; 6(18): 2078-82.
12. Massadeh AM, Al-Safi SA, Momani IF, *et al.* Garlic (*Allium sativum* L.) as potential antidote for cadmium and lead intoxication: cadmium and lead distribution and analysis in different mice organ. *Biol Trace Elem Res* 2007; 120: 227-34.
13. Suru SM. Onion and Garlic extracts lessen cadmium-induced nephrotoxicity in rats. *Biometals* 2008; 21: 623-33.
14. Tejasen P, Thongthapp C. The study of the insecticide antitoxicity of *Thunbergia laurifolia* Linn. *Chiang Mai Bulletin.* 1979; 19: 105-14.
15. Ruangyuttikarn W. The pharmacological studies of Rang Jert leaves. M.S.Thesis, Chiang Mai University, 1980.
16. Chamreondararassame B. The effect of Rang Jert leaves on the body temperature. M.S.Thesis, Chiang Mai University, 1978.
17. Thongsaard W, Marsden CA. A herbal medicine used in treatment of addiction mimics the action of amphetamine on in vitro rat strial dopamine release. *Neurosci Lett* 2002; 329: 129-32.
18. Thongsaard W, Marsden CA., Morris P, Prior M, Shah YB. Effect of *Thunbergia laurifolia*, a Thai natural product used to treat drug addiction, on cerebral activity detected by functional magnetic resonance imaging in the rat. *Psychopharmacology* 2005; 180: 752-60.
19. Boonman N, Wiyakrutta S, Sriubolmas N, *et al.* Acanthamoebicidal activity of *Fusarium sp.* Tlau3, an endophytic fungus from *Thunbergia laurifolia* Lindl. *Parasitol Res* 2008; 103:1083-90.
20. Chan EWC, Lim YY. Antioxidant activity of *Thunbergia laurifolia* tea. *J Trop Forest Sci* 2006; 18(2): 130-6.
21. Wisitpongpan W, Ruangyuttikarn W, Rujjanavet C. Toxicity tests of Rang Jert (*Thunbergia laurifolia* Linn.) leaves aqueous extracts in rats. *Thai J Phytopharm* 2003; 10(2): 23-36.
22. Prozialeck WC, Edwards JR, Lamar PC, *et al.* Expression of kidney injury molecule-1 (Kim-1) in relation to necrosis and apoptosis during the early stages of Cd-induced proximal tubule injury. *Toxicol Appl Pharm* 2009; 238: 306-14.
23. Lauhachinda B, Heuseugcharern A. Clinical chemistry laboratory manual. 3rd ed. Chiang Mai: Nopburi Printing Company, 1998: 173-82.
24. Chaiyasing K. Effect of *Thunbergia laurifolia* Lindl. leaf extract on methomyl-induced cholinesterase inhibition. M.S.Thesis, Chiang Mai University, 2005.
25. Aughey E, Fell GS, Scott R, *et al.* Histopathology of early effects of oral cadmium in rat kidney. *Environ Health Persp* 1984; 54: 153-61.
26. Bogiswarity S, Jegathambigai R, Marimuthu K. Effect of acute exposure of cadmium chloride in the morphology of the liver and kidney of mice. *ICERT* 2008: 1036-42.
27. Kanchanapoom T, Kasai R, Yamasaki K. Iridoid glucosides from *Thunbergia laurifolia*. *Phytochemistry* 2002; 60: 769-71.

การดื่มน้ำสกัดใบรางจืดช่วยป้องกันการเกิดพิษของแคดเมียมต่อไตหนูขาว

พลอยไพลิน ฉัตตะวิริยะ¹, ญัญฐิตา หมอกเมฆ¹, นิรัชร์ เลิศประเสริฐสุข² และ วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์^{1*}

¹ ภาควิชานิติเวชศาสตร์, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, จังหวัดเชียงใหม่, ประเทศไทย

² ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, จังหวัดเชียงใหม่, ประเทศไทย

บทคัดย่อ

รางจืด หรือชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Thunbergia laurifolia* Lindl. เป็นสมุนไพรไทยที่มีสรรพคุณในการถอนพิษต่างๆ ปัจจุบันพบว่าสารตกค้างแคดเมียมในสิ่งแวดล้อมเป็นปัญหาสำคัญของประเทศ โดยพบมากบริเวณอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณนี้เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงต่อการได้รับแคดเมียมแบบเรื้อรังอันอาจก่อให้เกิดความผิดปกติต่อไตและกระดูกได้ ดังนั้นเพื่อศึกษาว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถป้องกันการเกิดพิษของแคดเมียมต่อไตได้หรือไม่ งานวิจัยนี้ได้ใช้หนูขาวเพศผู้ 12 ตัว แบ่งเป็นสองกลุ่ม ๆ ละ 6 ตัว โดยกลุ่มแรกเป็นกลุ่มควบคุมให้น้ำกลั่นเป็นน้ำดื่ม 20 วันก่อนการให้สารละลายแคดเมียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังเป็นเวลา 20 วัน กลุ่มที่สองให้สารสกัดใบรางจืด 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในน้ำดื่มก่อนการให้สารละลายแคดเมียมคลอไรด์ 20 วัน และให้ต่อเนื่องไปพร้อมกับการได้รับสารละลายแคดเมียมคลอไรด์ เช่นเดียวกับหนูกลุ่มที่หนึ่ง ผลการศึกษาพบว่าหนูในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบรางจืดมีน้ำหนักตัวสูงกว่าหนูกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลายแคดเมียมคลอไรด์เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อย่างไรก็ตามแม้ว่าสารสกัดใบรางจืดไม่สามารถลดปริมาณแคดเมียมที่สะสมในเลือดและปัสสาวะของหนูขาวที่ได้รับแคดเมียมได้ แต่สามารถช่วยป้องกันความผิดปกติที่ตรวจพบทางจุลพยาธิวิทยาที่ไตของหนูขาวได้ ผลการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบรางจืดสามารถป้องกันการเกิดพิษของแคดเมียมต่อไตหนูขาวได้ และยังคงลดพิษที่ระบบอื่นๆของร่างกาย ผลการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นประโยชน์สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ลดความเป็นพิษของแคดเมียมในกลุ่มประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีความเสี่ยงจากการได้รับแคดเมียมปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่ม

คำสำคัญ: แคดเมียม, รางจืด, พิษต่อไต, หนูขาว

*Corresponding author: รศ. ดร. วีระวรรณ เรืองยุทธิการณ์

สาขาวิชาพยาธิวิทยา ภาควิชานิติเวชศาสตร์

คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

Email: werawan52@gmail.com

Drinking *Thunbergia laurifolia* Lindl. Leaf Extract Helps Prevent Renal Toxicity Induced by Cadmium in Rats

Chattaviriya P¹, Morkmek N¹, Lertprasertsuke N², Ruangyuttikarn W^{1*}

¹Division of Toxicology, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand.

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

ABSTRACT

Thunbergia laurifolia Lindl. (TL) or “Rang Jerd” is a Thai herbal medicine used as an antidote for several poisonous agents. Cadmium (Cd) is an environmental pollutant in Mae Sot district, Tak province, Thailand. Chronic exposure to Cd causes renal and bone dysfunction in exposed human populations. In order to investigate whether TL leaf extract could prevent Cd induced renal toxicity, two groups of male Wistar rats, six rats each were injected with cadmium chloride solution (CdCl₂) at the concentration of 1.0 mg/kg BW for 20 days. Group 1 was serving as control and fed distilled water for 20 days before Cd administration while group 2 was administered TL leaf extract at 0.1 mg/ml in drinking water for 20 days before and during injection of CdCl₂ at the same concentration as in group 1. The body weight of rats pretreated with TL leaf extract before Cd exposure in group 2 was significantly ($p < 0.05$) greater than that of rats given with Cd alone. However, TL leaf extract did not reduce the levels of Cd in blood and urine of the Cd exposed rats. The rats in group 2 did not show histopathological changes in the kidney that were observed in the control group which given Cd alone. Therefore, this study demonstrated that TL leaf extract can protect against Cd induced structural damage in rat kidney and also reduce other systemic toxicity. TL leaf extract may be useful for reducing Cd toxicity in human populations exposed to Cd in food and drinking water.

Keywords: cadmium, *Thunbergia laurifolia* Lindl., renal toxicity, rats

*Corresponding author: Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn,
Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine,
Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
Email: werawan52@gmail.com

INTRODUCTION

Thunbergia laurifolia Lindl. (TL) is a herbal medicine used as an antidote for several poisonous agents in Thai traditional medicine. The Thai name for this plant is “Rang Jerd” and its English name is “Babbler’s Bill”.¹ It is a shrub with small oblong or ovate leaves and bluish-purple flowers. It can be divided into three types designated by flower color: white, yellow, or purple. Purple varieties are believed to possess compounds that deliver health benefits particularly from materials of the stem, root and leaves.² It is commonly consumed as herbal tea. Various parts of the plant have been used for various medicine purposes e.g. aqueous extracts of fresh leaves, dried leaves, dried root and bark were used as antidote for insecticide³⁻⁵, ethyl alcohol, arsenic and strychnine poisoning.⁶ The dried root was also used as an anti-inflammatory⁷ and antipyretic agent.⁸ The aqueous extract from leaves is reported to be harmless to rats with no behavioral effects.⁹ Moreover, the crude extract is reported to have no cytotoxicity and high antioxidant activity.¹⁰

Cadmium (Cd) is a naturally occurring minor element, one of the metallic components in the earth’s crust and oceans, and present everywhere in our environment. It is an important industrial and environmental pollutant that can affect multiple organ systems and has a biological half-life of about 30 years in humans.¹¹ Human Cd exposure is mostly from food and water as well as cigarette smoke and contaminated air. Human and animal studies have shown that pulmonary absorption is higher than gastrointestinal absorption; approximately 50% of inhaled Cd is absorbed in the blood circulation, but gastrointestinal absorption of Cd is reported to be only 3-8% of the ingested load.¹² The absorption of Cd in humans depends on physiological status (age, dietary intake, iron storage, gender and smoking habits). High ingestion of Cd causes acute gastroenteritis.¹³ Long-term occupational exposure to Cd causes severe chronic effects,

predominantly in the lung and kidney. Cd mainly accumulates in the kidney, where it causes generalized dysfunction of the proximal tubules, characterized by polyuria and increase in urinary excretion of low-molecular-weight proteins, electrolytes, amino acids and glucose¹⁴ as well as histopathological changes including proximal tubular cell degeneration, interstitial inflammation and fibrosis, glomerular swelling, atrophic and pyknotic nuclei, vacuoles, apoptosis and necrosis.^{15,16}

Recently in Thailand, environmental pollution of Cd has been discovered in Mae Sot district, Tak province.¹⁷ Cd, presumably released from zinc mining in Mae Sot area, has contaminated water and soil and has entered the human food chain by uptake into rice grown in the district. A large-scale health impact survey in the district¹⁸ reported that residents had high level of Cd exposure with 9.2% of subjects having urinary Cd between 5-10 µg/gCr and 2.5% with urinary Cd >10 µg/gCr, compared to the maximum recommended level of the urinary Cd of 2 µg/gCr.¹⁹

Other studies of the health of Mae Sot residents have found high levels of renal dysfunction, particularly in farmers who ate their own, locally grown rice, each day²⁰ and accelerated bone resorption due to impaired calcium reabsorption in the renal tubules.²¹

However, there are no specific treatments for minimizing Cd toxicity in this exposed population. There is also no report of the use of TL leaf extract to treat Cd induced renal toxicity. Therefore, our study tested the hypothesis that TL leaf extract supplied in drinking water to rats, may reduce renal toxicity induced by high exposure to Cd.

MATERIALS AND METHODS

Obtaining of Thunbergia laurifolia Lindl. leaves

Fresh, mature leaves of *Thunbergia laurifolia* Lindl. were collected from Ob Khan National Park, Hangdong district, Chiang Mai province, Thailand and identified at the Queen Sirikit Botanic Garden, Mae Rim district, Chiang Mai province.²² The leaves were washed with tap water, dried and ground to powder, then stored in amber glass bottles at room temperature before extraction.

Extraction of TL leaves

T. laurifolia leaf powder was soaked in boiled distilled water (1:10 w/v) for 1 hr then filtered through three layers of gauze followed by Whatman No.4 filter paper. The filtrate was lyophilized and stored in a desiccator at 4°C. The extract was redissolved in distilled water to desired concentrations just prior to use.

TL leaf extract dosage preparation

The dosage of the TL leaf extract for rats was calculated to approximate a human dosage from drinking 3 cups of TL tea per day. This was estimated as 0.1 mg/ml of TL leaf extract supplied in distilled water 120 ml, which was the rat daily drinking water ration.

Animal treatment

Twelve adult male Wistar rats (200-250 g) were used in this study. The study protocol was approved by the Animal Ethics Committee, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. The rats were acclimatized under controlled experimental conditions of room temperature of 25±2°C with 12 hr light and 12 hr dark cycle and humidity of 50±10% for one week before experiments. They had free access to drinking water and standard rodent pellets throughout the experiment.

The rats were divided into two groups of six. The positive control group (group 1)

were provided distilled water without TL leaf extract for 20 days, then treated with daily subcutaneously injection of CdCl₂ solution (1.0 mg/kg) in isotonic saline for 20 more days. The treatment group (group 2) was provided TL leaf extract (0.1mg/ml) in drinking water for 20 days prior to the commencement of the CdCl₂ treatment (1.0 mg/kg) for 20 more days and the TL leaf extract supply in drinking water was continued throughout the experiment.

The body weight and water consumption of each rat was measured daily. Twenty four hour urine samples were collected using metabolic cages from each rat on three occasions; Day 0 or 1; Day 20; and Day 40. At the end of experiment (Day 40), all rats were anesthetized with sodium phenobarbital and blood was taken via cardiac puncture. The kidneys were removed, washed with normal saline, weighed and kept in neutral-buffered formalin solution for histopathological examination.

Quantification of urinary creatinine and cadmium

The creatinine level in rat urine was measured using Jaffe reaction²³ with spectrophotometer at 500 nm. Urinary Cd concentrations were measured by graphite furnace atomic absorption spectrometer (GFAAS) with Zeeman-GFAAS background correction (Varian SpectraA800Z). The Cd standard curve was established using standard Cd solution. The standard solution was mixed with a modifier and diluted to 1, 3 and 5 µg/l. The modifier was used as a blank. The urine sample was mixed with modifier before analysis and put into an autosampler under the previous described of the GFAAS standardized condition.²⁴

Quantification of blood cadmium

Blood Cd concentrations were also measured by GFAAS with Zeeman-GFAAS background correction but the sample

preparation was different from the process prepared for urinary Cd measurement. Five hundred microliters of whole blood was mixed with 1 ml of 5% nitric acid in the micro-test tube, then vigorously mixed for 30 seconds and held at room temperature for 1 hr. The micro-test tube was centrifuged at 12,000 rpm for 5 min at 20°C, before removing the supernatant to a new micro-test tube and centrifuged again at 12,000 rpm for 5 min. The supernatant was injected onto the GFAAS with the developed temperature program.²¹

Histopathological examination

The kidneys were perfused, taken out and washed with normal saline for removing excessive blood. They were dissected and fixed in 10% neutral-buffered formalin. Representative sections were selected for histopathological processing. The tissues were embedded in paraffin blocks and cut as five micron sections, stained with hematoxylin-eosin and examined under light microscope.²⁵

Statistical analysis

Data were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM) and compared between groups using Student's t-test. Differences at $p < 0.05$ were considered significant.

RESULTS

Rat body weight

Body weight of Cd treated rats in both groups of the experiments, without (group 1) and with (group 2) pretreatment with TL leaf extract in drinking water as TL tea, were significantly different ($p < 0.05$) from day 21 to day 40 as shown in Figure 1. The results showed that pretreatment with TL leaf extract in drinking water can help reduce weight loss due to cadmium toxicity.

Water consumption

During days 1-20, both groups consumed similar volumes of water per day. After Cd treatment commenced on day 20, both group consumed less water. However, the group provided with TL leaf extract consumed significantly more water than rats without the TL leaf extract ($p < 0.05$, Fig. 2).

Urinary and blood cadmium concentrations

Both groups of rats had extremely high urine Cd levels so the TL leaf extract had no effect on urinary Cd concentration (Table 1).

Blood cadmium concentration

The similar blood Cd concentrations in both groups of rats after 20 days exposure to Cd, indicated that *T. laurifolia* Lindl. leaf extract did not affect the concentrations of Cd in blood (Table 2).

Histopathological examination

Light microscopic examination of histopathology of the rat kidneys indicated that *T. laurifolia* Lindl. leaf extract could protect kidney from damage by Cd. The kidney cortex of rats exposed to Cd without TL leaf extract (Fig. 3B) showed abnormalities including glomeruli widening, cloudy swelling of tubules, lumen widening, irregular shaped epithelial cells, blurred structure of tubular epithelium, abnormal defined nuclei and pale cytoplasm. In contrast, the histology of glomeruli in rat kidneys exposed to Cd and TL leaf extract (Fig. 3C) was no different from glomeruli of the normal rats (no any treatment) in Figure 3A (the result shown in Figure 3A was from our previous study with normal rat without any treatment). These plates clearly demonstrate that the kidney tubule and glomeruli structure was preserved in rats exposed to both Cd and TL leaf extract.

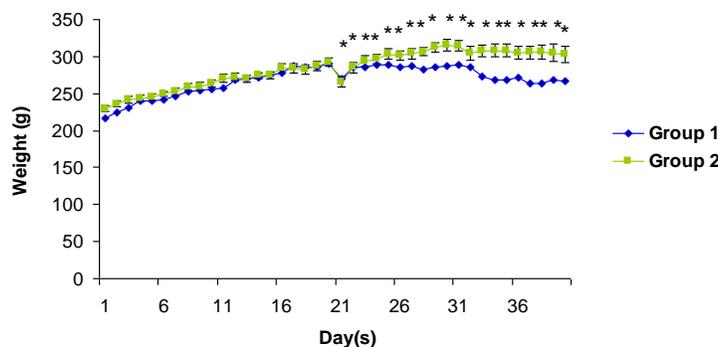


Figure 1. Rats exposed to Cd after day 20 (group 1) suffered weight loss but the loss was much more limited in rats which consumed drinking water containing TL leaf extract (group 2). All values are mean \pm SEM of 6 rats. An * indicate statistically significant differences among the two groups ($p < 0.05$).

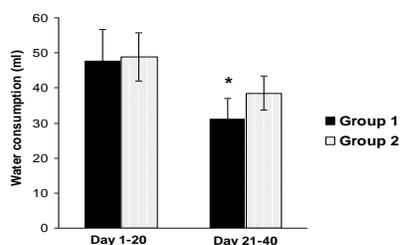


Figure 2. Water consumption of male Wistar rats in Cd treated (group 1) and pretreatment with TL leaf extract in drinking water (group 2) before (Day 1-20) and after Cd treatment (Day 21-40).

DISCUSSION

Teeyakasem et al.²⁰ reported high urinary Cd concentrations in Mae Sot residents and found they were at high risk of renal dysfunction due to chronic exposure to Cd in food and water. Our results showed rats exposed to Cd by daily subcutaneous injection for 20 days had high levels of Cd in the blood, but exposure to TL extract before and during the Cd exposure did not affect the blood or urinary Cd concentrations. Therefore, the potential use of TL tea as a medicinal herb to reduce the affect of Cd exposure in people like those living at Mae Sot district appears limited.

However, the evidence from histopathology was that TL tea may protect kidney tissue from damage caused by Cd exposure. These results are similar to previous investigations on rats dosed with Cd by oral ingestion in water for 6 weeks at 50 mg/l, which reported proximal tubular damage and glomerular swelling.¹⁵ Prozialeck et al.¹⁴ also observed proximal tubular epithelial cell with irregular shape and gaps between the cells in rats administration of Cd 0.6 mg/kg for 6 weeks. The concentrations of CdCl₂ and TL leaf extract used in this study works well to see the protective of the TL tea from Cd toxicity.

The protective effect of the TL leaf extract on kidney tissues may be due to antioxidant properties of the phenolic compounds or other anti-oxidants or anti-inflammatory constituents in the leaves.^{10,26,27}

We conclude that TL leaf extract can prevent or reduce Cd induced structural damage in the kidney of rats. The major chemical constituents of the TL leaf extract will be isolated and identified then tested for Cd protective properties in rats to elucidate whether they can also help prevent or reduce toxicity from high Cd exposure. The results will be very applicable advantage to unavoidable of Cd exposure population in the polluted area such as Mae Sot district.

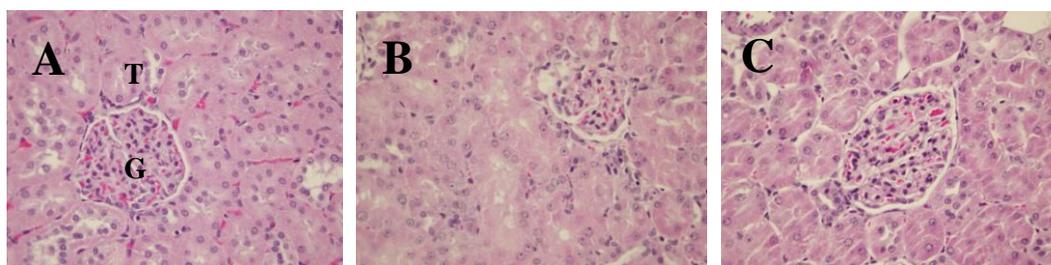


Figure 3. Histopathology (H&E, x400) of tubule (T) and glomeruli (G) in the kidney cortex of a normal, untreated rat (A); a rat exposed to cadmium chloride at 1.0 mg/kg for 20 days (B); and a rat exposed to both *T. laurifolia* leaf extract and CdCl₂ (C).

Table 1. Urinary Cd concentration in rats exposed to Cd with (group 2) and without (group 1) exposure to *T. laurifolia* leaf extract.

Rats	U-Cd		
	Day 0 (µg/gCr)	Day 20 (µg/gCr)	Day 40 (µg/gCr)
Group 1	30.9 ± 15.5	23.2 ± 6.4	79,491.2 ± 24,545.8
Group 2	34.9 ± 11.6	20.4 ± 6.9	71,478.6 ± 23,355.1

Table 2. Comparison of blood concentrations of rats treated with Cd only (group 1) and the concentrations of rats pretreatment with *T. laurifolia* Lindl. leaf extract in drinking water (group 2)

Rats	Blood Cd (µg/l)
Group 1 (CdCl ₂ treatment only)	5,399.9 ± 618.8
Group 2 (pretreatment with TL)	5,089.1 ± 533.6

ACKNOWLEDGEMENT

The authors thank to Dr. Peter R. Hawkins for proofreading the manuscript and for his valuable comments. This study was supported by the Faculty of Medicine Endowment Fund, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

REFERENCES

- Thongsaard W, Marsden CA, Morris P, Prior M, Shah YB. Effect of *Thunbergia laurifolia*, a Thai natural product used to treat drug addiction, on cerebral activity detected by functional magnetic resonance imaging in the rat. *Psychopharmacology* 2005; 180: 752-60.
- Oonsivilai R, Cheng C, Bomser J, Ferruzzi M, Ningsanond S. Phytochemical profiling and phaseII enzyme-inducing properties of *Thunbergia laurifolia* Lindl. (RC) extracts. *J Ethnopharmacol* 2007; 114: 300-6.
- Tejasen P, Thongthapp C. The study of the insecticide antitoxicity of *Thunbergia laurifolia* Linn. *Chiang Mai Bulletin*. 1980; 19: 105-14.

4. Ussanawarong S, Thesiri T. Effect of *Thunbergia Laurifolia* Linn. on detoxication of parathion in rat. *Khon Kaen Univ Res J*. 2000; 6: 3-13.
5. Ussanawarong S, Thesiri T, Mahakunakorn T, Parasupattana S. Effect of *Thunbergia Laurifolia* Linn. on detoxication of paraquat. *Khon Kaen Univ Res J* 2001; 5: 11-7.
6. Sunyapridakul L. Pharmacologic neuromuscular blocking effect of Rang Jert (*Thunbergia laurifolia* Linn.). Proceedings of the 4th Asian Symposium on edical Plants Species, Bangkok, Thailand, 1980: p 132.
7. Charumane S, Vejabhikul S, Taesotikul T , Netsingha W, Sirisaad P, Leelapornpisit P. Development of Topical Anti-inflammatory Preparations from *Thunbergia laurifolia* Linn. Phase 1 Research Report. Faculty of Pharmacy. Chiangmai University Chiangmai Thailand, 1998.
8. Chamreondararassame B. The effect of Rang Jert leaves on the body temperature. Thesis of Chiang Mai University, 1978.
9. Wisitpongpan W, Ruangyuttikarn W, Rujjanavet C. Toxicity tests of Rang Jert (*Thunbergia laurifolia* Linn.) leaves aqueous extracts in rats. *Thai J Phytopharm* 2003; 10(2): 23-36.
10. Oonsivilai R, Ferruzzi MG, Ningsanond S. Antioxidant activity and cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) extracts. *As J Food Ag-Ind* 2008; 1(02): 116-28.
11. Haouem S, Hmad N, Najjar MF, Hani AE, Sakly R. Accumulation of cadmium and its effects on liver and kidney functions in rats given diet containing cadmium-polluted radish bulb. *Exp Toxicol Pathol* 2007; 59: 77-80.
12. Chowdhury BA, Friel JK, Chandra RK. Cadmium-Induced Immunopathology Is Prevented by Zinc Administration in Mice. *J Nutr* 1987; 117: 1788-94.
13. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), U.S. Public Health Service. Toxicological Profile for Cadmium. Atlanta, Geneva, 1998.
14. Prozialeck WC, Edwards JR, Vaidya VS, Bonventre JV. Preclinical evaluation of novel urinary biomarkers of cadmium nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharm* 2009; 238: 301-5.
15. Aughey E, Fell GS, Scott R, Black M. Histopathology of early effects of oral cadmium in the rat kidney. *Environ Health Persp* 1984; 54: 153-61.
16. Jihen EH, Imed M, Fatima H, Abdelhamid K. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation. *Food Chem Toxicol* 2008; 46: 3522-7.
17. Simmon RW, Pongsakul P, Saiyasitpanich D, Klinphoklap S. Elevated levels of cadmium and zinc in paddy soils and elevated levels of cadmium in rice grain downstream of a zinc mineralized area in Thailand: implications for public health. *Environ Geochem Hlth* 2005; 27: 501-11.
18. Swaddiwudhipong W, Limpatanachote P, Mahasakpan P, Krinratun S, Padungtod C. Cadmium-exposed population in Mae Sot District, Tak Province: 1. prevalence of high urinary cadmium levels in the adults. *J Med Assoc Thai* 2007; 90(1): 143-8.

19. WHO, "Environmental health criteria 134: Cadmium", World health Organization, Geneva, 1992.
20. Teeyakasem W, Nishijo M, Honda R, Satarug S, Swaddiwudhipong W, Ruangyuttikarn W. Monitoring of cadmium toxicity in a Thai population with high-level environmental exposure. *Toxicol Lett* 2007; 169: 185-95.
21. Nambunmee K, Honda R, Nishijo M, Swaddiwudhipong W, Nakagawa H, Ruangyuttikarn W. Bone resorption acceleration and calcium reabsorption impairment in a Thai population with high cadmium exposure. *Toxicol Mech Method* 2010; 20(1): 7-13.
22. Chaiyasing K. Effect of *Thunbergia laurifolia* Lindl. Leaf extract on methomyl-induced cholinesterase inhibition. Thesis of Chiang Mai University, 2005.
23. Lauhachinda B, Heuseugcharern A. Chemistry, Clinical-Laboratory manuals. Chiang Mai, Tanabun Printing, 2004: 197-207.
24. Thongnoon S. Lymphocyte micronucleus induction by lead, cadmium and particulate matters in Chiang Mai ambient air. Thesis of Chiang Mai University, 2004.
25. Singhatong S. Toxicity and oxidative stress after subchronic low carbon monoxide exposure in rats. Thesis of Chiang Mai University, 2004.
26. Srida C, Hankete J, Khunkitti W, Aromdee C, Pese M. Antioxidant activity of *Thunbergia laurifolia* ethanolic extract. *Thai J. Pharm. Sci.* 2002; 26.
27. Ammon HP, Wahl MA. Pharmacology of *Curcuma longa*. *Planta Med* 1991; 57(1): 1-7.

ปัจจัยที่ทำให้เกิดปัญหาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้า

เพ็ญญา กาญจนมั่งศักดิ์¹, เวณิกา เบ็ญจพงษ์^{*}, นริศรา ม่วงศรีจันทร์¹ และวีรยา การพานิช¹

¹ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม

บทคัดย่อ

ผักคะน้าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย และมีปริมาณการบริโภคในประเทศสูง แต่จากรายงานการวิจัยต่างๆ พบว่าผักคะน้าเป็นผักชนิดที่มีปัญหาการตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมาก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในการเพาะปลูกผักคะน้า และทราบปัจจัยที่ทำให้เกิดปัญหาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้า ดำเนินการวิจัยโดยออกภาคสนามศึกษาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก โดยใช้แบบสอบถามข้อมูลเกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อทราบสถานการณ์ที่ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักคะน้าที่เป็นปัจจุบัน และจัดประชุมระดมสมองกับกลุ่มเกษตรกร และนักวิชาการจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ เพื่อทราบสาเหตุการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้า ผลจากการสัมภาษณ์พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่ได้รับความรู้ด้านการใช้สารเคมีทางการเกษตรจากส่วนราชการ และร้านจำหน่ายสารเคมีในพื้นที่ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่เกษตรกรกลุ่มตัวอย่างใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามี 34 ชนิด โดยเป็นสารป้องกันกำจัดแมลง 19 ชนิด สารป้องกันกำจัดโรคพืช 9 ชนิด และสารป้องกันกำจัดวัชพืช 6 ชนิด ผลการศึกษาพบว่าสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้าที่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการเฝ้าระวังเป็นพิเศษ ได้แก่ Dicrotophos, Methomyl และ Metalaxyl ในขณะที่สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น ได้แก่ Abamectin, Mancozeb, Propineb, Alachlor และ Paraquat ซึ่งเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดที่เกษตรกรนิยมใช้ ควรมีการป้องกันไม่ให้เกิดความเสี่ยงโดยการอบรมให้ความรู้เกษตรกรถึงวิธีการใช้ที่ถูกต้อง การเว้นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม รวมถึงวิธีการจัดเก็บ และการทำลายภาชนะบรรจุสารเคมีเหล่านี้ที่ถูกต้อง ปัจจัยที่ทำให้เกษตรกรใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่เหมาะสมในการปลูกผักคะน้าได้แก่ ลักษณะจำเพาะของผักซึ่งเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ปลูกได้ตลอดปี และมีศัตรูพืชมาก เกษตรกรขาดการจัดการแหล่งน้ำและพื้นที่เพาะปลูก เกษตรกรขาดความรู้ในการใช้สารเคมีทางการเกษตรอย่างเหมาะสม ปัญหาทางการตลาด และราคาผลผลิต

คำสำคัญ: สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช, ผักคะน้า, ปัจจัย

*Corresponding author:

ผศ.ดร.เวณิกา เบ็ญจพงษ์

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม 73170

Email: nuwbe@mahidol.ac.th

Factors on Improper Pesticide Application in Chinese Kale Cultivation

Kanjanamangsak P¹, Benjapong W^{1*}, Muangsrichan N¹ and Karnpanit W¹

¹Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand

ABSTRACT

Chinese kale (*Brassica Oleracea*) is an important industrial crop of Thailand that is mostly consumed by Thai people. However, there are many studies found the problem of pesticide residues in Chinese kale. This study aimed to investigate the factors of improper application of pesticides in Chinese kale cultivation. The application of pesticides were gathered by conducting the interviews and questionnaires with the farmers. Brainstorming during researchers, farmers and technical specialist of the provincial agricultural extension offices in study areas. Most farmers receive the knowledge of pesticide application from both district agricultural extension office and pesticides store. There were 34 types of pesticides which the farmers used in Chinese kale cultivation including 19 types of insecticides, 9 types of fungicides, and 6 types of herbicides. The result revealed that types of pesticides that the related government agencies should monitor strictly including Dicrotophos, Methomyl and Metalaxyl. While, other pesticides such as Abamectin, Mancozeb, Propineb, Alachlor and Paraquat which are popular using by the farmers, should be protect of risk occurrence by dissemination of accuracy and appropriate knowledge about good practice of pesticide application, pre harvest interval, pesticides storage and elimination of pesticide container. Factors which caused improper pesticide application in Chinese kale cultivation including specific characters of vegetable which are short term cultivation, planted throughout the year and there are various types of pest. Most of farmers did not have good management of water resource and cultivated areas including lacking of good agricultural knowledge. In addition, problem of marketing and price of product were also the important factors.

Keywords: Pesticides, Chinese kale, Factors

*Corresponding author:

Asst. Prof. Dr. Wenika Benjapong
Institute of Nutrition, Mahidol University,
Salaya, Nakhon Pathom 73170, Thailand
Email: nuwbe@mahidol.ac.th

บทนำ

ผักคะน้าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ทั้งนี้จากข้อมูลของศูนย์สารสนเทศการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2552 รายงานเนื้อหาที่เพาะปลูกผักคะน้าทั้งประเทศเป็นพื้นที่ 92,541 ไร่ โดยเป็นเนื้อที่เก็บเกี่ยว 88,538 ไร่ ได้ผลผลิตจำนวน 1,540 กิโลกรัม/ไร่ คิดเป็นมูลค่าผลผลิต 1,625 ล้านบาท¹ และมีปริมาณการบริโภคของประชาชนในประเทศไทยสูง จากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย ที่จัดทำโดยสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ ปี พ.ศ. 2549 พบว่าปริมาณการบริโภคผักคะน้าเฉลี่ยในประชากรอายุ 3 ปีขึ้นไป เท่ากับ 9.13 กรัม/คน/วัน² (สูงเป็นอันดับ 6 ของข้อมูลการบริโภคผักทั้งหมด) อย่างไรก็ตามจากรายงานจากการสำรวจของหน่วยงาน และงานวิจัยต่างๆ พบว่าผักคะน้าเป็นผักชนิดที่มีปัญหาการตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชมากเมื่อเปรียบเทียบกับผักใบชนิดอื่นๆ

จากงานวิจัยของ เอ็จ และคณะ ในปี พ.ศ.2538 ทำการเก็บตัวอย่างผัก และดินเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างของสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่กองป้องกัน และกำจัดศัตรูพืช กรมส่งเสริมการเกษตร ผลการวิเคราะห์พบว่า พบมีการตกค้างเมวินฟอสตกค้างในผักคะน้า 0.0219 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (ไม่เกินค่าปลอดภัยของสารเมวินฟอสที่ทาง FAO/WHO กำหนดไว้คือ 1.0 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)³ กนกพรและคณะ ได้รายงานผลการสำรวจผักสด ช่วงปี พ.ศ.2543 ถึง 2546 รวม 359 ตัวอย่าง จำแนกเป็นผักทั่วไป 193 ตัวอย่าง และผักมีฉลาก 166 ตัวอย่าง โดยวิธี Gas Chromatography และ Liquid Chromatography พบการตกค้างในผักทั่วไปร้อยละ 63.7 และผักมีฉลากร้อยละ 51.8 โดยชนิดสารที่มีอัตราตรวจพบสูง ได้แก่ Cypermethrin, Endosulfan, Methamidophos และ Methomyl ผักคะน้าทั่วไป พบ

สารตกค้างร้อยละ 89.7 สำหรับผักคะน้าที่มีฉลาก พบสารตกค้างร้อยละ 66⁴ จากการศึกษาหาสารตกค้าง Methamidophos และ Methyl Parathion ในผักที่นิยมบริโภค 5 ชนิดคือ ผักบุ้ง ผักคะน้า ผักกะหล่ำปลี ถั่วฝักยาว และผักกาดขาว โดยใช้วิธี Gas Liquid Chromatography โดยเก็บตัวอย่างผักจากตลาดบางลำพู จังหวัดขอนแก่น ชนิดละ 6 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 30 ตัวอย่าง พบมีสารตกค้างทั้งหมดร้อยละ 33.33 โดยผักคะน้าพบสารตกค้าง Methamidophos ร้อยละ 50⁵ ส่วนตัวอย่างผักคะน้าที่เก็บจากห้างแมคโคร จังหวัดขอนแก่น พบสารตกค้าง Methamidophos ร้อยละ 16.67⁶ จากโครงการวิจัยสถานการณ์ความปลอดภัยด้านผักและผลไม้กรณีตลาดนัดและรถเร่ ภาคเหนือตอนบน: ตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ด้วยเทคนิค Gas Chromatography ในผักคะน้า จำนวน 6 ตัวอย่าง ตรวจพบ Chlorpyrifos ทุกตัวอย่าง ในปริมาณ 0.02 – 0.88 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และตรวจพบ Chlorpyrifos ร่วมกับ Diazinon 2 ตัวอย่าง (ปริมาณ 0.01 และ 0.06 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ซึ่งเกิน MRLs ของ Codex ที่กำหนด 0.05 มิลลิกรัม/กิโลกรัม 1 ตัวอย่าง และพบ Chlorpyrifos ร่วมกับ Azinphos methyl 1 ตัวอย่าง (ปริมาณ 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม)⁷

จากการศึกษาสถานการณ์สารเคมีป้องกันกำจัดแมลงตกค้างในผักชนิดต่างๆ ในเขตกรุงเทพมหานครข้อมูลจากหน่วยตรวจสอบเคลื่อนที่เพื่อความปลอดภัยด้านอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ปี ตุลาคม 2547 – พฤษภาคม 2548 โดยใช้ชุดทดสอบกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่าผักคะน้ามีสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงตกค้างเกินมาตรฐานร้อยละ 14.4 เมื่อพิจารณาการปนเปื้อนของสารเคมีป้องกันกำจัดแมลงในตัวอย่างอาหาร โดยใช้ชุดทดสอบกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบตัวอย่างผักคะน้าตกมาตรฐานมากที่สุด (ร้อยละ 10.76)⁸ จาก

รายงานการวิจัยสถานการณ์ความปลอดภัยอาหารด้านผักและผลไม้: กรณีตลาดนัดและรถเร่ ทำการวิเคราะห์โดยใช้ชุดทดสอบGT พบว่าผักที่มีการตรวจพบสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างเกินมาตรฐานมากที่สุดคือ ผักคะน้า โดยพบร้อยละ 26.15⁹

ในงานวิจัยนี้ทำการศึกษาพฤติกรรมการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรผู้ปลูกคะน้า พร้อมจัดประชุมระดมสมองในพื้นที่ศึกษาเพื่อทราบข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในการเพาะปลูกผักคะน้า และทราบปัจจัยที่ทำให้เกิดปัญหาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้าจากเกษตรกรและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องในพื้นที่การผลิต

วิธีดำเนินงานวิจัย

1. สืบค้นข้อมูลโดยการทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับสถานการณ์การตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักคะน้า จากงานวิจัยที่เผยแพร่ และสืบค้นข้อมูลจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง
2. กำหนดพื้นที่ดำเนินการวิจัย โดยใช้วิธีการสุ่มเลือกพื้นที่แบบมีเงื่อนไข คือ เลือกพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกสูง 3 อันดับแรกของประเทศ ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม และสุพรรณบุรี และพื้นที่อื่นที่มีการเพาะปลูกผักคะน้า ได้แก่ จังหวัดราชบุรี
3. ออกภาคสนามศึกษาการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในแปลงเพาะปลูก ทำการสัมภาษณ์เกษตรกรจำนวน 20 ราย โดยใช้แบบสอบถามข้อมูลเกี่ยวกับการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพื่อทราบสถานการณ์ที่ก่อให้เกิดปัญหาการตกค้างของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักคะน้าที่เป็นปัจจุบัน
4. จัดการประชุมระดมสมอง กับกลุ่มเกษตรกร และนักวิชาการจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในพื้นที่ เพื่อทราบสาเหตุการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสมในการเพาะปลูกผักคะน้า

ผลการวิจัยและอภิปราย

1.1 ผลสำรวจและสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้า

จากการสังเกตและสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้าจำนวน 20 ราย ในพื้นที่ที่มีการเพาะปลูกสูง ได้แก่ จังหวัดกาญจนบุรี นครปฐม สุพรรณบุรี และราชบุรี

การดูแลรักษาต้นคะน้า

เกษตรกรตากดินประมาณ 7 วัน บำรุงดินก่อนปลูก โดยการหว่านปุ๋ยคอกแล้วไถกลบหรือใช้ปุ๋ยเคมีรองกันหลุม เกษตรกรนิยมหว่านปุ๋ยเคมีเพื่อบำรุงต้นคะน้าเมื่อคะน้าอายุประมาณ 15 วัน และหว่านปุ๋ยเคมีซ้ำ 1-2 ครั้ง แต่แต่ละครั้งห่างกันประมาณ 10 วัน เมื่อต้นคะน้าอายุประมาณ 20 วัน หากมีความหนาแน่นของต้นมากเกินไป เกษตรกรจะถอนแยกกล้าออกให้ปริมาณต้นคะน้ามีความเหมาะสมต่อขนาดของพื้นที่ที่ใช้เพาะปลูก ระยะเวลาที่ใช้ในการเพาะปลูกต่อ 1 รุ่น ประมาณ 45-50 วัน เกษตรกรได้รับความรู้ด้านการใช้สารเคมีทางการเกษตรจากส่วนราชการ และร้านจำหน่ายสารเคมีในพื้นที่ ศัตรูพืชสำคัญของผักคะน้า ได้แก่ หนอนใยผัก หนอนหน้างเหนียว ตัวงหมัดกระโดด และโรคพืช เกษตรกรนิยมป้องกันและกำจัดศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ซื้อจากร้านจำหน่ายสารเคมีทางการเกษตร

การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช

สารป้องกันกำจัดแมลงที่เกษตรกรกลุ่มตัวอย่างใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามี 19 ชนิด โดยส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่ม Organophosphorus (4 ชนิด) และกลุ่มอื่นๆ ได้แก่ Carbamate, Neonicotinoid, Pyrethroid, Oxadiazine, Avermectin, Pyrazole, Phthalic acid diamide, Spinosyn, Bacterium และ Benzoylurea ดังแสดงในตารางที่ 1 สารป้องกันกำจัดแมลงชนิดที่มีร้อยละของเกษตรกรใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามากได้แก่

Abamectin (ร้อยละ 55) Dicrotophos (ร้อยละ 50) นอกจากนี้ยังพบว่าเกษตรกรร้อยละ 30 มีการใช้ Bacillus Thuringiensis ซึ่งเป็นสารชีวภัณฑ์ โดยจากผลการวิจัยพบสารป้องกันกำจัดแมลงจำนวน 4 ชนิดที่มีการใช้ในช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวผักคะน้า (คะน้าอายุ 45-50 วัน) ได้แก่ Methomyl, Dicrotophos Abamectin และ Dinotefuran เมื่อพิจารณาความเสี่ยงของโอกาสที่จะพบการตกค้างในผลผลิตและอันตรายต่อสุขภาพจากสารป้องกันกำจัดแมลงแต่ละชนิด จากความเป็นพิษของสาร จำนวนเกษตรกรที่ใช้สารเคมี ประกอบกับช่วงอายุพืชที่ใช้ นั้น พบว่า Dicrotophos ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษร้ายแรง ประกอบกับพบการใช้สารนี้ในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สารนี้สูงถึงร้อยละ 50 และ Methomyl ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษร้ายแรง ซึ่งถึงแม้จะพบร้อยละของเกษตรกรที่ใช้สารนี้น้อย (ร้อยละ 10) แต่เป็นวัตถุอันตรายที่กรมวิชาการเกษตรเฝ้าระวัง ประกอบกับพบการใช้สารนี้ในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สารนี้สูงถึงร้อยละ 50 ดังนั้น Dicrotophos และ Methomyl จึงจัดเป็นสารป้องกันกำจัดแมลงที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงได้

สำหรับ Abamectin และ Bacillus Thuringiensis นั้น ถึงแม้จะมีร้อยละของเกษตรกรที่ใช้สูง (ร้อยละ 55 และ 30 ตามลำดับ) แต่พบว่า Abamectin เป็นสารที่มีความเป็นพิษปานกลาง (เมื่อพิจารณาค่า LD₅₀) และไม่ได้อยู่ในรายการของการจัดระดับความเป็นพิษโดยองค์การอนามัยโลก และ Bacillus Thuringiensis เป็นชีวภัณฑ์ที่มีความเป็นพิษน้อย ประกอบกับไม่มีเกษตรกรใช้สาร 2 ชนิดนี้ในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยว จึงเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงของโอกาสที่จะพบการตกค้างในผลผลิตและอันตรายต่อสุขภาพในระดับต่ำ

จากการสัมภาษณ์ข้อมูลการใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชของเกษตรกร พบว่าเกษตรกรกลุ่มตัวอย่าง

ใช้สารป้องกันกำจัดโรคพืชจำนวน 9 ชนิด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม สารชีวภัณฑ์, Acylalamine, Inorganic, Cinnamic acid, Dicarboximide, Alkylenebis และ Antibiotic โดยสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกษตรกรใช้ส่วนมากถูกจัดระดับความเป็นพิษไว้ที่ U คือสารที่ไม่มีแนวโน้มจะแสดงพิษเฉียบพลันเมื่อใช้ปกติ สารป้องกันกำจัดโรคพืชชนิดที่มีร้อยละของเกษตรกรใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามาก ได้แก่ Metalaxyl (ร้อยละ 40) Mancozeb (ร้อยละ 30) และ Propineb (ร้อยละ 20) โดยสารป้องกันกำจัดโรคพืชทั้ง 3 ชนิดพบการใช้ในช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวผักคะน้า (ผักคะน้าอายุ 45-50 วัน) สำหรับ Carbendazim ถึงแม้จะมีเกษตรกรเพียงร้อยละ 15 ที่ใช้สารนี้ แต่พบการใช้สารนี้ในช่วงระยะเวลาเก็บเกี่ยวผักคะน้าเช่นกัน เมื่อพิจารณาความเสี่ยงของโอกาสที่จะพบการตกค้างในผลผลิตและอันตรายต่อสุขภาพจากสารป้องกันกำจัดโรคพืชแต่ละชนิด จากความเป็นพิษของสาร จำนวนเกษตรกรที่ใช้สารเคมี ประกอบกับช่วงอายุพืชที่ใช้ นั้น พบว่า Metalaxyl ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นพิษปานกลาง ประกอบกับพบการใช้สารนี้ในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยวในกลุ่มตัวอย่างที่ใช้สารนี้ร้อยละ 13 ดังนั้น Metalaxyl จึงจัดเป็นสารป้องกันกำจัดโรคพืชที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงได้

สำหรับ Mancozeb และ Propineb ซึ่งถึงแม้จะมีเกษตรกรที่ใช้สารทั้งสองนี้ร้อยละ 30 และ 20 ตามลำดับ และพบเกษตรกรตัวอย่างใช้สาร 2 ชนิดนี้ในช่วงระยะเวลาการเก็บเกี่ยว (ร้อยละ 17 และ 25 ตามลำดับ) แต่พบว่าสารทั้ง 2 ชนิด เป็นสารที่ไม่มีแนวโน้มจะแสดงพิษเฉียบพลันเมื่อใช้ปกติ จึงเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงของโอกาสที่จะพบการตกค้างในผลผลิตและอันตรายต่อสุขภาพในระดับต่ำ

ในการควบคุมวัชพืชเกษตรกรนิยมพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชขณะเตรียมแปลงก่อนเพาะปลูก และอาจฉีดพ่นซ้ำในระหว่างการปลูกผักคะน้า แต่

เกษตรกรตัวอย่างทุกรายไม่ฉีดพ่นหลังผักคะน้ามีอายุมากกว่า 20 วัน โดยสารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชที่เกษตรกรกลุ่มตัวอย่างใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามี 6 ชนิด ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Bipyridylum, Chloroacetamide, Aryloxyphenoxypropionate, Glycine Derivative, Oxadiazole และ Diphenyl Ether/Phenoxy-carboxylic Acid สารป้องกันกำจัดวัชพืชชนิดที่มีร้อยละของเกษตรกรใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้ามากได้แก่ Alachlor (ร้อยละ 40) Paraquat (ร้อยละ 30) และ quinzalofop-P-tetfuryl (ร้อยละ 25) ซึ่งถึงแม้สารเคมีป้องกันกำจัดวัชพืชทั้ง 3 ชนิดจะมีร้อยละของเกษตรกรที่ใช้มาก และเป็นสารที่มีความเป็นพิษปานกลาง และเกษตรกรไม่นิยมใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชหลังจากผักคะน้ามีอายุมากกว่า 20 วัน ดังนั้นสารป้องกันกำจัดวัชพืชจึงเป็นสารที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงของโอกาสที่จะพบการตกค้างในผลผลิตและอันตรายต่อสุขภาพในระดับต่ำ

ดังนั้นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ใช้ในการเพาะปลูกผักคะน้าที่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีการเฝ้าระวังเป็นพิเศษ ได้แก่ Dicrotophos, Methomyl และ Metalaxyl ในขณะที่สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดอื่น ได้แก่ Abamectin, Mancozeb, Propineb, Alachlor และ Paraquat ซึ่งเป็นสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดที่เกษตรกรนิยมใช้ ควรมีการป้องกันไม่ให้เกิดความเสี่ยงโดยการอบรมให้ความรู้เกษตรกรถึงวิธีการใช้ที่ถูกต้อง การเว้นระยะก่อนการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม รวมถึงวิธีการจัดเก็บ และการทำลายภาชนะบรรจุสารเคมีเหล่านี้ที่ถูกต้อง

จากรายงานสถานการณ์สารเคมีทางการเกษตรในประเทศไทย พบว่าปริมาณการนำเข้าสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพิ่มมากขึ้นทุกปี ซึ่งปัจจุบันคณะกรรมการแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาวิทยาศาสตร์การจัดการสารเคมี ได้จัดทำแผนยุทธศาสตร์การจัดการสารเคมี

แห่งชาติฉบับที่ 3 (พ.ศ.2550-2554) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อบริหารจัดการสารเคมีอย่างเป็นระบบครบวงจร สอดคล้องกับยุทธศาสตร์การดำเนินงานระหว่างประเทศว่าด้วยการจัดการสารเคมี เพื่อบูรณาการการทำงานในทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องในการจัดการสารเคมี และเพื่อเสริมสร้างศักยภาพของชุมชนและเครือข่ายภาคประชาชนให้มีส่วนร่วมในการบริหารจัดการสารเคมีอย่างยั่งยืน โดยมียุทธศาสตร์ 3 ด้านให้ทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องได้ทำงานร่วมกันในลักษณะบูรณาการ ได้แก่ 1. พัฒนาระบบบริหารจัดการสารเคมี 2. ลดความเสี่ยงอันตรายจากสารเคมี 3. ส่งเสริมความปลอดภัยและบทบาทประชาชนในการจัดการสารเคมี ซึ่งยุทธศาสตร์เหล่านี้จะบรรลุผลสำเร็จได้ต้องได้รับความร่วมมือจากทุกภาคส่วน โดยเฉพาะอย่างยิ่งภาคเกษตรกร โดยภาครัฐควรให้ความสำคัญในการสร้างความเข้มแข็ง ให้ความรู้ และส่งเสริมการมีส่วนร่วมของเกษตรกรเป็นสำคัญ¹⁰

1.2 การจัดเสวนาระดมสมองในพื้นที่ศึกษา

จากการจัดเสวนาระดมสมองร่วมกับเกษตรกรและเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรในพื้นที่ศึกษาเกี่ยวกับปัญหาการตกค้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการเพาะปลูกผักคะน้า แสดงในตารางที่ 2

สาเหตุที่ทำให้เกิดการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชอย่างไม่เหมาะสม และปัญหาการตกค้างสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการเพาะปลูกผักคะน้าสามารถสรุปได้ดังนี้

1.2.1 ค่ะน้าเป็นพืชที่มีความเสี่ยงต่อการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผลผลิต ที่อาจก่ออันตรายต่อสุขภาพผู้บริโภค พบการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดตลอดระยะเวลาการเพาะปลูก การเลือกใช้สารเคมีมีความแตกต่างกันไป ตามลักษณะ

และความรุนแรงที่พบในการระบาดของศัตรูพืช เนื่องจากลักษณะจำเพาะของผักซึ่งเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ปลูกได้ตลอดปี มีศัตรูพืชมาก โดยเฉพาะหน้าร้อนมักพบการระบาดของแมลงศัตรูพืช หน้าฝนมักพบปัญหาเรื่องโรคพืช และส่วนที่บริโภคเป็นส่วนที่สัมผัสกับสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยตรง ในการเก็บเกี่ยวไม่มีการล้างผลผลิตก่อนส่งจำหน่าย เพราะอาจทำให้เกิดการเน่าเสียเนื่องจากนิมขมส่งโดยไม่มีกระบวนการควบคุมอุณหภูมิ เมื่อไปถึงแหล่งจำหน่ายจะมีการกระจายตัวไปสู่ผู้บริโภคอย่างรวดเร็ว เนื่องจากเป็นผลผลิตที่เน่าเสียง่าย หากไม่มีการล้างทำความสะอาดก่อนการบริโภคอาจเกิดความเสี่ยงต่อสุขภาพในการได้รับสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชได้ โดยเฉพาะหากเกษตรกรผู้ปลูกไม่มีการเว้นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมหลังการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

1.2.2 ในการเพาะปลูกผักคะน้าส่วนใหญ่ไม่มีการจัดการแปลงที่เหมาะสมทางด้านแหล่งน้ำที่ใช้ในการเพาะปลูก พบการใช้แหล่งน้ำที่อยู่ใกล้หรือไหลผ่านชุมชน แหล่งน้ำที่อยู่ใกล้หรือไหลผ่านเขตเกษตรกรรมที่มีการใช้สารเคมี โดยไม่มีการเฝ้าระวังจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการตรวจวิเคราะห์หรือแจ้งข้อมูลการปนเปื้อนให้เกษตรกรทราบก่อนใช้น้ำในการเพาะปลูก เนื่องจากในการปลูกผักคะน้าส่วนใหญ่เป็นเกษตรกรรายย่อยจึงไม่สามารถลงทุนด้านการตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนในแหล่งน้ำที่ใช้เพาะปลูกได้ด้วยตนเอง หากไม่มีการเฝ้าระวังและแจ้งเตือนเมื่อเกิดปัญหาการปนเปื้อน จะทำให้มีความเสี่ยงต่อการเข้ามาของสารปนเปื้อนจากแหล่งน้ำสู่ผลผลิตคะน้าได้ หากแหล่งน้ำที่นำมาใช้ในการเพาะปลูกมีการปนเปื้อนอันตรายต่างๆ ในระดับที่ไม่ปลอดภัย

1.2.3 เกษตรกรไม่สามารถจัดการพื้นที่เพาะปลูก ในด้านการควบคุมการแพร่กระจายของสารเคมีป้องกันและกำจัดศัตรูพืชจากแปลงใกล้เคียงเข้า

มาในแปลงตนเองในช่วงเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ เนื่องจากพื้นที่เพาะปลูกของเกษตรกรส่วนใหญ่มีอาณาเขตติดต่อกันไปโดยไม่มีแนวป้องกันแปลง

1.2.4 เกษตรกรส่วนใหญ่ที่ปลูกผักคะน้ายังขาดความรู้ในการใช้สารเคมีทางการเกษตรอย่างเหมาะสม โดยเฉพาะการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช มักพบการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดผสมในถังพ่นเดียวกัน อาจทำให้ประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ของสารลดลง จนบางครั้งมีการเพิ่มปริมาณการใช้สารเคมีขึ้น ดังที่พบว่าเกษตรกรบางรายผสมสารเคมีเกินปริมาณที่แนะนำบนฉลาก และหากไม่ล้างถังพ่นหลังการใช้งานอาจทำให้สารเคมีที่ตกค้างในถังมาผสมกับสารเคมีชนิดใหม่ที่เติมลงไป ซึ่งอาจเกิดผลกระทบต่อด้านการออกฤทธิ์ของสารได้เช่นเดียวกัน ที่สำคัญพบว่าเกษตรกรบางรายเว้นระยะการหยุดใช้สารเคมีก่อนเก็บเกี่ยวไม่ถูกต้องตามคำแนะนำ ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้พบการตกค้างของสารเคมีในผลผลิต

1.2.5 ในการปลูกผักคะน้า เกษตรกรส่วนใหญ่ยังไม่สามารถปฏิบัติตามแนวทางการเพาะปลูกที่เหมาะสม เนื่องจากผักคะน้าเป็นพืชที่มีความเสี่ยงสูงต่อการระบาดของศัตรูพืชในช่วงหน้าร้อน และหน้าฝน หากการเก็บเกี่ยวผลผลิตตรงกับช่วงการระบาดของศัตรูพืช เกษตรกรจำเป็นต้องควบคุมความเสี่ยงที่อาจเกิดต่อผลผลิต โดยการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช เพราะสารชีวภัณฑ์ต่างๆ ที่มีจำหน่ายยังไม่สามารถใช้ควบคุมการระบาดที่รุนแรงได้ ส่วนใหญ่ใช้ในเชิงป้องกัน หากราคาผลผลิตดีเกษตรกรก็จำเป็นต้องเก็บเกี่ยวในช่วงที่มีการฉีดพ่นสารเคมี โดยไม่สามารถเว้นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมได้ เนื่องจากเป็นพืชที่ไม่มีการประกันราคา ราคาผลผลิตปรับเปลี่ยนไปตามราคาตลาด บางครั้งราคาตกต่ำลงเลยระดับการคุ้มค่าของการลงทุน

ในการเพาะปลูก และขาดการสร้างตลาดสำหรับผลผลิตที่ปลอดภัย นอกจากนี้พบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่มีอายุมาก มีปัญหาด้านการจดบันทึก และเกษตรกรให้ความสำคัญด้านผลตอบแทนมากกว่าความปลอดภัย ที่สำคัญคือ ระบบตรวจสอบรับรอง GAP มีความล่าช้าไม่ทันต่อรอบการเก็บเกี่ยวผลผลิต เนื่องจากค่น้ำเป็นพืชอายุการเก็บเกี่ยวสั้น ทำให้เจ้าหน้าที่ไม่สามารถเข้ามาตรวจสอบรับรองได้ทัน ดังนั้นแม้ปฏิบัติตาม GAP แต่ก็ไม่ได้รับการรับรองแปลง เกษตรกรจึงหมดกำลังใจในการปฏิบัติตาม GAP

เอกสารอ้างอิง

- ศูนย์สารสนเทศ สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2552. ระบบสารสนเทศการผลิตทางการเกษตร. Online. Available from: <http://production.doae.go.th>.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2549. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.
- เอ็จ สโรบล, สุพจน์ เฟื่องฟูพงศ์, ศรีณย์ วรรณจักริยา และคณะ. 2538. สถานภาพของระบบการปลูกพืชและสภาพแวดล้อมในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. [Online]. Available from: <http://pikul.lib.ku.ac.th>.
- กนกพร อธิสุข, ยุวดี เลิศเรืองเดช, จิตผกา สันทัดรบ และคณะ. 2546. การสำรวจปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผัก. กระทรวงสาธารณสุข. [Online]. Available from: <http://pikul.lib.ku.ac.th>.
- สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์, ปิยะดา ส่งเสริมสกุล และวรนท มาศวรรณ. 2547. การศึกษาสารตกค้าง Methamidophos และ Methyl-parathion ในผักในตลาดบางลำภู จังหวัดขอนแก่น . [Online]. Available from: <http://pikul.lib.ku.ac.th>.
- สกุลรัตน์ อุษณาวรงค์, ชนานุช เมืองนาง และอริศรา สุดแสน. 2545. การศึกษาสารตกค้าง Methamidophos และ Methyl-parathion ตกค้างในผักปลอดสารพิษในห้างแมคโคร จังหวัดขอนแก่น. [Online]. Available from: <http://pikul.lib.ku.ac.th>.
- ศักดิ์ดา พริงลำภู และคณะ. 2549. รายงานโครงการวิจัยสถานการณ์ความปลอดภัยด้านผักและผลไม้กรณีตลาดนัดและรถเร่ (ภาคเหนือตอนบน). [Online]. Available from: <http://www.knit.or.th/images/documents/report/2549/food/upper-fruit.pdf>.
- ศูนย์ปฏิบัติการความปลอดภัยด้านอาหาร แหล่งข้อมูล: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมอนามัย สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด. 2551. สถานการณ์และผลการดำเนินงานความปลอดภัยด้านอาหาร ปีงบประมาณ 2551, กระทรวงสาธารณสุข.
- นภาพร เชี่ยวชาญ. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้สดที่จำหน่ายโดยผู้ค้าเร่ ในเขตกรุงเทพมหานครและจังหวัดสมุทรปราการ. วารสารอาหาร 2550; 37(1): 59-72.
- คณะกรรมการแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนายุทธศาสตร์การจัดการสารเคมี. 2550. แผนยุทธศาสตร์การจัดการสารเคมีแห่งชาติ ฉบับที่ 3 (พ.ศ.2550-2554). โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 77 หน้า.
- World Health Organization. 2009. The WHO recommended classification of pesticides by hazard. [Online]. Available from: http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf.

ตารางที่ 1 ร้อยละของเกษตรกรผู้ใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชแต่ละชนิดในแต่ละช่วงการเจริญของผักคะน้า

ประเภทสาร	กลุ่มสาร	ระดับ ความ เป็นพิษ*	LD ₅₀ มก./กก.	ร้อยละ เกษตรกร ที่ใช้สาร (n=20)	ร้อยละเกษตรกรผู้ใช้สารแต่ละชนิดในแต่ละช่วงการ เจริญของพืช				
					เตรียม แปลง	ต้น คะน้า 10วัน	ต้น คะน้า 20 วัน	ต้นคะน้า 30-40 วัน	ระยะเก็บ เกี่ยว 45-50 วัน
สารป้องกันกำจัดแมลง									
1.Nano Bio Plant	สารชีวอินทรีย์	-	-	5	0	100	100	100	0
2.Methomyl ^a	Oxime carbamate	Ib	17	10	0	0	50	100	50
3.Dicrotophos	Organophosphorus	Ib	22	50	0	50	90	50	50
4.Chlorpyrifos	Organophosphorus	II	135	5	0	100	100	100	0
5.Acetamiprid	Neonicotinoid	NL	146	5	100	100	100	0	0
6.Cypermethrin	Pyrethroid	II	250	15	0	67	100	67	0
7.Carbosulfan	Carbamate	II	250	5	0	0	100	100	0
8.Indoxacarb	Oxadiazine	II	268	5	0	0	0	100	0
9.Abamectin	Avermectin	NL	300	55	36	91	91	0	0
10.Profenofos	Organophosphorus	II	358	20	0	75	100	100	75
11.Chlorphenapyr	Pyrazole (Acaricide) Analogue	II	441	15	0	0	100	67	0
12.Permethrin	Pyrethroid	II	500	5	0	100	100	100	0
13.Prothiophos	Organophosphorus	II	925	5	0	100	100	100	0
14.Dinotefuran	Neonicotinoid	NL	2000	10	0	100	100	50	0
15.Flubendiamide	Phthalic Acid Diamide	NL	>2000	5	0	0	100	0	0
16.Diaphenthiuron	-	III	2068	5	0	100	100	100	100
17.Spinosad	Spinosyn	III	3738	20	25	75	100	0	0
18.Bacillus Thuringiensis	Bacterium	III	>4000	30	33	83	67	0	0
19.Chlorfluazuron	Benzoylurea	U	8500	15	67	67	67	0	0
สารป้องกันกำจัดโรค									
20.Polysorbate 20%	สารชีวภัณฑ์	-	-	5	0	0	100	100	100
21.Metalaxyl	Acylalamine	II	670	40	34	50	88	63	13
22.Copper Hydroxide	Inorganic	II	1000	5	0	100	0	100	0

ประเภทสาร	กลุ่มสาร	ระดับ ความ เป็นพิษ*	LD ₅₀ มก./กก.	ร้อยละ เกษตรกร ที่ใช้สาร (n=20)	ร้อยละเกษตรกรผู้ใช้สารแต่ละชนิดในแต่ละช่วงการ เจริญของพืช (จำนวนผู้ใช้สารในช่วงการเจริญนั้น/จำนวนผู้ใช้สาร ชนิดนั้น)				
					เตรียม แปลง	ต้น คะน้ำ 10วัน	ต้น คะน้ำ 20 วัน	ต้นคะน้ำ 30-40 วัน	ระยะเก็บ เกี่ยว 45-50 วัน
23.Dimethomorph	Cinnamic Acid	III	3500	5	0	0	100	100	0
24.Iprodione	Dicarboximide	III	3500	5	0	0	100	100	0
25.Mancozeb	Alkylenebis (Dithiocarbamate)	U	>8000	30	0	83	83	67	17
26.Propineb	Alkylenebis (Dithiocarbamate)	U	8500	20	0	50	100	100	25
27.Carbendazim	Benzimidazole	U	>10000	15	0	33	100	100	67
28.Validamycin	Antibiotic	U	>10000	5	0	0	100	100	0
สารป้องกันกำจัดวัชพืช									
29.Paraquat	Bipyridylum	II	150	30	100	0	0	0	0
30.Alachlor	Chloroacetamide	II	930	40	100	0	0	0	0
31.Quinazalofop-P- Tetfuryl	Aryloxyphenoxy Propionate	II	1012	25	0	20	80	0	0
32.Glyphosate	Glycine Derivative	III	4230	5	100	0	0	0	0
33.Oxadiazon	Oxadiazole	U	>8000	15	100	0	0	0	0
34.Oxyfluorfen /2,4-D Isobutyl ester	Diphenyl Ether/Phenoxy carb Oxylic Acid	U /II	>5000/ 375	5	100	0	0	0 (0/1)	0

หมายเหตุ Ia ความเป็นพิษร้ายแรงยิ่ง Ib ความเป็นพิษร้ายแรง
 II ความเป็นพิษปานกลาง III ความเป็นพิษน้อย
 U สารออกฤทธิ์สำคัญที่ไม่มีแนวโน้มจะแสดงพิษเฉียบพลันเมื่อใช้ปกติ
 NL (Not Lists) สารที่ไม่ได้อยู่ในรายการของการจัดระดับความเป็นพิษโดยองค์การอนามัยโลก
 (*) วัตถุอันตรายที่กรมวิชาการเกษตรเฝ้าระวัง

*The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009¹¹

ตารางที่ 2 ปัญหาการตกค้างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการเพาะปลูกผักคะน้าตามห่วงโซ่การผลิตจากการเสวนาระดมสมองในพื้นที่

ห่วงโซ่การผลิต	ปัญหา
แหล่งน้ำ	- เกษตรกรใช้แหล่งน้ำที่อยู่ใกล้หรือไหลผ่านชุมชนในการเพาะปลูก โดยไม่มีการตรวจวิเคราะห์แหล่งน้ำนั้นๆ เพื่อตรวจสอบหาสารปนเปื้อน
พื้นที่เพาะปลูก	- แปลงเพาะปลูกอยู่ใกล้กับแปลงข้างเคียงที่มีการใช้สารเคมีโดยไม่มีวิธีป้องกันการปนเปื้อนสารเคมีจากแปลงใกล้เคียง และไม่มีการตรวจวิเคราะห์ดินในแปลงนั้นๆ
การใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช	- ความเข้าใจผิดของเกษตรกรที่ว่าหากไม่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช จะทำให้ผลผลิตเกิดความเสียหาย จึงจำเป็นต้องใช้สารเคมี - ลักษณะจำเพาะของผักซึ่งเป็นพืชที่มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น มีศัตรูพืชมาก และส่วนที่บริโภคเป็นส่วนที่สัมผัสกับสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยตรง - เกษตรกรใช้สารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดผสมในถังพ่นเดียวกัน โดยไม่ล้างถังพ่นหลังการใช้งาน - ไม่มีการเว้นระยะก่อนเก็บเกี่ยวตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร ทำให้มีการตกค้างของสารพิษในผลผลิต
การเก็บรักษาสารกำจัดศัตรูพืช	- การเก็บวัตถุดิบทรายทางการเกษตรปะปนกับปุ๋ย และสารควบคุมการเจริญเติบโต และอาหารเสริมต่างๆ
การกำจัดภาชนะบรรจุสารกำจัดศัตรูพืช	- การกำจัดภาชนะบรรจุวัตถุดิบทางการเกษตรอย่างไม่เหมาะสม โดยการทิ้งไว้ในแปลง ขยายปะปนกับขยะอื่น หรือเผาทิ้ง
การเก็บเกี่ยวผลผลิต	- เกษตรกรบางรายตัดต้นคะน้าวางกองกับพื้นดิน โดยมีใบคะน้าแก่ปูรองก่อนบรรจุใส่ถุงพลาสติก ส่งขายพ่อค้าคนกลาง หรือตลาด
การปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยว	- เกษตรกรไม่มีขั้นตอนการล้างผลผลิตก่อนบรรจุถุงส่งขาย เนื่องจากอาจทำให้ผักคะน้าเน่าเสียได้ง่ายขึ้น
การตลาดและจำหน่าย	- ขาดการสร้างตลาดสำหรับผลผลิตที่ปลอดภัย ทำให้เกษตรกรต้องขายผลผลิตในราคาเดียวกับผลผลิตที่มีการเพาะปลูกแบบทั่วไป

Prevention of Acetaminophen Induced Hepatorenal Toxicity in Mice with Fruits of *Terminalia chebula* (Myrobalan)

Sharma A¹ and Rathore H.S.^{1*}

¹School of Studies in Zoology and Biotechnology Vikram University, Ujjain 456010 INDIA

ABSTRACT

Protective role of fruits of *Terminalia chebula* (myrobalan) at three dose levels (200, 150 & 100 mg/kg bw) against acetaminophen (paracetamol) induced hepato and nephrotoxicity with single sublethal dose (300 mg/kg bw) has been assessed. Parameters of study are glutamate oxaloacetate transaminase (GOT), glutamate pyruvate transaminase (GPT), bilirubin, alkaline phosphatase (ALP) as liver function tests, creatinine and urea as kidney function tests and histology of liver and kidney for pathology. *T.chebula* could well antagonize acetaminophen induced hepatorenal toxicity in dose dependent manner. However, myrobalan could not afford protection against lethal dose of acetaminophen. Probable protective role is discussed in detail on the basis of known properties of different constituents of fruits of *Terminalia chebula*.

Keywords: *Terminalia chebula*, acetaminophen/paracetamol, liver-kidney, mice, antioxidants.

*Corresponding Author :

Prof. Dr. H.S. Rathore

School of Studies in Zoology and Biotechnology

Vikram University, Ujjain 456010 INDIA

Email: hrvuz2000@yahoo.co.in

Introduction

During recent past few herbal compounds have been screened for their ability to reduce and/or nullify acetaminophen induced hepatotoxicity¹. Over dosage of acetaminophen mainly causes dose dependent, fatal hepatic necrosis² however renal tubular necrosis and hypoglycemic coma may also occur³.

Myrobalan, fruits of *Terminalia chebula* (Combretaceae) has been found to protect mammalian liver from toxicity caused by sub-chronic administration of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in combination⁴, it could also protect kidneys too against nephrotoxins including nickel chloride⁵, ferric nitrilotriacetic acid (Fe-NTA)⁶. Present study is undertaken to find out influence of myrobalan on acetaminophen induced hepatorenal toxicity in mice.

Materials and Methods

Animal Model

Isogenic healthy male swiss albino mice of 20-25 gms. were obtained from Biological Production Division, Government Veterinary College, how MP. They were maintained on standard food and tap water *ad-libitum*. They were housed in animal house in propylene cages.

Herbal drug

Dried intact fruits of *T. chebula* were purchased from local herbal shop and were gently backed in a stainless steel container. After cooling they were ground in electrical grinder to get fine powder. Known quantity of fruits of *Terminalia chebula* (Myrobalan) powder was thoroughly mixed in known amount of distilled water using mortar and pestle which was filtered by ordinary filter paper. This clear aqueous filtrate was orally administered to mice using blunt, bent thick (No. 18) needle fitted on a syringe. The dose of drug was selected from described values in the literature on herbal drug.

Experiment I: Protection at lethal dose

Preliminary experiments were performed on mice to estimate the protective effect of this herbal compound against single lethal dose of paracetamol (1g/kg). Animals were divided into two groups of 10 animals each. One group was treated orally with the test drug *Terminalia chebula* at maximum dose (4gm/kg bw) and followed after 1 hour by intraperitoneal injection of paracetamol.

Another group was administered distilled water instead of drug. The mortality was observed 24 hour after paracetamol administration in both groups. Percentage protection against lethal effect of paracetamol was calculated.

Experiment II : Hepatoprotective and Nephroprotective study: Hepatic and renal injury was induced in mice by subcutaneous administration of single sublethal dose (300mg/kg/bw) of paracetamol injection. Details are shown in Table:1.

Biochemical Observations On day 9, 48 hours after paracetamol administration blood sample from each animal of each group was taken directly from heart under mild chloroform anesthesia. Biochemical parameters GOT, GPT and bilirubin, AP as liver function tests and creatinine and urea as kidney function tests are evaluated using ready to use available kits made by standard companies (i.e. BEACON diagnostics Pvt. Ltd., AGAPPE diagnostics, ACCUREX biochemical Pvt. Ltd., VITAL diagnostic (P) (Ltd.) in a recognized pathological clinic.

Histopathological Observation

Also, on 9th day pieces of liver and kidney from each animal were fixed in Bouins fluid for routine histopathology. Hematoxylin-eosine stained sections were observed for histopathology.

Statistical Analysis:

Experiments were done thrice. The data were subjected to Students 'T' test at 5% level of significance.

Results

Lethality test: (Experiment I) : All mice of second group (acetaminophen exposed) died showing 100% mortality. In another group, which had received *Terminalia chebula* prior to acetaminophen challenge showed 20% survival. This is shown in Table 2. This indicates that *Terminalia chebula* could afford very little protection against lethal dose of acetaminophen.

Hepato-nephroprotection:**(Experiment-II)****Histological Observations**

Self explanatory figures and captions are given in plate I and II.

Physiological Observations (Table:3)

Levels of enzymes remained unaffected among mice that were pretreated with highest dose (200 mg/kg bw) of *Terminalia chebula* before paracetamol challenge. Paracetamol injection caused sharp rise in the serum levels of all GOT, GPT, ALP, Bilirubin & creatinine and urea indicating severe liver & kidney injury. Lower dose (150 mg/kg bw) of *Terminalia chebula* could keep level of serum enzymes significantly lower than that the values obtained in Group II (Paracetamol exposed). Lowest dose (100 mg/kg bw) *Terminalia chebula* provided partial protection against paracetamol induced hepatotoxicity but not towards renal toxicity. Histological findings and physiological observations corroborate each other.

Discussion

Toxicity of paracetamol in mice is an established fact⁷. Several earlier reports in human and in animal studies have cemented this fact^{2,8,9}. Due to this reason paracetamol is

used as experimental toxin to induce liver and kidney damage in experimental studies.

Pretreatment i.e. prophylactic administration of aqueous suspension of powdered fruits of *Terminalia chebula* (Myrobalan) at three different doses for 07 days to mice could provide appreciable protection against acetaminophen (paracetamol) challenge at sub lethal experiments. Possibly myrobalan a natural antioxidant might have mainly strengthened endogenous antioxidant defense in the liver and kidneys of mice, however, it could have also exerted protective role via other routes as it contains several components¹⁰. Individual plant components like sulfhydryl and flavonoid compounds, gallic acid, ellagic acid, mucic acid, citric acid, reducing sugars and tannins can modulate effects of many genotoxicants¹¹, myrobalan possesses many such compounds¹⁰, which can be held responsible for reducing cytotoxic effects of acetaminophen in mice hepatorenal tissues.

Ellagic acid present in myrobalan could have also lowered acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice in the present experiments as it has been reported to do so against acetaminophen in mice¹². Being a strong antioxidant, ellagic acid attenuates the damaging effect of H₂O₂, scavenge superoxide anion and hydroxyl anion. Ellagic acid can also act on drug-metabolizing enzymes and prevent the formation of toxic metabolites¹³.

Cytotoxicity of N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI), metabolite of acetaminophen in cultured rat hepatocytes could be fully prevented by the addition of N-acetyl cysteine, GSH, or ascorbate¹⁴. Ascorbate present in myrobalan¹⁵ could have afforded protection against acetaminophen in the present study. Exogenous administration of N-acetyl-L-cysteine could restore experimentally depleted GSH level in liver and Kidneys of rat within 60 and 120 minutes respectively¹⁶.

07 day prior i.e. prophylactic administration of myrobalan to mice in the present study could have also caused enhanced GSH contents of liver and kidneys (and probably in other tissues too) because myrobalan contains many amino acids including those precursors of GSH^{17,16}. About 4% sulphated ashes are present in myrobalan¹⁰ which can be utilized for GSH synthesis.

Myrobalan administration could have restored acetaminophen-induced alteration in renal glutathione content, activities of glutathione-s-transferase, glutathione reductase, glutathione peroxidase and lipid peroxidation, hydrogen peroxide generation and serum creatinine level as myrobalan has been found to do so against nickel chloride-induced oxidative stress in the kidneys of rat¹⁸.

Chebolic acid, a component of myrobalan could have maintained correct ratio of GSSH, oxidized form of glutathione (GSH) to the total GSH (GSH-GSSH) as it has been shown to do so following tertiary butyl hydro peroxide exposure to isolated hepatocytes¹⁹.

Myrobalan pretreatment can maintain optimal level of GSH and cellular protective enzymes, reduce H₂O₂ content and histoarchitecture of kidneys as it could do against Fe NTA i.e. ferric nitrilotriacetic acid²⁰.

Myrobalan has been found to scavenge DPPH, hydroxyl and superoxide radicals *in-vitro*^{21,22} later property has been further confirmed by electron spin resonance (ESR) spectrometry²³. Aqueous extract of myrobalan could inhibit gamma radiation induced lipid peroxidation in rat liver microsomes and could also restore superoxide dismutase in liver mitochondria^{24,15}. Aqueous extract of myrobalan could also exert antioxidant effect *in-vivo* and *in-vitro* in rat against tertbutyl hydroperoxide toxicity²⁵. Myrobalan has been found even to protect mitochondria in streptozotocin-induced diabetic rats²⁶. Such

antioxidant activity and mitochondria protecting ability of myrobalan can be held responsible for preventing hepatorenal toxicity of acetaminophen which is also mediated through H₂O₂ and mitochondria^{27,28}.

Aqueous extract of myrobalan has been found to be antimutagenic as it could inhibit gamma radiation induced DNA breaks in plasmid pBR 322^{24,15}. Prophylactic administration of myrobalan prior to whole body irradiation of mice could reduce peroxidation of membrane lipids and DNA damage. Extract of myrobalan could also protect DNA damage in human lymphocytes *in-vitro*²⁹. Antioxidant and membrane stabilizing activities of myrobalan has been held responsible for its hepatoprotective potential⁴. Myrobalan has been found to increase life span of HEK-N/F cells by 40% due of shortening of age dependent shortening of telomeric DNA after t-BuOOH and VVB exposures³⁰.

Antioxidant property of myrobalan has also been held responsible for its antigenotoxic potential against lead nitrate, acetaminophen, aluminum chloride and cadmium chloride³¹⁻³⁴.

Myrobalan could even revert lead-induced mitostatic effect in the root tip cells of *Allium cepa*³⁵. It is interesting to mention here that root cells also have their own detoxification system similar to that of animal cells and involve many peroxidases, SOD, and catalase³⁶. Such preventive action of myrobalan can be held responsible for regeneration of hepatocytes and renal tubular cells even in the presence of acetaminophen. It is concluded that myrobalan reduces hepatorenal toxicity of acetaminophen in mice.

ACKNOWLEDGEMENTS

Author respectfully thank CSIR New Delhi for providing NET fellowship and grant to First Author. Department Facilities are also acknowledged.

Plate:I Histology of Mice Liver HE 150 X

Fig.1: Showing normal histology of liver of control group of mice. Radiating chords of hepatocytes arounds central vein (cv) indicate well organized histoarchitecture. No inclusion and no infiltration.



Fig.2: Showing severe disorganization of mice liver at 48 hr after single injection of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.). Damaged hepatocytes are seen as eosinophilic spots (←). Damaged & collapsed blood vessel (dbv) is seen with rough margins and infiltration (inf).

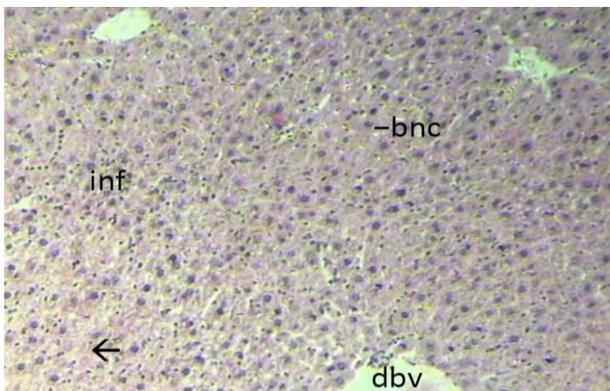


Fig.3: Showing liver of mice at 48 hr after single dose of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at highest dose (200 mg/kg bw) showing both normal hepatocytes as well as disorganized ones.

Mild infiltration and mild damaged blood vessel is seen. Binucleated cells (bnc) are evident. Histoarchitecture is quite better than what is seen in figure 2. Drug could appreciably reduce paracetamol toxicity.

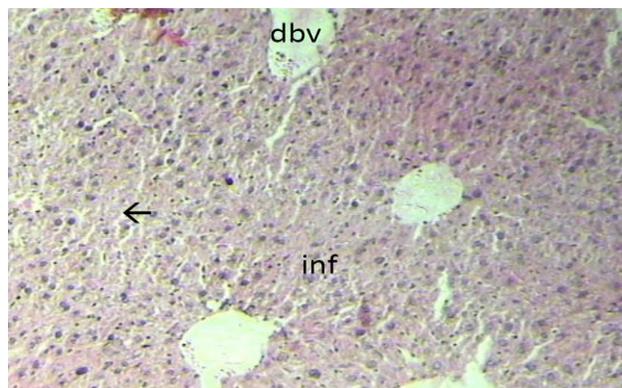


Fig.4: Showing liver of mice at 48 hr after single dose of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at lower test dose (150 mg/kg bw). Infiltration from damaged blood vessel is evident. Damaged hepatocytes (←) are seen. Damage is more pronounced than what is seen in earlier figure. Still drug could reduce acetaminophen toxicity as better histology is seen than figure 2. Drug could afford partial protection.

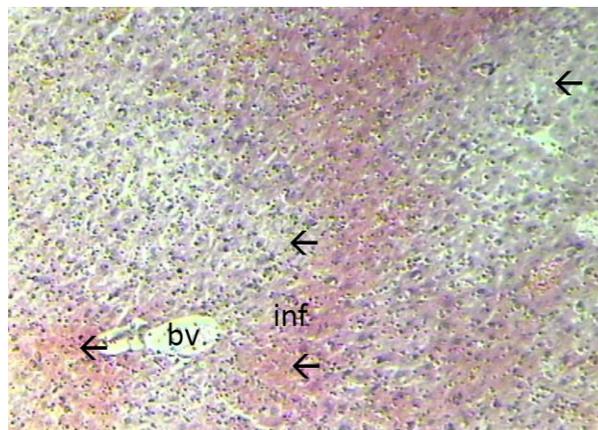


Fig.5; Showing liver of mice at 48 hr after single dose of acetaminophen with (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at lowest test dose (100 mg/kg bw). Severe infiltration from damaged blood vessel is evident. Liver tissue consist of damaged hepatocytes (←). Drug could still combat against toxicity of paracetamol at lowest dose as still liver tissue is seen in better condition than figure 2.

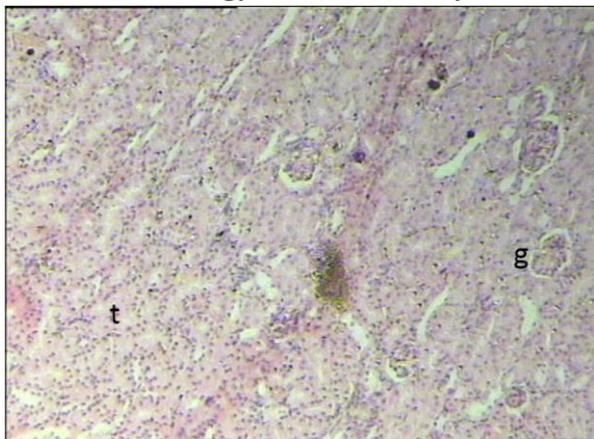
Plate: II Histology of Mice Kidney HE 150 X

Fig.1: Showing normal histology of kidney of control group of mice with well organized glomeruli (g) and tubules (t).

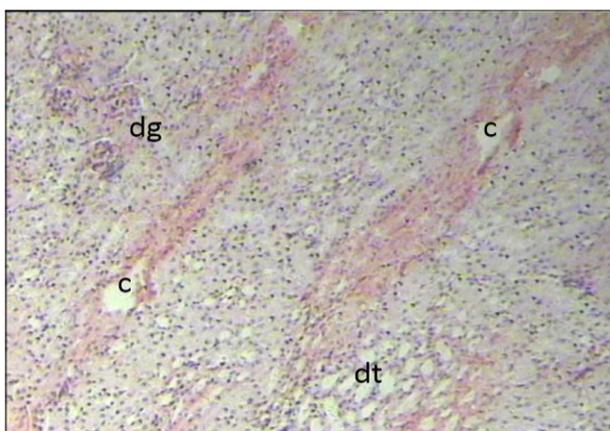


Fig.2: Showing severe disorganization of mice kidney tissue at 48hr after single injection of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.). Damaged glomeruli (dg) & dilated tubules (dt) are seen. Dead tubules i. e. cast (c) are also seen.

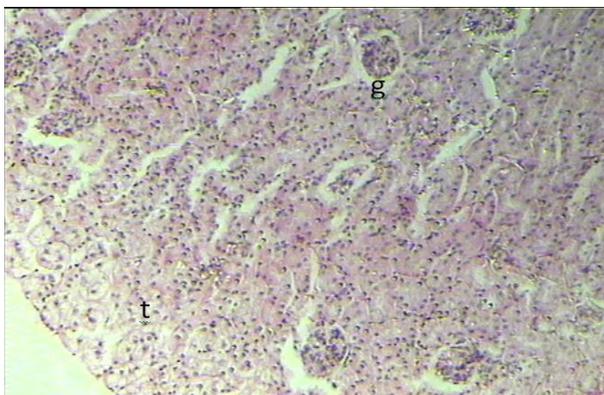


Fig.3: Showing mice kidney at 48 hr after single injection of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at highest test dose (200

mg/kg bw). Showing control like histoarchitecture. Drug could afford protection appreciably.

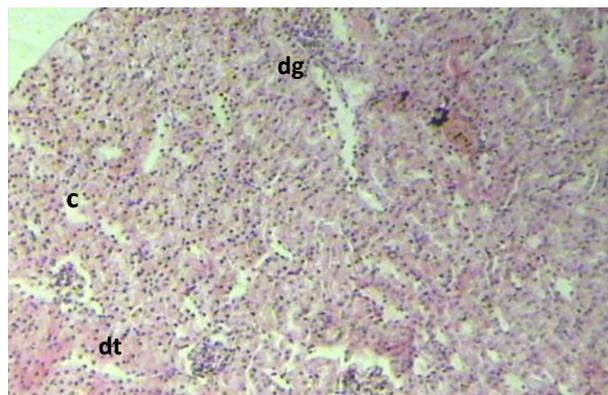


Fig.4: Showing mice kidney at 48 hr after single injection of acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at lower test dose (150 mg/kg bw). Mild tubular dilation (dt) with mild disorganized glomeruli (dg) are seen but still better histology is seen than figure 2. Drug afford partial protection.

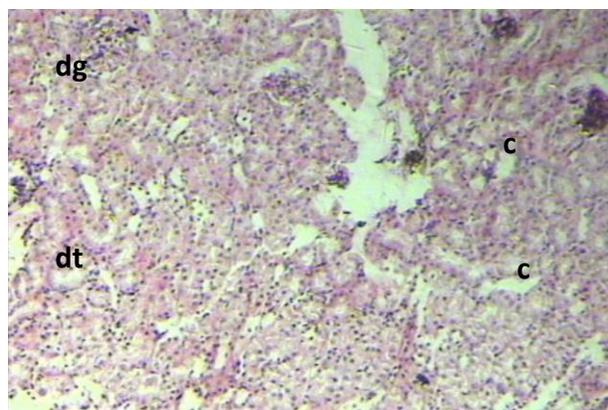


Fig.5: Showing mice kidney at 48 hr after single injection with acetaminophen (300 mg/kg bw i.p.) after 7 days pretreatment with fruit of *Terminalia chebula* at lowest test dose (100 mg/kg bw). Severe disorganization i.e.tubular dilation(dt) much disorganized glomeruli (dg) and few casts (c) are seen. This figure resembles with figure 2. Drug could not afford protection.

References

1. Sharma A, Makwana M, Rathore HS. Will Herbal-Paracetamol Combination Drug Prevents both Liver and Kidney Disease?-Results and Possibilities. *Ethanobot Lflt USA*, 2008; 12: 286-98.
2. Thomos SH. Paracetamol (acetaminophen) poisoning. *Pharmacol Ther* 1993; 60: 91-120.
3. Insel A. Paul. Analgesic and antipyretic and anti-inflammatory agents and drug employed in the treatment of Gout. In: Goodman and Gilman's The Pharmacological basis of therapeutics 9th ed. McGraw-Hill, USA, 1996: 631-33.
4. Tasaduq SA, Singh K, Satti NK, *et al.* *Terminalia chebula* (fruit) prevents liver toxicity caused by subchronic administration of rifampicin isoniazid and pyrazinamide is combination. *Hum Exp Toxicol* 2006; 25(3): 111-18.
5. Prasad L, Khan HT, Jahangir T, *et al.* Chemomodulatory effects of *Terminalia chebula* against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20(4): 233-39.
6. Prasad L, Khan TH, Jahangir T, *et al.* Abrogation of DEN/Fe-NTA induced cracinogenic response, oxidative damage and subsequent cell proliferation response by *Terminalia chebula* in kidney of Wistar rats. *Die pharmazie* 2007; 62 : 790-97.
7. Placke ME, Ginsberg GL, Wyand D S *et al.* Ultrastructure changes during acute acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse-a time and dose study *Toxicol Pathol* 1987; 15 : 381-87.
8. Zaher H, Buters JTM, Ward JM, *et al.* Protection against acetaminophen toxicity in CYP1A 2 and CYP2E1 double-null mice. *Toxicol and App Pharmacol* 1998; 152: 193-99.
9. FAD. Effects of legislation restricting pack size of paracetamol and poisoning in the United Kingdom: before and after study. *Brit Med J* 2002; 28: 325 -78.
10. The Wealth of India -Raw materials, Vol.X, (Publication and information Directorate, CSIR, New Delhi. 1976; 171-77.
11. Sarkar D, Sharma A. Plants extracts as modulators of genotoxic effects. *Bot Rev* 1996; 6: 275-300.
12. Girish C, Koner BC, Jayanthi S, *et al.* Hepatoprotective activity of picroliv, curcumin and ellagic acid compared to silymarine on paracetamol-induced liver toxicity in mice. *Funda Clin Pharmacol* 2009; 23 : 735-45.
13. Girish C, Pradhan SC. Drug development for liver diseases : focus on picroliv, ellagic acid and curcumin. *Funda and Clin Pharmacol* 2008; 22: 623-32.
14. Holme JA, Dahlin DC, Nelson SD, *et al.* Cytotoxic effect of N-acetyl-p-benzoquinone imine, a common arylating intermediate of paracetamol and N-hydroxyparacetamol. *Biochem Pharmacol* 1984 ; 33: 401-06.
15. Naik GH, Priyadarsini KI, Naik DB, *et al.* Studies on the aqueous extract of *Terminalia chebula* as a potent antioxidant and a probable radioprotector. *Phytomed* 2004; 11: 530-38.
16. Yao WB, Zhao YQ, Abe T, *et al.* Effect of N-acetylcysteine administration on cysteine and glutathione contents in liver and kidney and in perfused liver of intact and diethyl maleate-treated rats. *Amino acids* 1994: 255-66.

17. Hathway DE. Amino acids, fruit acids and polyols of myrobalans. *Biochem J* 1956; 63 : 380-87.
18. Prasad L, Khan HT, Jahangir T, *et al.* Chemomodulatory effects of *Terminalia chebula* against nickel chloride induced oxidative stress and tumor promotion response in male Wistar rats. *J Trace Elem Med Biol* 2006; 20: 233-39.
19. Lee HS, Jung SH, Yun BS, Lee KW. Isolation of chebulic and from *Terminalia chebula* Retz. and its antioxidant effect in isolated rat hepatocytes. *Arch Toxicol* 2007; 81: 211-18.
20. Prasad, L., Khan, T.H., Jahangir, T., Sultana, S. Abrogation of DEN/Fe-NTA induced carcinogenic response, oxidative damage and subsequent cell proliferation response by *Terminalia chebula* in kidney of Wistar rats. *Die pharmazie* 2007. 62 : 790-97.
21. Na M, An RB, Lee SM, *et al.* Screening of crude drugs for antioxidative activity. *Korean J. of Pharmacog.* 2001; 32 : 108-115.
22. Sabu MC, Kuttan R. Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *J Ethnopharmacol* 2002; 81: 155-60.
23. Cheng HY, Lin TC, Yu KH, *et al.* Antioxidant and free radical scavenging activities of *Terminalia chebula*. *Biol Pharm Bull* 2003; 26 : 1331-35.
24. Naik GH, Priyadarsini KI, Satav JG, *et al.* Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in ayurvedic medicine. *Phytochem* 2003; 63: 97-104.
25. Lee HS, Won NH, Kim KH, *et al.* Antioxidants effects of aqueous extract of *Terminalia chebula* *in-vivo* and *in-vitro*. *Biol. and Pharmac. Bull.* 2005; 28 :1639-44.
26. Senthikumar GP, Subramanian S. Biochemical evaluation of mitochondrial protective effect of *Terminalia chebula* studied in STZ - induced diabetic rats. *In.J. of Biol. Chem.* 2007; 1: 131-40.
27. Dai Y and Cederbaum AL. Cytotoxicity of acetaminophen in human cytochrome P450E1-transfected HepG2 cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 273: 1497- 05.
28. James LP, Mayeux PR, and Hinson JA. Acetaminophen-induced hepatotoxicity. *Drug Metabo. and Dispos.* 2003; 31: 1499–1506.
29. Gandhi NM, Nair CK. Radiation protection by *Terminalia chebula*: some mechanistic aspects. *Mol Cell Biochem* 2005 ; 277: 43-8.
30. Na M, Bae K, Kang SS *et al.* Cytoprotective effect on oxidative stress and inhibitory effect on cellular aging of *Terminalia chebula* fruit. *Phytother Res* 2004; 18: 737-41.
31. Rathore HS, Makwana M. Prevention of lead toxicity in *Allium cepa* root tip cells with myrobalan (Fruit of *Terminalia chebula*). *Biochem Cell Arch* 2005; 5: 169-76.
32. Rathore HS, Choubey P. Prevention of acetaminophen induced mitodepression with myrobalan. (Fruits of *Terminalia chebula*) in *Allium cepa* Model. *Iran. J. of Pharmac. and Therap.* 2005; 4: 100-4.
33. Rathore HS, Bi S, Sharma A, *et al.* Prevention of aluminium chloride-induced mitodepression with myrobalan (Fruit of *Terminalia chebula*, Retz, Combretaceae), in *Allium cepa* model. *Ethnobot Lflt, USA* 2006:272-79.

34. Jaffrey P, Rathore HS. Antigenotoxic potential of *Terminalia chebula* fruit (myrobalan) against cadmium in *Allium* test. *The Internet J. of Toxicol.* 2007; 4.
35. Rathore HS, Punyasi, R, Joshi P, *et al.* Studies on the reversal of lead induced mitostatic effect in *Allim cepa* root tip cells with myrobalan (fruit of *Terminalia chebula*, Retz, combretaceae). *The Internet J of Altern Med* 2007; 4.
36. Acharya VMM, Jena S, Panda KK *et al.* Aluminium induced oxidative stress and DNA damage in root cells of *Allium cepa*. *Ecotox & Envi Saf* 2008 ; 70: 300-10.

Table1: Experimental Design.

Group I	<i>Control group:</i> Mice were pretreated orally with distilled water daily for 7 days followed by single s.c. injection of benzyl alcohol 2 hr after last treatment (volume equal to that of injection of paracetamol used) on 7 th day in group II.
Group II	<i>Paracetamol treated group:</i> Mice were pretreated orally with distilled water orally for 7 days followed by single s.c.injection of sublethal dose (300mg/kg/bw) of paracetamol on 7 th day, 2 hr. after last treatment.
Group III IV ,V	<i>Drug pretreated and Paracetamol challenged groups:</i> Mice were pretreated with the fruit of <i>Terminalia chebula</i> in distilled water at three doses (200,150,100mg/kg bw) orally daily for 7 days followed by single s.c. injection of paracetamol sublethal dose (300mg/kg bw) on 7 th day 2 hr after last treatment.

Table 2. Protection against lethal dose of acetaminophen by *Terminalia chebula*

S.No.	Group	Total number of mice used	Mortality out of 10	Percentage protection
1.	Acetaminphen treated group	10	10 (100%)	0%
2.	Acetaminphen challenge to myrobalan treated group	10	08(80%)	20%

Table 3: Effects of pretreatment with different doses of fruit of *Terminalia chebula* against acetaminophen induced changes in the serum levels of enzymes in mice (n=6; Mean±SEM)

S.NO.	GROUPS	LIVER FUNCTION TESTS				KIDNEY FUNCTION TESTS	
		AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	BILIRUBIN (MG/DL)	CREATININ E (MG/DL)	UREA (MG/DL)
1.	Group I (Controls)	62.40±0.86	53.75±0.74	123.71±1.31	0.33±0.02	0.44±0.07	53.76±0.85
2.	Group II (Acetaminophen challenged at 300 mg/kg bw) % change vs control	130.85 ^a ±1.33 [109.69%↑]	154.30 ^a ±1.91 [187.06%↑]	172.91 ^a ±1.81 [39.77%↑]	0.85 ^a ±0.04 [157.57%↑]	1.20 ^a ±0.10 [172.72%↑]	104.88 ^a ±1.18 [95.08%↑]
3.	Group III (Pretreated with higher dose 200 mg/kg bw of <i>T.chebula</i> & challenged with acetaminophen at 300 mg/kg bw) % change vs control % difference from group II	65.27 ^b ±1.20 [04.59%↑]NS [50.11%↓]	57.33 ^b ±2.01 [06.66%↑]NS [62.84%↓]	126.11 ^b ±2.14 [01.94%↑]NS [27.06%↓]	0.41 ^b ±0.03 [24.24%↑]NS [51.76%↓]	0.49 ^b ±0.09 [11.36%↑]NS [59.16%↓]	56.14 ^b ±1.15 [04.42%↑]NS [46.47%↓]
4.	Group IV (Pretreated with lower dose 150 mg/kg bw of <i>T.chebula</i> & challenged with acetaminophen at 300 mg/kg bw) % change vs control % difference from group II	86.12 ^{a,b} ±1.48 [38.01%↑] [34.18%↓]	83.77 ^{a,b} ±1.89 [55.85%↑] [45.70%↓]	142.08 ^{a,b} ±2.21 [14.84%↑] [17.83%↓]	0.56 ^{a,b} ±0.02 [69.69%↑] [34.11%↓]	0.65 ^{a,b} ±0.04 [47.72%↑] 45.83%↓]	72.09 ^{a,b} ±1.23 [34.09%↑] [31.26%↓]
5.	Group V (Pretreated with lowest dose 100 mg/kg bw of <i>T.chebula</i> & challenged with acetaminophen at 300 mg/kg bw) % change vs control % difference from group II	110.09 ^{a,b} ±1.25 [76.42%↑] [15.86%↓]	104.56 ^{a,b} ±2.14 [94.53%↑] [32.23%↓]	155.78 ^{a,b} ±1.98 [25.92%↑] [09.90%↓]	0.63 ^{a,b} ±0.02 [90.90%↑] [25.88%↓]	1.15 ^a ±0.07 [161.36%↑] [04.16%↓]NS	101.54 ^a ±1.10 [88.87%↑] [03.18%↓]NS

'a' = Significant Group I vs all groups; ↑ = Rise

'b' = Significant Group II vs Group III, Group IV, Group V; ↓ = Decline, NS = Non significant

Site-Directed Mutagenesis of HPV16 Spliced E6 Protein and Localization Patterns

Sirisrimangkorn S¹, Wanichwatanadecha P¹, Ponglikitmongkol M^{1*}

¹.Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI road, Bangkok 10400, Thailand

Abstract

Infection of cervical cells by high risk human papillomaviruses (HPVs), such as type 16 and 18, is a well-known cause of cervical cancer. E6 is one of the two main HPV oncoproteins responsible for cellular transformation and immortalization. The high risk HPV16 E6 gene generates a spliced form of 43 amino acids, so called E6-I, whose precise role is not known. Cellular localization of HPV16 E6 protein containing both full and spliced forms was previously shown to be dispersed in the nucleus and the cytoplasm, whereas full-form E6 protein was preferentially localized in the nucleus. Our previous results indicated that E6-I localized equally both in the nucleus and the cytoplasm. Based on amino acid sequence homology between E6-I and the N-terminus of E6, the E6-I protein contained only a weak nuclear localization signal whereas the full-form showed three of them, a combination of which generated a strong signal. In this study, we generated E6-I variants by site-directed mutagenesis and examined their localization in a human embryonic kidney cell line, 293T, in order to determine residue(s) necessary for nuclear localization of the spliced protein. Our results indicated that a weak nuclear translocation signal present in E6-I was not sufficient for its nuclear entry since mutations in this region did not affect their localization patterns which suggested that other amino acid sequences or E6-I binding protein might be required for E6-I to enter the nucleus.

Keywords: HPV 16, spliced E6, nuclear localization

*Corresponding author:

Mathurose Ponglikitmongkol

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University,
Bangkok 10400, Thailand.

Tel: +662-2015455 Fax: +662-3547174

E-mail: scmpl@mahidol.ac.th

Introduction

Cervical cancer, a malignant cancer of the cervix uteri, is one of the most common causes of cancer death in women worldwide including in Thailand. The most important risk factor in the development of cervical cancer is infection with high-risk strains of human papillomavirus (HPV), particularly, HPV16 and 18. Infection of cervical cells by HPV 16 alone accounts for more than 50% of cervical cancer incidences [1]. The low-risk viruses rarely cause lesions and normally do not develop into cancer for example HPV types 6 and 11.

E6 is one of the two main high-risk HPV oncoproteins responsible for cellular immortalization, transformation, and cancer progression [2-3]. The key role of E6 is inducing p53 degradation and inhibiting p53-mediated apoptosis through E6-associated protein (E6AP). Only E6 protein of high risk HPV can bind to core region of p53, in the presence of E6AP.

Small forms of HPV E6 protein (spliced E6 protein or E6-I) are only presented in high-risk HPV but not in the low-risk HPV. They are translated from spliced E6 mRNAs produced during splicing. In HPV16, E6-I transcripts are spliced out at nucleotide 226 and spliced back at nucleotide 409 to generate E6-I transcripts which produces a 43 amino acid protein [4]. The amino acid sequence of E6-I is identical to the N-terminus of E6 protein [5].

There are two proposals that explain the existence of the E6-I mRNA. Firstly, E6-I encoding mRNA has the much larger space between the stop codon of the E6-I ORF and the start codon of E7 ORF [6], therefore the splicing mechanism may allow more efficient translation of E7 protein (Figure 1). Secondly, E6-I protein may have some functions. Previous reports have shown that HPV18 E6-I protein inhibited E6-mediated degradation of

p53 and increased in cellular level of p53 by interacting with both full-form E6 and E6AP, but not to p53 [7-9]. The high-risk HPV18 E6-I protein forms a complex with E6AP through E6AP binding site at amino acids 28-31 [7] which corresponds to amino acids 26-29 for HPV16. HPV18 E6-I protein seems to modulate E6 protein by inhibiting some of E6 functions such as p53 degradation. Moreover, the interaction between 18 full form E6 and 18 E6-I leads to the destabilization of the E6 protein, suggesting that E6-I protein can function as a negative regulator of the full-length E6 protein [10]. Moreover, it is believed that HPV18 spliced E6 protein probably exerts the anti-proliferative effect in HPV infected cells.

While functions of E6 protein are extensively studied, the function of E6-I protein is still unclear. Although E6 can bind to a number of host proteins, both the cytoplasmic and the nuclear proteins, it is primarily localized in the nucleus. N-terminal zinc finger of E6 was proposed to be involved in the nuclear localization [11]. Surprisingly, strong nuclear localization signal of E6 was observed at the C terminus, between residues 120 and 151 of the protein [12]. Later study demonstrated that three nuclear localization signals (NLS) of the full-form 16E6 protein including the NLS1 at amino acids 8-11, the NLS2 at amino acids 66-72 and the NLS3 at amino acids 115-124 were responsible for its nuclear localization and also correlate with its transcriptional regulation activity [13]. The putative NLS motif appears to exist only in oncogenic E6 proteins from high risk HPVs but not low risk HPVs. The lack of powerful NLS in low risk E6 proteins is probably the main reason for the cytoplasmic retention of these proteins [13]. Based on 16E6 protein sequence, 16E6-I protein contains only a weak NLS1 (not NLS2 and NSL3) and E6AP binding site. Identification of the NLS motif in

HPV16 E6-I protein may provide the first insight into the novel activity of this protein.

Therefore, in this study, we aim to investigate the significance of NLS1 of E6-I protein in its cellular localization patterns and also to determine amino acid residues responsible for its nuclear entry by site-directed mutagenesis.

Materials and Methods

Plasmid construction: E6 and E6-I cDNAs of HPV16 were isolated from SiHa cervical cancer cell line and inserted in frame at the C-terminus of green fluorescence protein between *NotI* and *XhoI* sites of the expression vector pEGFP-C1 (Clontech) to yield GFP-HPV fusion protein (Figure 2). The E6 splice donor mutant expressing only full-form E6 was generated by changing G at the splice donor site to C (nucleotide 226) resulting in a V to L amino acid substitution. Eleven HPV16 E6-I variants, namely $\Delta 8-11$, $\Delta 23-26$, $\Delta 27-30$, R8A, R10A, K11A, T17A, E18A, V31A, Y32A, and K34A, were generated by site-directed mutagenesis using *PfuTurbo* DNA polymerase (Stratagene) and primers as shown in Table 1. The GFP fusion proteins containing full-forms of HPV16E6 and HPV6E6 were also generated in the same manner and used as controls. All the obtained clones were confirmed through DNA sequencing (Macrogen Inc.).

Cell culture: Human embryonic kidney cell line, 293T, was maintained in Dulbecco's Modified Eagle Media (DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) and antibiotics, 100 U/ml of penicillin G, 100 U/ml of streptomycin, at 37°C in humidified atmosphere with 5% CO₂.

Transfection: Overnight cultures of 293T cells were transfected with indicated amounts of HPV16 E6-I and its variants using LipofectamineTM 2000 (Invitrogen) according to manufacturer's protocol.

Confocal fluorescence microscopy:

293T cells were seeded on glass coverslips in 35-mm culture dish and were transfected with 1 μ g of HPV16 E6-I in pEGFP-C1 backbone. Twenty four h after transfection, cells on coverslips were washed with PBS (pH 7.4) and fixed with 4% paraformaldehyde in PBS at room temperature for 30 min. Cells were washed three times and incubated with nuclear staining TO-PRO[®]-3 iodide dye (Molecular Probes[®]; Invitrogen) with 1:500 dilutions in PBS at room temperature for 45 min in dark. After air dried, cells were mounted on slide using VECTASHIELD[®] Mounting Medium (Vector Laboratories) and analyzed under the Olympus FV1000 confocal microscope with two excitation laser beams of 488 nm and 633 nm. The images were taken under 60x objective oil immersion lens with 2x zoom.

Results and Discussion

Site-directed mutagenesis

The cloned 16E6-I cDNA was inserted in frame at the C-terminus of the green fluorescence protein (EGFP) gene in the expression vector pEGFP-C1 at *Not I* and *XhoI* sites as shown in Figures 2A and 2B. These allowed the expression as GFP- 16E6-I fusion proteins which could easily be followed under confocal microscope. Eleven types of site-directed mutagenesis in the 16E6-I gene were constructed and their positions and amino acid changes were illustrated in Figure 2C.

Since the amino acid sequence of E6-I was identical to the first 43 amino acids of full-form E6, the significance of these residues were then extrapolated from those reported for full-form E6. The 16E6-I $\Delta 8-11$ variant had a deletion of amino acids 8 to 11 which corresponded to nuclear localization signal 1 (NLS1) of 16E6 protein. The two variants 16E6-I $\Delta 23-26$, and $\Delta 27-30$ had

deletions of amino acids 23 to 26, and 27 to 29 respectively, both of which corresponded to binding site of an E6 associated protein. Variants containing point mutations namely 16E6-I-R8A, R10A, and K11A had altered amino acid residues in NLS1 sequence whereas 16E6-I-T17A, E18A, V31A, Y32A, and K34A contained mutations in the conserved domains of the high risk HPVs.

Nuclear localization of HPV16 E6-I and its variants

High risk HPV16 E6-I protein has previously been shown by our laboratory and others to disperse throughout the cells, but preferentially localized in the nucleus whereas its full-form E6 was found specifically in the nucleus [13-14]. As mentioned earlier, HPV16 E6 protein was identified to contain three nuclear localization signals (NLSs); NLS1, NLS2 and NLS3, that drive the 16E6 protein into the nucleus. The HPV16 E6-I protein contains only a weak nuclear localizing signal 1 (NLS1), RPRK (amino acid 8 to 11) residing in the N-terminal region of HPV16 E6 protein. It was of our interest to investigate whether E6-I entered the nucleus using solely a weak NLS1.

We monitored the cellular distribution of all 16E6-I variants in 293T cells using confocal microscope. The results in Figure 3 corresponded to those in earlier reports that the 16E6 construct which expressed both full-form and spliced E6 proteins localized both in the nucleus and the cytoplasm, whereas only full-form E6 was predominantly detected in the nucleus. It might be possible that the detected signal in the cytoplasm of 16E6 expressing cells derived from the 16E6-I protein.

Interestingly, all 16E6-I variants (both deletions and point mutations) showed the same localization patterns as that of the wild

type indicating that these positions did not significantly affect the nuclear transport of the E6-I protein. However, we have observed decreased signal in the nucleus when high dose of the wild type E6-I was used (data not shown) which implied that localization of the small form of E6 protein is dose dependent. Since the wild-type HPV16 E6-I and all variants gave similar localization patterns to that of GFP protein, the low-risk HPV6 E6 protein, which lacked of efficient NLS (NLS1 and 2 of 16E6 protein) but contained only the motif similar to very weak NLS3 of HPV16 E6 protein, and could not enter the nucleus, was used as negative control. Results from 6E6 confirmed its localization only in the cytoplasm but not in the nucleus. The studies by Tao *et al.* in 2003 using fluorescence microscope showed that NLS1 was responsible for the accumulation of 16E6-I in the nucleus since decreased but not abolished signal was observed when amino acids in NLS1 were mutated [13]. However, no data on dose effect was clearly presented.

In summary, in order to identify amino acids necessary for nuclear localization of HPV16 E6-I protein, we have constructed eleven 16E6-I variants using the advantage of GFP fusion technology to produce GFP-HPV16 E6-I fusion proteins which could be monitored under the confocal microscope. We observed that all mutations in 16E6-I did not alter their localization patterns including mutations in the nuclear localization signal suggesting that other residues in E6-I protein might be required for its nuclear transport, or else E6-I might be carried by other nuclear proteins to the nucleus

We thank BIOTEC, NSTDA for financial support.

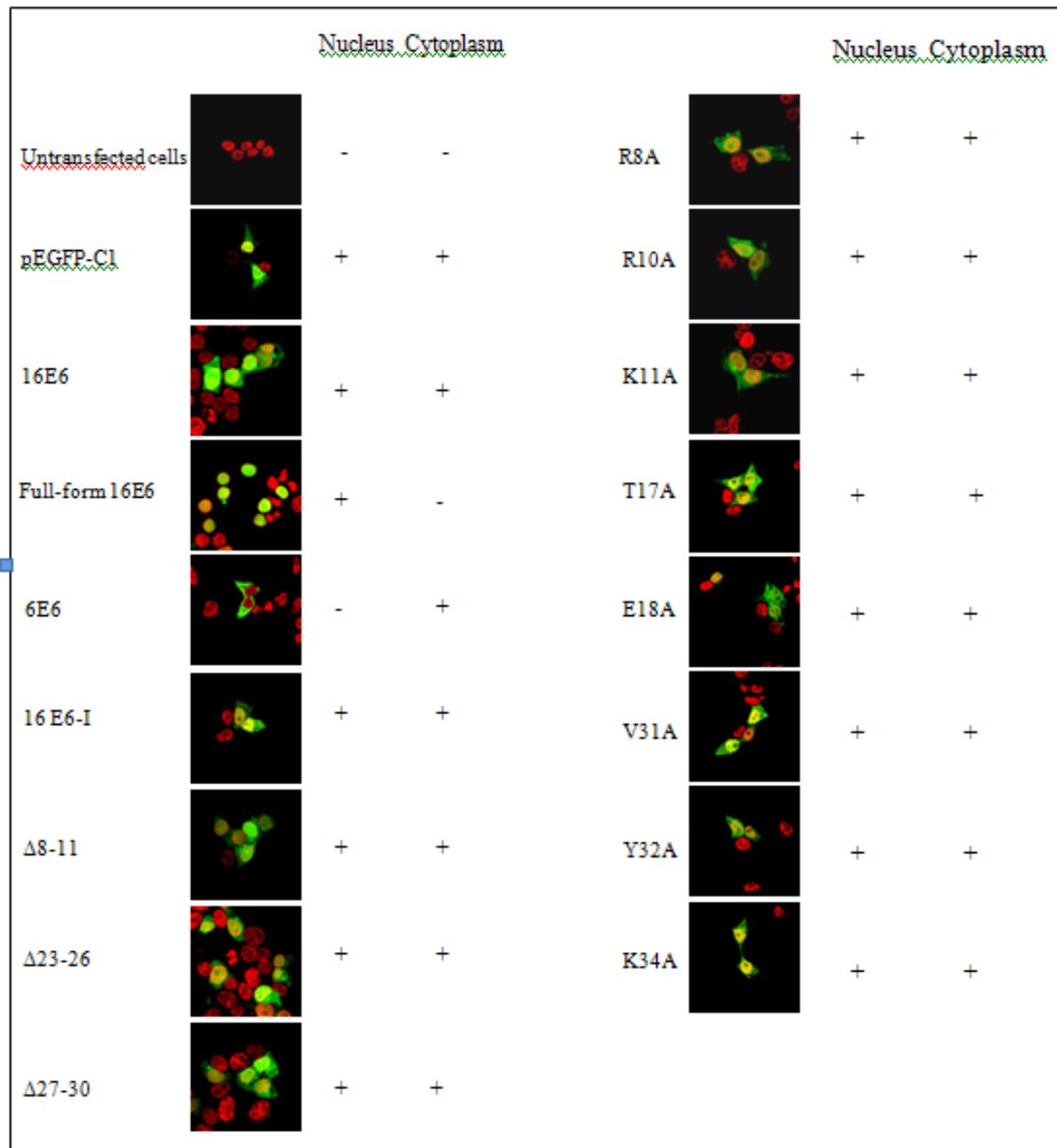


Figure 3: Cellular localization of HPV16 E6-I variants in 293T cells as monitored by confocal microscope after 24 h transfection. The fluorescence-TO-PRO[®]-3 merged images of 293T cells transiently transfected pEGFP-C1-16E6, pEGFP-C1-full-form16E6, pEGFP-C1-6E6, pEGFP-C1-16E6-I and pEGFP-C1-16E6-I variants (Δ 8-11, Δ 23-26, Δ 27-30, R8A, R10A, K11A, T17A, E18A, V31G, Y32A, and K34A) are shown. The green signals show the fluorescence emission of GFP protein, the red signals show the nucleus by TO-PRO[®]-3 iodide dye, and the yellow signals show fluorescence emission of GFP protein in the nucleus. + or – indicates the presence or absence of nuclear or cytoplasmic localization of GFP fusion proteins. Plasmid pEGFP-C1 was used as a GFP control in transfection.

Table 1 Sequences of primers used for site-directed mutagenesis

Primer name	Sequences
Δ8-11 sense	5'-CAGGACCCACAGGAGTTACCACAGTTATGC-3'
Δ8-11 antisense	5'-CGATAACTGTGGTAACTCCTGTGGGTCCTG-3'
Δ23-26 sense	5'-CAGAGCTGCAAACA ACTATATTAGAATGTGTGTACTGC-3'
Δ23-26 antisense	5'-GCAGTACACACATTCTAATATAGTTGTTTGCAGCTCTG-3'
Δ27-29 sense	5'-CAACTATACATGATATAGTGTACTGCAAGCAACAG-3'
Δ27-29 antisense	5'-CTGTTGCTTGCAGTACACTATATCATGTATAGTTG-3'
R8A sense	5'-GGACCCACAGGAGGCACCCAGAAAG-3'
R8A antisense	5'-GGGTGCCTCCTGTGGGTCCTGAAAC-3'
R10A sense	5'-GGAGCGACCCGCTAAGTTACCACAG-3'
R10A antisense	5'-TAACTTAGCGGGTCGCTCCTGTGGG-3'
K11A sense	5'-GAGCGACCCCGGGCCTTACCACAGTTATGC-3'
K11A antisense	5'-CTGTGGTAAGGCCCGGGTCGCTCCTGTGG-3'
T17A sense	5'-AGTTATGCGCTGAGCTGCAAACA ACT-3'
T17A antisense	5'-AGTTGTTTGCAGCTCAGCGCATAACT-3'
E18A sense	5'-GGAGCGACCCGCTAAGTTACCACAG-3'
E18A antisense	5'-TGTATAGTTGTTTGCAGCCCGCGTGCA-3'
V31G sense	5'-GATATAATATTAGAATGTGGGTACTGCAAGC-3'
V31G antisense	5'-GCTTGCAGTACCCACATTCTAATATTATATC-3'
Y32A sense	5'-TAGAATGTGTGGCATGCAAGCAAC-3'
Y32A antisense	5'-CTGTTGCTTGCATGCCACACATTC-3'
K34A sense	5'-GTGTGTACTGCGCGCAACAGTTACTG-3'
K34A antisense	5'-CAGTAACTGTTGCGCGCAGTACACAC-3'

Reference

1. Clifford GM, Smith JS, Plummer M, *et al.* Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; 88: 63-73.
2. Griep AE, Herber R, Jeon S, *et al.* Tumorigenicity by human papillomavirus type 16 E6 and E7 in transgenic mice correlates with alterations in epithelial cell growth and differentiation. *J Virol* 1993; 67:1373-84.
3. Yutsudo M, Okamoto Y, Hakura A. Functional dissociation of transforming genes of human papillomavirus type 16. *Virology* 1988; 166: 594-7.
4. Mcnicol P, Guijon F, Wayne S, *et al.* Expression of human papillomavirus type 16 E6-E7 open reading frame varies quantitatively in biopsy tissue from different grades of cervical intraepithelial neoplasia. *J Clin Microbiol* 1995; 339(5): 1169-73.
5. Nomine´ Y, Masson M, Charbonnier S, *et al.* Structural and Functional Analysis of E6 Oncoprotein: Insights in the Molecular Pathways of Human Papillomavirus-Mediated Pathogenesis. *Mol Cell* 2006; 21: 665–78.
6. Sedman SA, Barbosa MS, Vass WC, *et al.* The full-length E6 protein of human papillomavirus type 16 has transforming and trans-activating activities and cooperates with E7 to immortalize keratinocytes in culture. *J Virol* 1991; 65(9): 4860-6.
7. Pim D, Banks L. HPV-18 E6*I protein modulates the E6-directed degradation of p53 by binding to full-length HPV-18 E6. *Oncogene* 1999; 18(52): 7403-8.
8. Pim D, Massimi P, Banks L. Alternatively spliced HPV-18 E6* protein inhibits E6 mediated degradation of p53 and suppresses transformed cell growth. *Oncogene* 1997; 15(3): 257-64.
9. Guccione E, Pim D, Banks L. HPV-18 E6*I modulates HPV-18 full-length E6 functions in a cell cycle dependent manner. *Int J Cancer* 2004; 110(6): 928-33.
10. Storrs CH, Silverstein SJ. PATJ, a tight junction-Associated PDZ Protein, is a Novel Degradation Target of High-Risk Human Papillomavirus E6 and the Alternatively Spliced Isoform 18 E6*. *J Virol* 2007; 81(8): 4080–90.
11. Kanda T, Watanabe S, Zanma S, *et al.* Human papillomavirus type 16 E6 proteins with glycine substitution for cysteine in the metal-binding motif. *Virology* 1991; 185: 536–43.
12. Sherman L, Schlegel R. Serum- and calcium-induced differentiation of human keratinocytes is inhibited by the E6 oncoprotein of human papillomavirus type 16. *J Virol* 1996; 70: 3269–79.
13. Tao M, Kruhlak M, Xia S, *et al.* Signals that dictate nuclear localization of human papillomavirus type 16 oncoprotein E6 in living cells. *J Virol* 2003; 77(24): 13232-47.
14. Vaeteewoottacharn K, Chamutpong S, Ponglikitmongkol M, *et al.* Differential localization of HPV16E6 splice products with E6-associated protein. *Virol J* 2005; 2: 50.

Expression and Possible Role of CD44 in Cholangiocarcinoma Cell Line.

Pongsanat Pongcharoen¹ and Rutaiwan Tohtong¹

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Payathai Campus, Ratchathewi, Thailand

ABSTRACT

Cholangiocarcinoma is a cancer of the bile duct and is a major health problem in the north-eastern part of Thailand. CD44 is a family of cell surface adhesion molecule, consisting of numerous members generated by alternative splicing of a single gene. Expression of CD44 variant isoforms has been implicated in tumorigenesis as well as in the invasiveness and metastatic potentials of many tumor types. Although CD44 has been shown to bind to many ligands, the major one is hyaluronic acids (HA), a sugar which is a component of the extracellular matrix (ECM). In this project, we investigated if CD44 plays a role in regulating the metastatic property of cholangiocarcinoma, using a cell line, KKU-M213, as a model. We showed that CD44 was expressed in KKU-M213 using RT-PCR and immunofluorescence microscopy. Furthermore, we demonstrated that the invasiveness of KKU-M213 was dependent on HA concentrations, suggesting that this process was mediated by CD44.

Using RT-PCR and primers specific to standard exons 5 and 16, which are present in all CD44 transcripts, two weak bands of 569 bp and 965 bp were detected, whereas immunofluorescence staining of live cells with CD44-FITC polyclonal antibodies specific to all CD44 forms showed weak expression at the cell membrane of KKU-M213. *In vitro* invasion assay revealed that increasing concentrations of HA (50-200 µg/ml) significantly enhanced invasion of KKU-M213 cells through artificial extracellular matrix (Matrigel), where 50 µg/ml HA augmented the invasiveness of KKU-M213 cells by 70 percent compared to control (no HA). However, the invasiveness dropped at higher concentrations HA (100 µg/ml and 200 µg/ml, respectively).

These data indicated that the KKU-M213 cells expressed CD44 which are likely to be responsible for the HA-dependent activation of the cancer cell invasiveness.

Keywords: CD44, cholangiocarcinoma, extracellular matrix, hyaluronic acid, invasion

***Corresponding author :**

Associate Professor Rutaiwan Tohtong

Address: Department of Biochemistry Faculty of Science, Mahidol University.

272 Rama VIRd., Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand

Telephone: 02-2015606 E-mail: rutaiwan@gmail.com

Introduction

Cholangiocarcinoma is a malignancy of the bile duct epithelium. The tumor arises from the ductular epithelium of the biliary tree, either within the liver (intrahepatic cholangiocarcinoma) or more commonly from the extrahepatic bile ducts (extrahepatic cholangiocarcinoma) (Lazaridis and Gores, 2005; Khan *et al.*, 2005). In most cases of cholangiocarcinoma, the stimulating cause is unknown, but chronic inflammation and cellular injury within bile ducts, together with partial obstruction of bile flow, exhibited in high-risk condition for cholangiocarcinogenesis such as primary sclerosing cholangitis (PSC), hepatolithiasis and liver fluke infestation by *Opisthorchis viverrini* or *Clonorchis sinensis*, Caroli's disease and congenital choledochal cysts, clearly seem to be relevant predisposing factor in pathogenesis of cholangiocarcinoma. The prevalence of cholangiocarcinoma is the highest in regions of East Asia where *O. viverrini* are endemic. In these areas, infestations with the liver flukes are associated with intrahepatic stones and cholangiocarcinoma (Sirica AE., 2005). Cholangiocarcinoma is particularly common in the northeastern region, and has been associated with infection by liver fluke *Clonorchis sinensis* and *Opisthorchis viverrini*. The habit of eating uncooked cyprinoid fish which are infected with the flukes underlies the high prevalence of cholangiocarcinoma in northeastern Thailand (Watanapa, P. and Watanapa, W.B., 2002; Vatanasapt *et al.*, 2002; Sripa and Pairojkul, 2008).

Cholangiocarcinoma exhibits a high mortality rate due to the late clinical presentation and the lack of effective non-surgical therapeutic modalities. Most patients have unresectable disease at presentation and usually die within 12 months. Overall survival rate, including resected patients, is poor, with less than 5% of patients surviving to 5 years, a rate which has not changed significantly over the past 30 years. Moreover, cholangiocarcinoma is associated with high rates of local and distant metastasis

(Anderson *et al.*, 2004). Ashida K. *et al.*, 1998 showed that CD44, a cell surface adhesion molecule, was not expressed at the cell membrane of normal intrahepatic bile ducts. Instead, CD44 was frequently expressed at the membrane of cholangiocarcinoma cells and much less frequently in the cholangiocarcinoma cytoplasm. It was suggested that CD44 was neoexpressed during carcinogenesis of cholangiocarcinoma (Ashida *et al.*, 1998).

CD44 is a type I transmembrane cell surface glycoprotein consisting of a single polypeptide chain. It is encoded by a single gene, with alternative splicing providing the potential for multiple isoforms. The human CD44 gene has been mapped to the chromosomal locus 11p13 and is composed of two groups of exons. One group, comprising exons 1–5 and 16–20, are spliced together to form a transcript that encodes the ubiquitously expressed standard isoform (abbreviated as CD44s). The 10 variable exons 6–15 (also known as v1–10) are alternatively spliced and included within the standard exons at an insertion site between exons 5 and 16. CD44 is expressed throughout development on many different cell types including hematopoietic cells, fibroblasts, some epithelial and endothelial cells, and cells in the central nervous system (Goodison *et al.*, 1999). Changes in CD44 expression, including up-regulation, down-regulation and changes in the isoforms, have been associated with tumor progression, invasion, and metastasis as well as with patients survival. However, some reports did not find any relationship between CD44 expression and tumor behavior. Proposed functions of cell surface CD44 include participation in cell adhesion and migration, lymphocyte activation, assembly of extracellular matrix (ECM), and metastatic behavior of tumor cells (Marhaba and Zoller, 2004). CD44 and its principal ligand, hyaluronic acid (HA), are broadly distributed in the body. The expression of multiple CD44 isoforms and the resulting HA binding profile can influence tumor growth and development (Pure and Cuff, 2001). The role of CD44 has been directly demonstrated by silencing of CD44 expression using siRNA in breast,

prostate and colon cancer (Draffin *et al.*, 2004; Subramaniam *et al.*, 2007). Although the expression pattern of CD44 has been examined in cholangiocarcinoma, whether it has a role in regulating cholangiocarcinoma growth or invasiveness has not been determined.

Objective

1. To examine CD44 expression patterns in KKU-M213 cell line, both at the mRNA and protein levels.

2. To determine if CD44 mediates HA-dependent invasiveness of KKU-M213 cells.

MATERIALS AND METHODS

Part I: Cell culture

KKU-M213 cell line was established from a patient with adenosquamous carcinoma by Dr. Banchoh Sripa, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University.

Maintenance of cell lines and cell culture: KKU-M213 cells were grown as a monolayer in HAM's F-12 medium, supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS). The cell cultures were incubated under 5% atmosphere at 37°C and subcultured two to three times per week.

Determination of cell number: The numbers of cells were counted by using trypan blue dye exclusion methods. The basis of this technique is that, living cells are able to exclude trypan blue, while dead cells cannot. Thus live cells would appear white, while dead cells would appear blue. After staining, the medium was removed from culture and rinsed twice with Phosphate Buffer Saline (PBS) pH 7.4. Cells were harvested using 1 ml trypsin-EDTA solution (0.25% trypsin-0.02% EDTA) and incubated at 37°C for 3-5 minutes or until cells detached. Fresh medium was added and drawn up and down with pipette until cells were completely dispersed. The cell suspension was transferred to a chamber of hemacytometer. The viable cells were counted in the five corners. The number of cells (cells/ml) was calculated by:

(Total number of cells in 5 corners / 5) × 10⁴ × dilution factor

Part II: To study CD44 mRNA and protein expression in cholangiocarcinoma cell line

RNA preparation: 10⁶ cells were seeded on to a culture dish and incubation for 24 hours before being washed in PBS, trypsinized and collected from culture dish. Total cellular RNA was extracted using RNeasy Mini kit (GE Healthcare), quantitated and assessed for the purity by spectrophotometry.

1 A260 unit = 40 µg/ml (single strand RNA)

Reverse transcriptase reaction (RT-PCR): One microgram of total RNA was used in each reaction for all samples. All RT reactions were carried out with oligo-dT priming to target transcription of polyadenylated mRNA. The reaction was performed at 70°C for 5 minutes followed by an incubation at 4°C for 5 minutes. Then RT reaction master mix was added into the RNA target and incubated at 25°C for 5 minutes, 42°C for 60 minutes, and followed by the termination reaction at 70°C for 15 minutes. cDNA was stored at -20°C before performing PCR reaction.

Polymerase chain reaction (PCR): To detect CD44 transcripts, PCR reaction was performed using 1 µl of cDNA as a template, and forward CD44 primer (5' GAT GGA GAA AGC TCT GAG CAT C 3') and reverse CD44 primer (5' TTT GCT CCA CCT TCT TGA CTC C 3') specific for exons 5 and 16, respectively. To detect β-actin transcript, PCR reaction was performed using 1 µl of cDNA, and forward β-actin primer (5' TCT TCC AGC CTT CCT TCC T 3') and reversed β-actin primer (5' AGC ACT GTG TTG GCG TAC AG 3'). The PCR reaction was set up as follows: 1 cycle of denaturing at 95°C for 5 minutes followed by 25 cycles of 94°C for 60 seconds, 56°C for 60 seconds and 72°C for 90 seconds, before a final primer sequence extension incubation at 72°C for 5 minutes. RT-PCR reactions were set up in Minicycler™ model PTC-1152. PCR amplicons were

analysed by running on a 2% agarose gel electrophoresis

Fluorescent staining of live cells: 3×10^5 cells were seeded on coverslips in a 35-mm dish for 24 hours. The next day, cells on the coverslip were washed with HAM's F-12, blocked with 4% bovine serum albumin (BSA) in HAM's F-12 for 1 hour, and incubated with fluorescein isothiocyanate (FITC) anti-mouse/human CD44 at a dilution 1: 100 in 1% BSA in HAM's F-12 for 1 hour. After that, cells were washed and fixed with 4% paraformaldehyde in PBS for 15 minutes, followed by a nuclear staining with TOPROIII (1: 5000) for 1 hour. After washing, coverslips were mounted with Slow-Fade in glycerol-PBS (Molecular Probes). Immunofluorescence signals were analysed by confocal fluorescent microscopy.

Part III: Biological assay

In vitro invasion assay: Invasion assays were performed using Transwell with a 6.5 mm diameter polyvinyl pyrrolidone (PVP)-free polycarbonate filter of 8 μm pore size. The filter was coated with 30 μg Matrigel in 100 μl serum free medium, mixed with 0, 50, 100, and 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of HA. Matrigel (with or without HA) was left to gel to form a thin layer at 37°C, 5% CO₂ in an incubator overnight. The next day, the Matrigel layer was reconstituted with 100 μl of serum free medium at room temperature for 90 minutes at 37°C. Excess medium was removed from the filters prior to use. Cancer cells were freshly harvested by trypsinization, and viable cell were counted before 1×10^5 cells suspended in culture medium without FBS were added to the upper compartment of the Transwell. The lower chamber contained 600 μl of culture medium containing 10% FBS. After 6 hours of incubation at 37°C, 5% CO₂ atmosphere, non-invasive cells on the upper surface of the filter were wiped away using cotton swabs. The cells that had invaded into the lower surface were fixed with 25% methanol for 30 minutes, stained with 0.5% crystal violet for 1 hour, and destained with tap water 2-3 times. The invaded cells in each well were counted in five fields under a light microscope.

RESULTS AND DISCUSSIONS

Using primers specific to exons 5 and 16 which are common to all CD44 transcripts, at least two weak bands of 569 bp and 965 bp were detected in KKU-M213 using RT-PCR and agarose gel electrophoresis (Fig. 1). The expected size of amplicon from the CD44s transcript is 569 bp. The 965 bp was likely generated by inclusion of one or more variable exons. Our data suggested that KKU-M213 cell line expressed CD44 mRNAs, corresponding to the standard form and at least 1 variable isoform of CD44.

We also examined the expression of CD44 protein by immunofluorescence staining of live cells using a polyclonal CD44-FITC antibody specific to all forms of CD44. As shown in Fig. 2, green staining corresponding to CD44 protein was detected on the cell membrane, although the signal was quite weak. Consistent with RT-PCR data, KKU-M213 expressed low level of CD44 protein on the cell membrane.

Since CD44 protein was detected in KKU-M213 cell membrane, we tested if CD44 was involved in the invasiveness of this cell line by assessing the *in vitro* invasiveness of KKU-M213 in the presence of various concentrations of HA. Since HA is the principal ligand of CD44, we expected that increasing concentrations of HA would result in a corresponding increase of invasiveness. Our data showed that 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of HA resulted in a 1.7 folds increase of *in vitro* invasion of KKU-M213 cells compared to control (the condition without HA). Stimulation by higher concentrations of HA (100 and 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$, respectively) also increased the invasiveness compared to control, although the extent of the increase was reduced compared to that stimulated by 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ HA. Our results were in agreement with Radotra *et al.*, where incorporation of HA into Matrigel increased the rate of invasion of glioma cells, by 70 percent. The increase was dose-dependent up to a concentration of 200 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ of HA, although the activation was reduced at higher concentrations (Radotra *et al.*, 1997). It has been proposed that, in area of tumor invasion, HA is present at a high concentration and

degradation of the ECM takes place actively (Gayol *et al.*, 2001 and Underhill, 1992). However, excess HA binding to CD44 can activate internalization and delivery to lysosome, leading to impaired cell invasion (Knudson *et al.*, 2001).

KKU-M213 expressed at least two CD44 isoforms on the KKU-M213 cell membrane. *In vitro* invasiveness of KKU-M213 was activated by HA. Maximum activation was attained at 50 $\mu\text{g/ml}$ HA, but this activation declined at higher concentrations of HA.

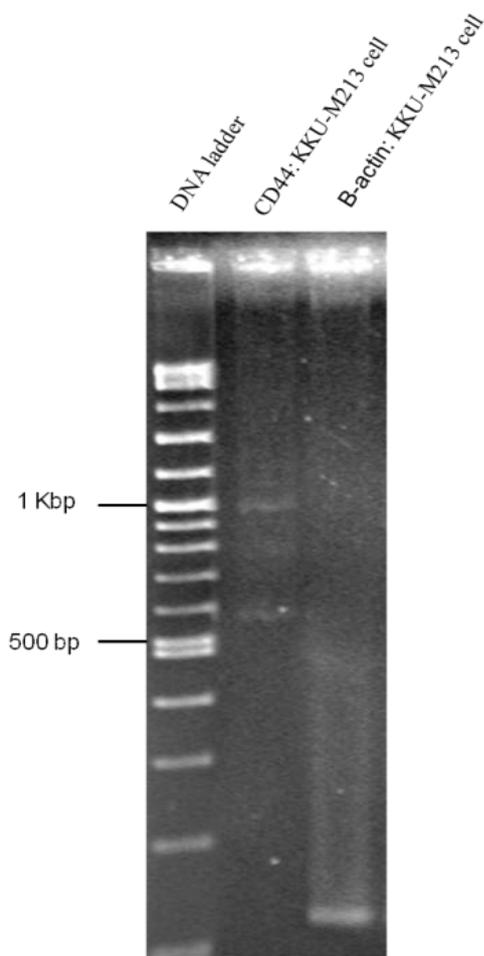


Figure 1 Detection of CD44 mRNA in KKU-M213 by RT-PCR and agarose gel electrophoresis. The RT-PCR amplicons were separated on a 2% agarose gel electrophoresis. PCR amplicons of 569 bp and 965 bp were detected. The 569 bp amplicon corresponded to the size of the CD44s mRNA. The 965 bp amplicon is likely a variable isoform of CD44. β -actin was used an internal loading control.

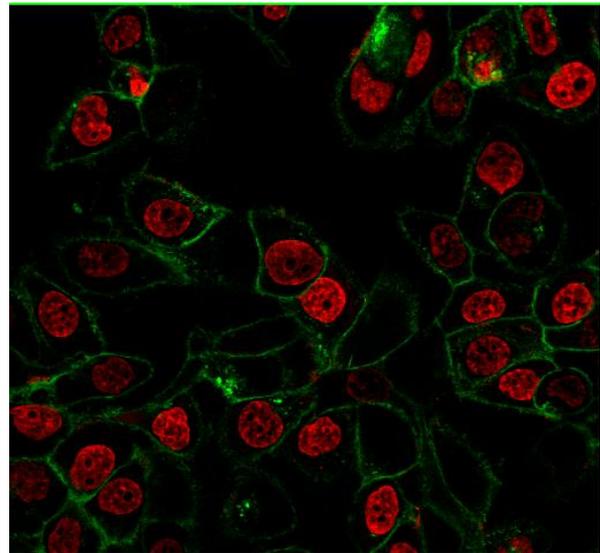


Figure 2 Expression of CD44 in KKU-M213 as determined by Immunofluorescence staining of live cells, 60 \times magnifications, Green color: FITC anti-mouse/human CD44, Red color: TOPROIII (nuclear staining)

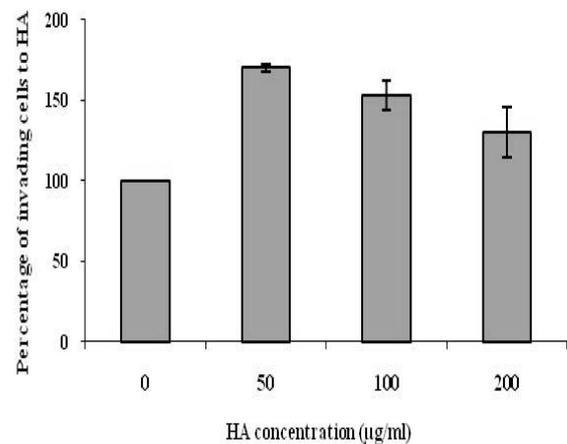


Figure 3 Activation of *in vitro* invasion of KKU-M213 by HA; bars, SE.

References

1. Lazaridis, K. and Gores, G. 2005. Cholangiocarcinoma. *Gastroenterology* 128: 1655-1667.
2. Khan, S., Thomas, H., Davidson, B. and Taylor-Robinson, S. 2005. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 366: 1303-1314.
3. Sirica, AE. 2005. Cholangiocarcinoma: molecular targeting strategies for chemoprevention and therapy. *Hepatology* 41: 5-15.
4. Watanapa, P. and Watanapa, W.B. 2002. Liver fluke-associated cholangiocarcinoma. *Surgery* 89: 962-970.
5. Vatanasapt, V., Sriamporn, S. and Vatanasapt, P. 2002. Cancer control in Thailand. *Clinical Oncology* 32 (1): 82-91.
6. Sripan, B. and Pairojkul, C. 2008. Cholangiocarcinoma: lessons from Thailand. *Gastroenterology* 24: 349-356.
7. Anderson, C., Pinson, C., Berlin, J. and Chari, R. 2004. Diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma. *Oncologist* 9: 43-57.
8. Ashida, K., Terada, T., Kitamura, Y. and Kaibara, N. 1998. Expression of E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and CD44 (standard and variant isoforms) in human cholangiocarcinoma : an immunohistochemical study. *Hepatology* 27 (4): 974-982.
9. Goodison, S., Urquidi, V. and Tarin, D. 1999. CD44 cell adhesion molecules. *Clinical Pathology* 52: 189-196.
10. Marhaba, R. and Zoller, M. 2004. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation. *Molecular Histology* 35: 211-231.
11. Pure, E. and Cuff, C. 2001. A crucial role for CD44 in inflammation. *Molecular Medicine* 7 (5): 213-221.
12. Draffin, J., McFarlane, S., Hill, A., Johnston, P. and Waugh, D. 2004. CD44 Potentiates the Adherence of Metastatic Prostate and Breast Cancer Cells to Bone Marrow Endothelial Cells. *Cancer Research* 64: 5702-5711.
13. Subramaniam, V., Vincent, I., Gilakjan, M. and Jothy, S. 2007. Suppression of human colon cancer tumors in nude mice by siRNA CD44 gene therapy. *Experimental and Molecular Pathology* 83: 332-340.
14. Radotra, B. and McCormick, D. 1997. Glioma invasion *in vitro* is mediated by CD44-hyaluronan interactions. *Pathology* 181: 434-438.
15. Gayol, A. and Jothy, S. 2001. Effects of hyaluronan on the invasive properties of human breast cancer cell *in vitro*. *Pathology* 82: 193-200.
16. Underhill, C. 1992. CD44: The hyaluronan receptor. *Cell science* 103: 293-298.



Oral Presentation

Adsorption of Chromium (Cr^{6+}) Using Durian Peel

Saueprasearsit P^{1*}, Sirichun S¹, Weerapid S¹

¹ Faculty of Environment and Resource Studies, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand

ABSTRACT

This research aimed to study chromium (Cr^{+6}) adsorption in aqueous solution by using durian peel. Cr^{+6} is a significant heavy metal and widely used in various industries. It can damage to human health and the environment. In the experiments, adsorption parameters including pH, contact time and initial Cr^{+6} concentration were studied in the batch technique. Moreover, adsorption isotherms as Langmuir and Freundlich isotherms were used to study adsorption capacity and mechanism. Adsorption kinetics equations as Pseudo-first and –second order were studied kinetic mechanism. Moreover, 0.1 M hydrochloric solution (HCl) was used to desorb Cr^{+6} for determining the suitable method for spent adsorbent management. The results showed that appropriate condition for Cr^{+6} adsorption by durian peel as pH 2, contact time 30 minutes and the initial Cr^{+6} concentration 75 mg/l. Langmuir isotherm was fitted better than Freundlich isotherm. In addition, the Cr^{+6} adsorption was monolayer on surface of durian peel and adsorption capacity was 10.78 mg/g of durian peel. The pseudo-second order kinetic model was found to be more suitable than the pseudo-first order kinetic model. From this study, the adsorption mechanism rate related with chemical reaction and adsorption mechanism. The mechanism was divided to be 2 steps. The 1st first step, Cr^{+6} passed through liquid phase to film layer by bulk transport. Then, Cr^{+6} passed through film layer to surface of adsorbent and adsorbed on the surface. The Cr^{+6} desorption efficiency was 5.44 for using 1 M HCl. The results indicated that used adsorbent should be stabilized, cemented and impressed in secure landfill.

Keywords: Adsorption, Chromium (Cr^{+6}), Durian Peel

***Corresponding Author:**

ดร.ปานใจ สือประเสริฐสิทธิ

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอเมือง

จังหวัดมหาสารคาม รหัสไปรษณีย์ 44000 โทรศัพท์/โทรสาร (043) 742135 โทรศัพท์มือถือ (089) 9441833

E-mail: Panjai.s@mau.ac.th

Detection of Bacteria in the Rumen That Degraded Toxic of *Leucaena* in Goats and Sheep: Experience in Thailand

Jetana T^{1*} · Usawang S¹ · Thongruay S¹ · Sornprasit P²

¹Research and Development Center for Livestock Production Technology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Henri Dunant street, Phatumwan, Bangkok 10330, Feed and

²Forage Analysis Section, Animal Nutrition Division, Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperation, Rachatawi, Bangkok 10400.

ABSTRACT

Mimosine is a toxic non-protein amino acid occurring in plant genus of *Leucaena*. *Leucaena leucocephala*, a tropical leguminous shrub, contains that substance. It can be readily hydrolysed in the rumen to produce two toxin substances, 3, 4-hydroxy-4 (1H)-pyridone (3, 4-DHP), a potent goitrogen and 2, 3-hydroxy-4 (1H)-pyridone (2, 3-DHP). Successful utilization of leucaena as a feed for ruminants depends on colonization of *Synergistes jonesii* that degrade DHP compounds in the rumen, which are able to detoxify those toxin substances. In generally, populations of microorganisms in the rumen of animals in some parts of Thailand, there are no bacteria that are able to carry out this degradation. There are usually two methods for testing the presence of DHP degraders in ruminal populations that are (i) based on degradation (loss) of mimosine and DHP compounds from culture media and (ii) based on the presence of mimosine and DHP excretion in the urine.

This study thus aims to compare the reliability of the field test between the cultural media test and the urine spot sampling test for the detection of *Synergistes jonesii* in the rumen of goats and sheep. Results demonstrate though that the cultural media test needed some modifying equipments. The chemicals used are rather expensive, but the results are reliable. The urine spot sampling test however is simple, the equipments and chemicals used are cheaper than the cultural media test, but the results may be variable due to the contaminations of some leucaena leaves, the tannins in leucaena or other leaves, soils and faeces in the urine.

Keywords: DHP-degrading bacteria, Dihydroxypyridine, Field Tests, Goat, *Leucaena*, Mimosine, Sheep, *Synergistes jonesii*

*Corresponding Author:

ดร.ทองสุข เจตนา

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน

จังหวัด: กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10330

โทรศัพท์: 02-218-9739 (Mobile 081-491-1299) โทรสาร: 02-251-8936

E-mail: Thongsuk.J@Chula.ac.th

Sub Acute Toxicity Test of Galangin and Ceftazidime in Mice

Duangkham A¹, Eumkebg G^{1*}.

¹School of Biology, Institute of Science, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, Thailand

ABSTRACT

Galangin is a one of several naturally-occurring flavonols, which is a member of flavonoid family. It is important constituents of the normal human diet and also has various pharmacological properties. However, *in vivo* toxicity test of galangin have not been studied. Thus, the purpose of this study is to investigate the toxicity of galangin alone and in combination with ceftazidime antibiotic *in vivo*. The mice were administered intraperitoneally (i.p.) with galangin alone at 10 and 20 mg/kg BW/day (group 1 and group 2 respectively) and in combination with ceftazidime at 10 mg/kg BW/day galangin plus 160 mg/kg BW/day ceftazidime (group 3) and 20 mg/kg BW/day galangin plus 320 mg/kg BW/day ceftazidime (group 4), twice daily for 14 days. At the end of the experiments, blood and the selected main organs were collected for haematological and histological analysis. There was no significant difference in either the growth rate measured by living body weight or the relative weight of the selected main body organs of mice treated with all doses of galangin alone or in combination with ceftazidime, when compared with the control. The histology of the liver, spleen, heart, kidney and stomach all exhibited a normal appearance in comparison with the control. The blood chemistry marker assayed showed no significant difference ($p < 0.05$) in all treated groups except for the decrease in haematocrit (Hct) level which were significant difference ($p < 0.05$) in all treated groups.

Keywords: Flavonoids, Galangin, Ceftazidime, Subacute toxicity, Mice

***Corresponding Author:**

Asst. Prof. Dr. Griangsak Eumkebg

School of Biology, Institute of Science, Suranaree University of Technology,
Nakhon Ratchasima, Thailand

Tel.: +6644224633; fax: +6644224633.

E-mail: griang@sut.ac.th

***GSTM1* and *P53* codon 72 Polymorphisms and Risk of Colorectal Cancer in Thai Population**

Tiwawech D^{1*}, Sumetchotimaytha W², Jarratwisarutporn Y³, Ishida T.⁴

¹Research, ²Surgery and ³Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

⁴Unit of Human Biology and Genetics, Department of Biological Sciences, School of Science, University of Tokyo, Tokyo, Japan.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is a serious malignancy in Thailand. Recently, glutathione-S-transferase mu1 gene (*GSTM1*) and *P53* codon 72 gene (*P53cd72*) polymorphisms have been found to be associated with several cancers including CRC. The aim of this study is to evaluate the association of *GSTM1* and *P53cd72* polymorphisms with the risk of CRC in Thai population. The frequencies of *GSTM1* genotypes [*GSTM1* present genotype (*GSTM1+*) and *GSTM1* null genotype (*GSTM1-*)] and *P53cd72* genotypes [*Arginine/Arginine* genotype (*A/A*), *Arginine/Proline* genotype (*A/P*) and *Proline/Proline* genotype (*P/P*)] from 200 cases of CRC and 400 age-matched healthy control were analyzed by using polymerase chain reaction (PCR) and PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), respectively. In overall, the frequencies of *GSTM1* genotypes of *GSTM1* polymorphism in CRC group was significantly different from control group. In addition, *GSTM1-* carriers had increased risk for CRC at 2.1-fold as compared to *GSTM1+* carriers. Similarly, the overall of frequencies of *P53* genotypes of *P53cd72* polymorphism in CRC group was significantly different from control group. The *P/P* carriers had increased risk for CRC at 2.0-fold as compared to *A/A* carriers. The results of this study suggest that *GSTM1* and *P53cd72* polymorphisms were associated with the risk of CRC. *GSTM1-* and *P/P* genotypes increased risk of CRC and may be the useful predictive markers for screening of the high risk group of CRC in Thai population.

Keywords: colorectal cancer, *GSTM1* polymorphism, *P53* codon 72 polymorphism

***Corresponding Author:**

Dr. Danai Tiwawech

Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400, Thailand.

E-mail: tdnai@hotmail.com

High Cadmium Exposure in Mae Sot's Population is Associated With High Anemia Prevalence.

Nambunmee K^{1*}, Nishijo M², Swaddiwudhipong W³, Ruangyuttikarn W⁴.

¹School of Health Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand

²Department of Public Health, Kanazawa Medical University, Ishikawa, Japan,

³Department of Community and Social Medicine, Mae Sot General Hospital, Tak Province, Thailand,

⁴Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

ABSTRACT

Residents of the Mae Sot district, Tak province in Thailand are exposed to high levels of cadmium (Cd), a toxic metal that is contaminated in the soil and rice in this region. We hypothesized that chronic Cd exposure was a risk factor for enhancement of anemia prevalence. Blood (B) and urinary (U) -Cd levels in addition to biomarkers of renal tubular dysfunction [U- β_2 -microglobulin (β_2 -MG) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG)], glomerular dysfunction (serum cystatin C) and anemia (hemoglobin <13 g/dl in men, <12 g/dl in women) in 700 subjects (261 men, 439 women) with a history of elevated U-Cd were assayed. The results showed that average levels of B-Cd (6.71 ± 1.84 $\mu\text{g/l}$ in men, 4.94 ± 2.02 $\mu\text{g/l}$ in women) was higher than reported Cd levels from a normal Thai population (0.45-2.11 $\mu\text{g/l}$). U-Cd levels were 3 times higher than the safe level of 2 $\mu\text{g/gCr}$, established by the WHO. Anemia was found in 60 men and 102 women. In anemic subjects, U-Cd was significantly higher than non-anemic subjects. In addition, concentrations of β_2 -MG showed a stronger relation to an increase of anemia prevalence than the NAG and cystatin C. Women with β_2 -MG levels >1,000 $\mu\text{g/gCr}$ were 2.77 times more likely to be anemic than women with β_2 -MG levels <400 $\mu\text{g/gCr}$, whereas the probability in men was 1.61. Therefore, we concluded that prevalence of anemia among the subjects was higher than Thai general population and associated with the elevated cadmium levels. Clinical interventions should be implemented in the Mae Sot community to prevent severe anemia and cadmium intoxication.

Keywords: cadmium, anemia prevalence, Mae Sot

*Corresponding Author:

นายโกวิทช์ นามบุญมี

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง 333 หมู่ 1 ตำบลท่าสวด อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย 57100

โทรศัพท์: 053-916894 โทรสาร 053-916821

E-mail: nunt407@hotmail.com

Detoxification of Cadmium Induced Renal and Hepatic Injuries in Rats by *Thunbergia Laurifolia* Lindl. Leaf Extract.

Morkmek N¹, Chattaviya P¹, Lertprasertusuke N², Chuncharunee S³, Ruangyuttikarn W^{1*}

¹Division of Toxicology, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

³Department of Chemistry, Faculty of Science, Chiang Mai University, Thailand

ABSTRACT

Cadmium can damage kidney and liver cells. *Thunbergia laurifolia* Lindl. is a herb used as an antidote for several poisonous agents in Thai traditional medicine. This study investigated the effectiveness of the herb to prevent renal and hepatic injuries induced by cadmium chloride (CdCl₂). Male Wistar rats were fed 125 mg/kg of the leaf extract before and after administration of 1.2 mg/kg of CdCl₂ solution subcutaneously for 5 days/week for 4 weeks. Blood and urinary samples were collected for quantification of cadmium concentrations using graphite furnace atomic absorption spectrometer. The kidneys and livers were removed and examined for histopathological changes. The results showed that leaf extract given to rats orally did not prevent mortality in rats exposed to cadmium. However, abnormal appearance and behaviour was less in rats fed the leaf extract prior to cadmium exposure than in those fed leaf extract after cadmium exposure. The constituents of the extract were identified as aromatic, hexyl and glucoside compounds by nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR). The *T. laurifolia* leaf extract may reduce some effects of cadmium toxicity, but this conclusion is uncertain due to the high mortality rate of the rats in these experiments. Future studies will use a lower cadmium dosage and alternative routes of treating the animals with the leaf extract.

Keywords: cadmium, renal and hepatic injuries, *Thunbergia laurifolia* Lindl.

Full paper on page 115-123

*Corresponding Author:

Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn,

Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine,

Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand,

Email: werawan52@gmail.com

การรับรู้ถึงอันตรายและการปฏิบัติตนเพื่อป้องกันอันตรายจากยาฆ่าแมลงของชาวบ้านที่ปลูกดอกมะลิ และดอกพุด ตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

ยุพา ถาวรพิทักษ์^{1*}, กิ่งแก้ว เกษโกวิท²

¹ ภาควิชาชีวสถิติและประชากรศาสตร์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ภาควิชาบริหารงานสาธารณสุข คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ABSTRACT

หลักการและวัตถุประสงค์: การใช้ยาฆ่าแมลงที่ไม่ถูกต้องไม่เพียงเป็นอันตรายต่อสุขภาพของผู้ใช้เท่านั้น แต่ยังเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นอันตรายต่อบุคคลอื่น การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการรับรู้อันตรายและการปฏิบัติตัวเพื่อป้องกันอันตรายจากยาฆ่าแมลงในประชาชนที่ปลูกดอกมะลิ/พุด

วิธีการศึกษา: เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง สุ่มตัวอย่างประชาชนที่ปลูกมะลิ/พุด ใน 3 หมู่บ้านของตำบลศิลา อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 176 คนด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างอย่างง่าย เก็บรวบรวมข้อมูลด้วยวิธีสัมภาษณ์ วิเคราะห์ข้อมูลหา 95% ช่วงเชื่อมั่นของการรับรู้อันตรายและการปฏิบัติตัวไม่ถูกต้อง กรณีขนาดตัวอย่างเล็กสร้าง 95% ช่วงเชื่อมั่นแบบ Exact Binomial

ผลการศึกษา: ร้อยละ 25.6(95% CI 19.1-32.1) รับรู้อันตรายยาฆ่าแมลงในระดับต่ำ การปฏิบัติตัวที่ไม่ถูกต้องเพื่อป้องกันอันตรายจากยาฆ่าแมลงของผู้ปลูกมะลิและพุด พบว่า ร้อยละ 1.1 (95% CI 0-1.4) ใช้มือเปล่าคนยาฆ่าแมลง ร้อยละ 3.5(95% CI 0.7-9.8) ใช้ปากเปิดปากขูดยาฆ่าแมลง ร้อยละ 5.1 (95% CI 1.4-12.4) ใช้ปากเป่าหัวฉีดเมื่อเกิดการอุดตัน ร้อยละ 67.8 (95% CI 57.8-77.8)ผสมยาฆ่าแมลงหลายชนิดรวมกัน ร้อยละ 26.4 (95% CI 16.9-35.8)ขณะฉีดพ่นยาไม่สวมหน้ากากหรือใช้ผ้าปิดปากปิดจมูก ร้อยละ 81.2 (95% CI 71.4-91.0) เทน้ำที่ล้างอุปกรณ์ฉีดพ่นลงในแหล่งน้ำหรือพื้นดินใกล้แหล่งน้ำ ร้อยละ 34.5 (95% CI 24.3-44.5) เก็บดอกมะลิหรือพุดวันเดียวกับวันที่ฉีดพ่นยา ร้อยละ 43.2(95% CI 35.8-50.6) เคยมีอาการปวดหัว คลื่นเหียน มือสั่น ผื่นคัน เนื่องมาจากสัมผัสหรือสูดดมยาฆ่าแมลง การปฏิบัติตัวเพื่อป้องกันอันตรายจากยาฆ่าแมลงระหว่างชาวบ้านที่รับรู้อันตรายยาฆ่าแมลงในระดับที่สูงและต่ำแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ

สรุป: ชาวบ้านมีการปฏิบัติเกี่ยวกับการป้องกันอันตรายจากสารเคมีฆ่าแมลงที่ไม่ถูกต้องหลายอย่าง โดยเฉพาะการผสมยาฆ่าแมลงหลายชนิด เทน้ำล้างอุปกรณ์ฉีดพ่นลงในน้ำหรือใกล้แหล่งน้ำ ทำให้แหล่งน้ำมีสารพิษปนเปื้อน นอกจากนั้นสารเคมีฆ่าแมลงที่ตกค้างในดอกไม้เนื่องมาจากชาวบ้านไม่เว้นระยะไปเก็บดอกมะลิ/พุดหลังฉีดพ่นยา ทำให้ผู้อื่นในชุมชนหรือผู้ที่ซื้อดอกไม้มีโอกาสได้รับอันตรายจากยาฆ่าแมลง

Keywords: Pesticide Hazard perception

*Corresponding Author:

ผศ.ยุพา ถาวรพิทักษ์

คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 0-8170-2423 โทรสาร: 0-4336-2075 E-mail : yupa@kku.ac.th

การวิเคราะห์ปัญหาสภาพความเสี่ยงในห่วงโซ่การผลิตพริก

นริศรา ม่วงศรีจันทร์¹ เวนิกา เบ็ญจพงษ์^{1*} วีรยา การพานิช¹ และจันทิมา โพธิ¹

¹ สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม 73170

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทราบถึงปัญหาสภาพความเสี่ยงในห่วงโซ่การผลิตพริก โดยการรวบรวมข้อมูลทั้งจากการทบทวนวรรณกรรม และการสัมภาษณ์ข้อมูลเชิงลึก เพื่อใช้ในการวิเคราะห์สภาพปัญหาความเสี่ยงในห่วงโซ่การผลิตพริก จัดทำแผนภูมิเส้นทางการผลิต วิเคราะห์ระบุอันตรายและปัจจัยที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต และวิเคราะห์ความเสี่ยงของอันตรายในผลิตภัณฑ์ จากการสัมภาษณ์ ติดตามการปฏิบัติทางการเกษตรของเกษตรกรผู้ปลูกพริกตามแผนภูมิเส้นทางการผลิต รวมถึงความเหมาะสมของปัจจัยการผลิต และสิ่งแวดล้อมตามหลักเกณฑ์การจัดการคุณภาพการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดีสำหรับพืช (Good Agricultural Practices; GAP) ในเกษตรกรผู้ปลูกพริกในจังหวัดที่มีพื้นที่การเพาะปลูกพริกมาก 3 จังหวัด ได้แก่ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี และนครสวรรค์ พบว่าอันตรายสำคัญที่อาจปนเปื้อนในผลผลิตพริกสดที่ถูกกระจายสู่ผู้บริโภค คือ สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าเกษตรกรส่วนใหญ่มีการใช้สารป้องกันกำจัดศัตรูพืชในช่วงการเก็บเกี่ยว โดยพบสาร 9 ชนิดที่ใช้ในช่วงการเก็บเกี่ยว ได้แก่ อีพีเอ็น ฟอร์มีทานเท อีโทออน ไชเปอร์เมทริน อะบาเม็กติน โพรพิโนฟอส อิมิดาคลอพริด โพรไทโอฟอส และไทโอฟาเนต เมทิล ซึ่งเป็นสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีความเป็นพิษร้ายแรง 2 ชนิด ความเป็นพิษปานกลาง 5 ชนิด และเป็นสารประเภทดูดซึม (Systemic pesticide) 3 ชนิด นอกจากนี้ผลการศึกษาพบร้อยละ 75 ของเกษตรกรกลุ่มตัวอย่างมีการผลิตพริกแห้งจำหน่าย จากการศึกษามพบอันตรายสำคัญที่อาจปนเปื้อนในพริกแห้งที่ถูกกระจายสู่ผู้บริโภค คือ อะฟลาท็อกซิน เนื่องจากวิธีการตากและพฤติกรรมกรจำหน่ายไม่เหมาะสม ในการตากพริกเกษตรกรบางรายไม่มีวัสดุรอง ลานตากไม่สะอาด ไม่มีวัสดุคลุมกันความชื้น นอกจากนี้ปัญหาสำคัญที่พบคือ การจำหน่ายผลผลิตที่ด้อยคุณภาพ ได้แก่ พริกเสี้ยน เน่า หรือมีความเสียหายจากการเก็บเกี่ยวและการทำลายของศัตรูพืช โดยผลการศึกษามพบร้อยละ 73 ของเกษตรกรตัวอย่างที่ทำการผลิตพริกแห้งมีการจำหน่ายพริกแห้งในลักษณะดังกล่าวในราคาที่ถูกลง ทั้งนี้จากผลการสัมภาษณ์เกษตรกรพบว่า ผู้รับซื้อจะนำพริกแห้งด้อยคุณภาพไปผลิตเป็นพริกป่น หรือพริกไทยป่น ส่งขายในท้องตลาดต่อไป ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการได้รับอะฟลาท็อกซินในผู้บริโภคได้

คำสำคัญ: พริก สภาพความเสี่ยง การผลิต

*Corresponding Author:

ผศ.ดร. เวนิกา เบ็ญจพงษ์

สถาบันโภชนาการ ม.มหิดล ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์: 0 2800 2380 ต่อ 311 โทรสาร: 0 2441 9344

E-mail: nuwbe@mahidol.ac.th

Relationship of Acetaminophen Psi Parameter and Hepatotoxicity Secondary to Acute Acetaminophen Overdose in Thai Population

Chomchai S^{1*}, Chomchai C², Plubjai P¹

¹ Faculty of Medicine, Siriraj Hospital Mahidol University

² Mahidol University International College

ABSTRACT

Background: The risk of hepatotoxicity secondary to acute acetaminophen overdose is related to the dose of ingested acetaminophen, serum acetaminophen concentration and delay before the antidotal therapy with N-acetylcysteine is commenced. Psi(Greek letter Ψ) –parameter (Ψ), is a toxicokinetic parameter that takes the acetaminophen level([APAP]) and onset of NAC therapy into account and quantifies the pretreatment exposure to supratherapeutic paracetamol level, is proposed and found to be predictive of hepatotoxicity in patients treated with intravenous NAC.

Objectives: We are reporting the relationship of Ψ and hepatotoxicity in Thai population with acute acetaminophen overdose.

Method: This is a retrospective study of patients who presented to Siriraj Hospital with acute paracetamol overdose during January 2004 to June 2009. Ψ was calculated using the Ψ -calculator provided with original publication. Hepatotoxicity signified AST or ALT levels higher than 1000 IU/L. Univariate analyses were performed with t-test or chi-square test when appropriate. Multivariate analyses were performed with backward stepwise logistic regression.

Result: 127 patients were enrolled. The median (IQR) of ingested acetaminophen dose was 13173.91(9700-22045.45) g. Median (IQR) of NAC onset was 8.41(6.14-11.73) hours. Median (IQR) of Ψ was 3.907(1.861-7.10) (mmol/ L x hour). Univariate analysis revealed [APAP], onset of NAC therapy and Ψ as statistically significant predictors of hepatotoxicity. From logistic regression, Ψ gave the best predicting model.

Conclusion: Psi-parameter is a reliable prognostic tool to predict hepatotoxicity secondary to acute acetaminophen overdose treated with intravenous NAC in the Thai population, in addition to the Canadian population in the original work.

Key words: Paracetamol, Prognosis, Psi-parameter, Hepatotoxicity

* Corresponding Author:

ศส.สัมมน โฉมฉาย

ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ม.มหิดล 2

ถนนพหลโยธิน บางกอกน้อย จังหวัด: กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10700

โทรศัพท์: 0818314190 โทรสาร: 024115034

E-mail: siscd@mahidol.ac.th, schomchai@hotmail.com

Application of Psi-Nomogram in Predicting Risk of Hepatotoxicity in Paracetamol Overdose Patients treated with Intravenous N-acetylcysteine

Chomchai S^{1*}, Chomchai C², Plubjui P¹

¹ Faculty of Medicine, Siriraj Hospital Mahidol University

² Mahidol University International College

ABSTRACT

Background: Psi (Ψ)-parameter, a toxicokinetic parameter reflecting the pretreatment exposure to supratherapeutic paracetamol level, is predictive of hepatotoxicity in acute paracetamol overdose patients treated with intravenous N-acetylcysteine (NAC). Based on Psi, a hepatotoxicity risk nomogram is created to indicate discrete probability of developing hepatotoxicity secondary to acute acetaminophen overdose.

Objectives: We are reporting the outcomes of application of Psi-nomogram in predicting paracetamol-induced hepatotoxicity at Siriraj Hospital.

Method: Medical records of paracetamol poisoning cases at Siriraj Hospital during January 2004 to June 2009 were reviewed. Clinical data were plotted in the Psi-nomogram to determine the hepatotoxicity risk category. Risks of hepatotoxicity were analyzed for accuracy.

Results: 127 patients were enrolled. The paracetamol dose range from 4,500 to 50,000 mg (median (IQR) = 1373.91(97000.00-13173.91)). Time to treatment range from 2 to 24 hours (median (IQR) = 8.41(6.14-11.73)). Thirteen (10.2%) patients developed hepatotoxicity. Relative risk of hepatotoxicity at risk level above 10% and 50% were 11.96 and 7.31, respectively. The best cut-off point, when sensitivity is the priority, was risk level above 5% line, with sensitivity and specificity of hepatotoxicity of 100% and 60.53% respectively.

Conclusion: This is the first study in the world to validate Psi-Nomogram. Acetaminophen Psi nomogram is a novel clinical tool that is very sensitive to predict hepatotoxicity from acute acetaminophen overdose in patients treated with intravenous NAC. Moreover, it does not require special investigation.

Keywords: Paracetamol, Prognosis, Psi-Nomogram, Hepatotoxicity

*Corresponding Author

ศส.สัมพันธ์ โฉมฉาย

ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ม.มหิดล 2

ถนนพหลโยธิน บางกอกน้อย จังหวัด: กรุงเทพฯ รหัสไปรษณีย์ 10700

โทรศัพท์: 0818314190 โทรสาร: 024115034

E-mail: siscd@mahidol.ac.th, schomchai@hotmail.com



Abstracts

Poster Presentation

Mutagenic and Antimutagenic Activities of Aqueous Extract of *Moringa oleifera* Leaves

Charoensin S.^{1*} and Wongpoomchai R.²

1. Department of Biochemistry, Faculty of Medical Science, Phayao University, Phayao, Thailand.

2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai, University, Chiang Mai, Thailand.

ABSTRACT

Moringa oleifera is a cosmopolitan tree that grows in many tropical countries and useful for its various nutritional and pharmacological applications. In this study, aqueous extract of *M. oleifera* leaves was evaluated for its mutagenic and antimutagenic activities by Salmonella/microsome mutagenicity assay (Ames test). Mutagenic assay in *Salmonella typhimurium* (TA 98 and TA 100 as tester strains) with and without metabolic activation showed that 0.2-5 mg/plate of *M. oleifera* extract did not induce the growth of His⁺ revertant colonies in both strains, indicating the absence of mutagenicity. Therefore, antimutagenic activities of *M. oleifera* extract against the standard mutagens, aflatoxin B1 (AFB1) and 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)-acrylamide (AF-2) were tested in *S. typhimurium* TA98 strain. The number of His⁺ revertants/plate of *S. typhimurium* after incubation of *M. oleifera* extract (1-5 mg/plate) with AFB1 (0.1 µg/plate) was not different from positive control, however, 5 mg/plate of the extract exhibited the significant inhibition of the His⁺ revertant colonies (51.33% Inhibition) when incubated with AF-2 (0.01 µg/plate). It was clear from the present studies that aqueous extract *M. oleifera* was capable of antimutagenicity through the mechanism in which some active compounds contained might inhibit the mutagen penetration into *S. typhimurium* cells or neutralize the mutagenic potency prior to nucleus entering, thus protecting the hot-spot region of gene from mutation. Of the results obtained, the further studies will be forward to the investigations including antimutagenicity and cancer chemoprevention *in vivo*.

Keywords: *Moringa oleifera*, Mutagenicity, Antimutagenicity, and Ames test

Full paper on page 96 - 103

***Corresponding Author:**

Suphachai Charoensin

Division of Biochemistry, School of Medical Science University of Phayao

Phayao 56000 Thailand

Tel: 66-54-466666 ext. 1743-4

E-mail: oatsup@gmail.com

การศึกษาความเสถียรของ permethrin ในตัวอย่างเลือด

ศรินทร์พย์ จันทร์แก้ว¹, เบลจุมาศ จันทร์ฉวี^{2,3*}, สถาพร พงศนิพนธ์ฉาย²

¹ หลักสูตรนิติวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

² ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

³ สถาบันวิจัยผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

บทคัดย่อ

Permethrin เป็นสารกำจัดแมลงกลุ่ม synthetic pyrethroids สาร permethrin จะเกิดเมแทบอลิซึมที่ตับโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์คาร์บอกซิลเอสเทอเรสเปลี่ยนไปเป็น phenoxybenzyl alcohol เนื่องจากในเลือดมีเอนไซม์นี้อยู่ด้วยซึ่งอาจมีผลต่อความถูกต้องของการตรวจวัดระดับของ permethrin ในตัวอย่างเลือด ในงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาความเสถียรของ permethrin ในตัวอย่างเลือดโดยศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิโดยตั้งตัวอย่างเลือดทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25, 4 และ -20 °C ที่เวลา 0, 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับพบว่าที่อุณหภูมิ -20 °C trans-permethrin และ cis-permethrin มีค่า metabolic ratio (MR) น้อยที่สุด และที่อุณหภูมิเดียวกันที่เวลา 4 ชั่วโมง trans-permethrin และ cis-permethrin มีค่า MR มากที่สุด ศึกษาอิทธิพลของกรด trifluoroacetic acid (TFA) ที่อัตราส่วน 100: 1 และ 200: 1 และ HClO₄ ที่อัตราส่วน 50: 1, 100: 1, 200: 1, 225: 1 และ 250: 1 ตามลำดับ และศึกษาอิทธิพลของการรวมกับการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งโดยการเติมกรด HClO₄ ที่อัตราส่วน 200: 1, 225: 1 พบว่าผลของการเติมกรด HClO₄ ที่อัตราส่วน 200: 1 ร่วมกับการแช่ตัวอย่างเลือดในน้ำแข็งมีค่า MR น้อยที่สุด ดังนั้นสรุปได้ว่า permethrin ที่อยู่ในตัวอย่างเลือดมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและเมื่อใช้เวลานานขึ้นในการเตรียมตัวอย่างก่อนการสกัด และการเติมกรด HClO₄ ที่อัตราส่วน 200: 1 ร่วมกับการแช่ตัวอย่างเลือดไว้ในน้ำแข็ง ทำให้ permethrin มีความเสถียรมากที่สุด

คำสำคัญ permethrin, ความเสถียร, เลือด, pyrethroids, ไฮโดรไลซิส

Full paper on page 104 - 114

*Corresponding Author:

รศ.ดร. เบลจุมาศ จันทร์ฉวี

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

โทรศัพท์: 074-288171-2

E-mail: benjamas.j@psu.ac.th

Site-Directed Mutagenesis of HPV16 Spliced E6 Protein and Localization Patterns

Sirisrimangkorn S¹, Wanichwatanadecha P¹, Ponglikitmongkol M^{1*}

¹ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Rama VI road, Bangkok 10400, Thailand

ABSTRACT

Infection of cervical cells by high risk human papillomaviruses (HPVs), such as type 16 and 18, is a well-known cause of cervical cancer. E6 is one of the two main HPV oncoproteins responsible for cellular transformation and immortalization. The high risk HPV16 E6 gene generates a spliced form of 43 amino acids, so called E6-I, whose precise role is not known. Cellular localization of HPV16 E6 protein containing both full and spliced forms was previously shown to be dispersed in the nucleus and the cytoplasm, whereas full-form E6 protein was preferentially localized in the nucleus. In contrast, our previous results indicated that E6-I localized equally both in the nucleus and the cytoplasm. Based on amino acid sequence homology between E6-I and the N-terminus of E6, the E6-I protein contained only a weak nuclear localization signal whereas the full-form showed three of them, a combination of which generated strong signal. In this study, we generated E6-I variants by site-directed mutagenesis and examined their localization in a human embryonic kidney cell line, 293T, in order to determine residue(s) necessary for nuclear localization of the protein. Our results indicated that a weak nuclear translocation signal present in E6-I was not sufficient and that additional E6-I binding protein might be required for E6-I to enter the nucleus.

Keywords: HPV, spliced E6, nuclear localization

Full paper on page 154-161

*Corresponding Author:

Assoc. Prof. Mathurose Ponglikitmongkol, Ph.D.
Department of Biochemistry, Faculty of Science,
Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand.
Tel: +662-2015455 Fax: +662-3547174
E-mail: scmpl@mahidol.ac.th

การศึกษาระดับฮอร์โมน Testosterone Progesterone และ Oestradiol 17-B ในวัชพืชจากแปลงหญ้าเลี้ยงกระบือในจังหวัดฉะเชิงเทรา

วรรณวิภา สุทธิไกร^{1*} ราตรี จินตนา¹ สรรเพชญ์ โสภณ² สัจจพร อยู่สว่าง¹ และรัญจวน เสงตระกูลสิน³

1. โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนมและกระบือปลัก ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. สาขาวิชาสัตวบาลและพื้นฐานวิชาชีพ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีมหานคร
3. มูราห์ฟาร์ม ตำบลหนองไม้แก่น อำเภอแปลงยาว จังหวัด ฉะเชิงเทรา 24190

บทคัดย่อ

เป็นที่ยอมรับว่าฮอร์โมนจากพืชหลายชนิดมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ สุขภาพ และอัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาฮอร์โมนในพืชโดยเฉพาะ Steroids การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาระดับฮอร์โมน Testosterone (T) Progesterone (P4) และ Oestradiol 17-B (E2) ในวัชพืชที่ขึ้นปะปนในแปลงหญ้าเลี้ยงกระบือที่มูราห์ฟาร์มจังหวัดฉะเชิงเทราในเดือนสิงหาคม 2551 โดยการบดพืชด้วย Tissue Homogenizer และสกัดด้วย Diethyl ether และตรวจวัดระดับฮอร์โมนด้วยเทคนิค Radioimmunoassay (RIA) โดยศึกษาในส่วนของ ใบ ราก และลำต้น ผลจากการศึกษาวัชพืชที่พบมากในแปลงหญ้า 6 ชนิดคือ กะเม็ง ผักคราดหัวแหวน พันงูเขียว ผักโขมหนาม โทงเทง และสะอึก พบว่าในส่วนของใบ ราก และลำต้น มีค่า T อยู่ระหว่าง 0.44-1.39 0.18-0.77 และ 0.25-1.01 ng/g dry weight และ P4 ในส่วนของใบ ราก และลำต้น มีค่าอยู่ระหว่าง 4.48-20.36 12.2-36.11 และ 7.25-28.33 ng/g dry weight ตามลำดับ ส่วน E2 พบในส่วนของใบและลำต้นโทงเทง ใบรวมกับดอกผักคราดหัวแหวนเท่านั้น โดยมีค่า E2 เท่ากับ 29.32 20.79 และ 62.99 pg/g dry weight ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าวัชพืชในแปลงหญ้ามียุทธระดับฮอร์โมน T สูงในใบ ฮอร์โมน P4 สูงในราก และ E2 สูงในใบรวมกับดอกผักคราดหัวแหวน ซึ่งระดับฮอร์โมนที่ตรวจพบในวัชพืชเหล่านี้ น่าสนใจศึกษาต่อถึงผลกระทบที่เกิดขึ้นกับกระบือที่ปล่อยเลี้ยงในแปลงหญ้างดังกล่าว

คำสำคัญ Testosterone, Progesterone, Oestradiol 17-B, RIA, วัชพืช, แปลงหญ้า

*Corresponding Author :

นางสาววรรณวิภา สุทธิไกร

โครงการการใช้นิวเคลียร์เทคโนโลยีเพื่อส่งเสริมกิจการผสมเทียมโคนมและกระบือปลัก ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330 โทรศัพท์ 02-2189739 โทรสาร 02-2518936 E-mail swanvipa@chula.ac.th

Preclinical Safety Evaluation of *Stephanla Suberosa* Anti-Acne Solution Product

**Reungpatthanaphong S^{1*}, Phatvej W¹, Semathong T¹, Tantrawong A¹, Potduang B¹,
Tanpanich S²**

¹Pharmaceuticals and Natural Products Department,

²Lamtakhong Plant Research Station, Agricultural Technology Department,

Thailand Institute of Scientific and Technological Research

Technopolis, 35 M.3 Thanon Liab Klong 5, Khlong Luang, Pathumthani 12120, Thailand

ABSTRACT

Anti-acne solution product formulated from specific caudexes extract of 'Boraped Pungchang' (*Stephania suberosa* Forman, MENISPERMACEAE) was evaluated for preclinical safety following the OECD guidelines for testing of chemicals. The objective of this study was to evaluate and estimate dermal toxic effects of the anti-acne solution product in animal models. The rabbit 4h single application patch test of 50% diluted product (OECD Test Guideline 404: Acute Dermal Irritation) indicated that the anti-acne solution was not skin irritate. The guinea-pig skin sensitization test of 50% diluted product (OECD TG 406: Skin Sensitization) did not show any sensitizing activity compared to 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB). The Wistar rats acute dermal LD₅₀ was reported to exceed 2 g/kg body weight (OECD TG 402: Acute Dermal Toxicity test). From the results, we concluded that the anti-acne solution product did not produce skin irritation and skin sensitization in rabbits and guinea pigs, respectively. The dermal LD₅₀ of the anti-acne solution product in Wistar rats was more than 2,000 mg/kg body weight.

Keywords: Anti-acne solution, Boraped Pungchang, *Stephania suberosa*, MENISPERMACEAE, Toxicity test

***Corresponding Author:**

นางสรียา เรืองพัฒน์พงศ์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ฝ่ายเภสัชและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ 35 หมู่ 3

เทคโนโลยีธานี คลองห้า คลองหลวง ปทุมธานี 12120 10330

โทรศัพท์/โทรสาร 02-5779231 โทรศัพท์มือถือ 081-7617071

E-mail: noo_toxmu@hotmail.com

Expression and Possible Role of CD44 in Cholangiocarcinoma Cell Line

P. Pongcharoen¹ and R. Tohtong^{1*}

Department of Biochemistry, Faculty of Science, Mahidol University, Payathai camp, Ratchathewi, Thailand

ABSTRACT

Cholangiocarcinoma is a cancer of the bile duct, which is a major health problem in the north-eastern part of Thailand. CD44 is a family of cell surface adhesion molecule, consisting of numerous members generated by alternative splicing of a single gene. Expression of CD44 variant isoforms has been implicated in tumorigenesis as well as the invasiveness and metastatic potentials of many tumor types. Although CD44 has been shown to bind to many ligands, the major one is hyaluronic acids (HA), a sugar which is a component of the extracellular matrix (ECM). In this project, we investigated if CD44 plays a role in regulating the metastatic property of cholangiocarcinoma, using a cell line, KKU-M213, as a model. We examined CD44 expression in KKU-M213 using RT-PCR and immunofluorescence microscopy. Furthermore, we determined if CD44 mediates cancer cell invasiveness by assessing *in vitro* invasion of the KKU-M213 in response to HA activation, using *in vitro* invasion assay. Using RT-PCR, two weak bands of 569 bp and 965 bp were detected, where as immunofluorescence staining of live cells with CD44-FITC polyclonal antibodies specific to all CD44 forms showed weak expression at the cell membrane of KKU-M213. *In vitro* invasion assay revealed that increasing concentrations of HA (50-200 µg/ml) significantly enhanced invasion of KKU-M213 cells through artificial extracellular matrix (Matrigel), where 50 µg/ml HA augmented the invasiveness of KKU-M213 cells by 70 percent compared to control (no HA). However, the invasiveness dropped at higher concentrations HA (100 µg/ml and 200 µg/ml, respectively). These data indicate that the KKU-M213 cells expressed CD44 which activates the cancer cell invasiveness by binding to HA in the ECM.

Key words: CD44, cholangiocarcinoma, extracellular matrix, hyaluronic acid, invasion

Full paper on page 162-167

***Correspondings auther:**

รศ.ดร.ฤทัยวรรณ โต้ะทอง

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

โทรศัพท์/โทรสาร 02-2015606

E-mail: rutaiwan@gmail.com

Drinking *Thunbergia Laurifolia* Lindl. Leaf Extract Helps Preventrenal Toxicity Induced by Cadmium in Rats.

Chattaviriya P¹, Morkmek N¹, Lertprasertsuke N², Ruangyuttikarn W^{1*}

¹Division of Toxicology, Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand.

²Department of Pathology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Thailand

ABSTRACT

Thunbergia laurifolia Lindl. (TL) or Rang Jerd is a Thai herbal medicine used as an antidote for several poisonous agents. Cadmium (Cd) is an environmental pollutant in Mae Sot district, Tak province, Thailand. Chronic exposure to Cd causes renal and bone dysfunction in exposed human populations. In order to investigate whether TL leaf extract could help prevent Cd induced renal toxicity, two groups, each of six male Wistar rats, group 1 were injected subcutaneously with cadmium chloride solution at the concentration of 1.0 mg/kg BW for 20 days after administration of distilled water and group 2 were administration of TL leaf extract at 0.1 mg/ml in drinking water for 20 days before and during injection of CdCl₂ at the same concentration of group 1 for 20 days. The body weight of rats pretreated with TL leaf extract before Cd exposure was significantly ($p < 0.05$) greater than that of rats dosed with Cd alone. Although, TL leaf extract did not reduce the high levels of Cd in blood and urine of the Cd exposed rats, the rats pretreated with TL leaf extract before Cd dosing did not show the histopathological changes in the kidney that were observed in the Cd dosed rats. Therefore, this study demonstrated that TL leaf extract can protect against Cd induced structural damage in rat kidney and can also reduce other systemic toxicity. TL leaf extract may be useful for reducing Cd toxicity in human populations exposed to Cd in food and drinking water.

Keywords: Cadmium, *Thunbergia laurifolia* Lindl., Renal Toxicity, Rats

Full paper on page 124-132

***Corresponding author:**

Assoc. Prof. Dr. Werawan Ruangyuttikarn,
Department of Forensic Medicine, Faculty of Medicine,
Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand
Email: werawan52@gmail.com

ผลของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชต่อระดับซีรัมเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสและเอนไซม์จากตับในเกษตรกรไร่ยาสูบจังหวัดสุโขทัย

สะอาด โพธิ์อ่อน¹ ณัฐพงศ์ ศิริินวล¹ วิสุทธิ กังวานตระกูล² จินดารัตน์ ตระกูลทอง² ลี้มทอง พรหมดี^{2*}

¹ นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002

บทคัดย่อ

สุโขทัยเป็นจังหวัดที่เกษตรกรส่วนหนึ่งประกอบอาชีพทำไร่ยาสูบและกำจัดศัตรูพืชโดยใช้สารเคมีกำจัดแมลงกลุ่มออกาโนฟอสเฟตที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โคลินเอสเตอเรส ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับซีรัมเอนไซม์โคลินเอสเตอเรส และเอนไซม์จากตับเพื่อประเมินการได้รับพิษจากสารเคมีดังกล่าวโดยศึกษาในเกษตรกรไร่ยาสูบจำนวน 100 คน ช่วงเดือนตุลาคม-มีนาคม 2550 ซึ่งเป็นช่วงเดือนที่มีการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชสูง เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่สัมผัส จำนวน 80 คน การตรวจวัดซีรัมเอนไซม์โคลินเอสเตอเรส เอนไซม์เอสพาเตสอะมิโนทรานสเฟอเรส เอนไซม์อะลานีนอะมิโนทรานสเฟอเรส และเอนไซม์อัลคาไลน์ฟอสฟาเตส ใช้น้ำยาสำเร็จรูปและตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ DataPro ตามวิธีมาตรฐาน ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มตัวอย่างมีค่าเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5,086 U/L (ช่วงค่า 2,037-7,169 U/L) และ 5,692 U/L (ช่วงค่า 3,217-7,655 U/L) ตามลำดับ ในขณะที่เอนไซม์จากตับในกลุ่มตัวอย่างมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม การที่ระดับซีรัมเอนไซม์โคลินเอสเตอเรสในกลุ่มเกษตรกรมีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมแสดงให้เห็นว่าเกษตรกรที่ใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชมีความเสี่ยงที่จะได้รับพิษมากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้สัมผัส ดังนั้นจึงควรมีการควบคุมการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชให้รัดกุมมากขึ้น

คำสำคัญ สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เอนไซม์โคลินเอสเตอเรส เอนไซม์จากตับ

*Correspondings author:

ผศ.ลี้มทอง พรหมดี

กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

โทรศัพท์ 087 2239215 โทรสาร 043 202088

E-mail: lpromdee@yahoo.com

***In Vitro* Assessment of Genotoxic and Antimutagenic Activity of Cleistanthin A by *Salmonella* Mutation Assay**

Puchadapirom P¹, Tuchinda P², Himakoun L^{1*}

¹ Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University

² Department of Chemistry, Faculty of of Science, Mahidol University

ABSTRACT

Cleistanthin A, a compound extracted from *Phyllanthus taxodiifolius* Beille, was assessed for genotoxic and antimutagenic activity by *Salmonella* mutation assay (Ames test). The results indicated that Cleistanthin A itself does not display a mutagenic activity at the concentration of 1-100 µg/plate either with or without an addition of metabolic enzyme S9. In addition, Cleistanthin A shows anti-mutagenicity against Benzo(a)pyrene (BAP) in a dose-dependent manner at the concentration of 25, 50, 75 and 100 µg/plate. The highest inhibitory effect was 79.0% and 26.8% observed in the *Salmonella typhimurium* tester strains TA98 and TA100 respectively. However, Cleistanthin A does not display the antimutagenic effect against 4-Nitroquinoline-1-oxide and 2-Aminoanthracene under the same conditions. In conclusion, Cleistanthin A does not show genotoxicity but displays an antimutagenic activity against the known mutagen BAP observed by the Ames test.

Key words: Cleistanthin A, Genotoxic activity, Anti-mutagenic activity, Ames test

***Correspondings Author:**

Assoc. Prof. Lakana Himakoun

Department of Pathobiology, Faculty of Science, Mahidol University, Thailand.

E-mail: sclhk@mahidol.ac.th

การตรวจหาตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพดไทยเลี้ยงสัตว์ โดยเทคนิคเนสต์พีซีอาร์-อาร์เอฟแอลพี

อนงค์ บิณฑวิหค,^{1*} สุภวิน วัชรมูล,² สุพิชญา ตริบุญเมือง,³ กิตติยา ศรีศักดิ์วัฒน์,³ วิสุทธิ์ นवलชื่น,³ กรณิศ พัฒนชัย,¹ และสังวร อยู่สว่าง³

¹ ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

² ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่สร้างอะฟลาทอกซินและมักพบปนเปื้อนในเมล็ดข้าวโพดที่นำมาทำเป็นอาหารสัตว์ในประเทศไทย วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้ เพื่อศึกษาวิธีตรวจหาตัวบ่งชี้ทางพันธุกรรมของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพดที่ใช้เป็นวัตถุดิบทางปศุสัตว์ ด้วยวิธี ELISA และ Nested PCR-RFLP จากการสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวโพดจำนวน 40 ตัวอย่างจากแหล่งปลูกในไร่ อู่ฉางเกษตรกร โรงเก็บของพ่อค้าท้องถิ่น และไซโลท้องถิ่น แหล่งละ 10 ตัวอย่าง นำมาตรวจวิเคราะห์หาสารพิษปนเปื้อนอะฟลาทอกซินบี 1 ด้วยชุดตรวจสอบสำเร็จรูปวิธีอีไลซ่า และนำตัวอย่างข้าวโพดที่ตรวจพบและไม่พบอะฟลาทอกซิน แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มไม่พบอะฟลาทอกซิน กลุ่มตรวจพบอะฟลาทอกซิน มากกว่าและน้อยกว่า 20 ppb ตามลำดับ นำตัวอย่างข้าวโพดมาสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัดสำเร็จรูป ตรวจสอบดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส นำดีเอ็นเอที่ได้มาทำพีซีอาร์เพื่อเพิ่มจำนวนชุดของดีเอ็นเอที่จำเพาะกับยีนที่เกี่ยวข้องกับการเกิดอะฟลาทอกซิน พบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้มีมากพอที่จะทำพีซีอาร์ทั้ง 3 กลุ่ม นำผลผลิตที่ได้จากการทำพีซีอาร์มาตรวจสอบด้วย 2% อะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส และตัดด้วยเอนไซม์ *HincII* และ *PvuII* จากผลการศึกษาพบว่าข้าวโพดจากแหล่งปลูกในไร่ มีจำนวนตัวอย่างที่พบอะฟลาทอกซินบี 1 มากกว่าข้าวโพดจากโรงเก็บพ่อค้าท้องถิ่น อู่ฉางเกษตรกรและไซโลท้องถิ่น ตามลำดับ แต่ปริมาณอะฟลาทอกซินบี 1 ที่ตรวจพบในข้าวโพดจากโรงเก็บพ่อค้าท้องถิ่น สูงกว่าข้าวโพดจากอู่ฉางเกษตรกร ไซโลท้องถิ่นและแหล่งปลูกในไร่ ตามลำดับ ผลการตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์ พบว่าสามารถเพิ่มชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อยีนอะฟลาทอกซินได้ทั้ง 3 กลุ่ม

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซิน ข้าวโพด เทคนิคพีซีอาร์

* Corresponding author:

รศ สพ.ญ. ดร. อนงค์ บิณฑวิหค

ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน

กรุงเทพมหานคร 10330

E-mail: anong_vet@yahoo.com

Acute and Subchronic Toxicities of Aqueous Extract From *Rhinacanthus Nasutus* Kurz. Roots.**Siripong P^{1*}, Kupradinun P², Yahuafai J¹, Wuttichai P¹, Piyavriyakul S¹, Tunsakul S³, Jarratwisarutponr Y⁴, Chivapat S⁵, Rungsipipat A⁶**¹. Natural Products Research Section, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400;². Laboratory Animal Section, Research Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400;³. Biochemistry Section, Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400;⁴. Hematology Section, Pathology Division, National Cancer Institute, Bangkok 10400;⁵. Medicinal Plant Research Institute, Bulletin Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000;⁶. Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand.**ABSTRACT**

Rhinacanthus nasutus Kurz. (Acanthaceae) has been used in Thai folklore medicines for the treatment of various diseases such as eczema, pulmonary tuberculosis, herpes, hepatitis, diabetes, hypertension, skin diseases and various cancers. For its usage of cancer treatment, the decoction of roots or whole plant is used for treatment of some cancer forms. To gain more informations on using as safety therapeutic drug, acute and subchronic toxicities of the aqueous extracts from *R. nasutus* Kurz. roots were assessed. In the acute and subchronic toxicities, one hundred ICR mice and Wistar rats of the both sexes were randomly divided into eight groups of 50 animals per sex for each experiment. All control groups received the 0.3% carboxymethylcellulose (CMC) in normal saline, orally. The treatment groups of acute and subchronic toxicities received the aqueous extracts from its roots in the concentrations of 1.0, 5.0 and 10.0 g/kg and 0.5, 1.0 and 2.0 g/kg/day for 90 days, respectively. Body weight gain and behavior of the animals were observed. At the end of experiment, all animals were sacrificed and the biochemical, hematological, pathological data of the treated and control groups were then evaluated. The results demonstrated that after acute and subchronic orally administrations of the aqueous extract from *R. nasutus* for 10 and 90 days, the body weight gains of both male and female ICR mice and Wistar rats were not affected by the treatment and the overall animal behaviors were normal. The biochemical and hematological evaluations of both male and female mice and rats were not affected by the treatment of these extracts. No gross abnormalities of any visceral organs were detected and the organ weights of all treatment groups were not significantly different from that of the control groups. Base on available data, these results can be concluded that an aqueous extract from *Rhinacanthus nasutus* plant which is a usage form in Thai traditional medicines for the treatment of various ailments, may be safe for human used.

Key words: *Rhinacanthus nasutus* Kurz, Acanthaceae, acute and subchronic toxicity*** Corresponding author:**

ดร. ผ่องพรรณ ศิริพงษ์

งานวิจัยสมุนไพร กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระรามหก เขตราชเทวี

จังหวัด: กรุงเทพมหานคร รหัสไปรษณีย์ 10400

โทรศัพท์: 66-2-354-7025 ต่อ 1415, 1416 โทรสาร: 66-2-354-7025 ต่อ 1414, 1415 E-mail: siripong_nci@yahoo.com

การตรวจวัดปริมาณซัลไฟต์ในถั่วงอกที่จำหน่ายในตลาดเทศบาลนครขอนแก่น

ประติ สารบุตร¹ ฟองพัทธ์ ผิวฟ่อง¹ จินดารัตน์ ตระกูลทอง² ลีमतอง พรหมดี² วิสุทธิ์ กังวานตระกูล^{2*}

¹ นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

ถั่วงอกจัดเป็นผักที่นิยมบริโภคในชีวิตประจำวันทั้งสภาพดิบและสุก เมื่อถั่วงอกสัมผัสอากาศนานๆ จะมีสีคล้ำไม่น่ารับประทาน จึงอาจมีการเติมสารซัลไฟต์เพื่อรักษาสภาพให้ดูขาวสด การรับประทานถั่วงอกสดเป็นประจำอาจทำให้ได้รับสารซัลไฟต์เกินค่า ADI ซึ่ง FAO กำหนดไว้ที่ 0.7 มก./น้ำหนักตัว 1 กก./วัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจตรวจวัดปริมาณซัลไฟต์ในถั่วงอกโดยสกัดน้ำจากผิวถั่วงอกมาทำปฏิกิริยากับสาร 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) ผลการศึกษาพบว่าวิธีที่ใช้ตรวจวัดให้ค่าเปอร์เซ็นต์ย้อนกลับ (%recovery) 84.24% และความแม่นยำ (%CV) 10.47% ค่าเฉลี่ยปริมาณซัลไฟต์ในถั่วงอกที่เก็บจาก 9 ร้านค้าในตลาดเทศบาลนครขอนแก่นซึ่งสุ่มซื้อมา 9-11 ครั้ง เท่ากับ 9.02 (1.26-58.86) มก./กก. ค่าเฉลี่ยปริมาณซัลไฟต์ในถั่วงอกที่เพาะเองจำนวน 10 ครั้ง เท่ากับ 3.39 (2.24-4.46) มก./กก. ถั่วงอกจาก 6 ร้านค้ามีค่ามัธยฐานสารซัลไฟต์สูงกว่าของถั่วงอกที่เพาะเองอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการสังเกตถั่วงอกที่เพาะเอง จะมีสีคล้ำไม่น่ารับประทานเมื่อสัมผัสกับอากาศประมาณ 1 ชั่วโมง ขณะที่ถั่วงอกจากร้านค้าที่พบสารซัลไฟต์สูงยังคงมีสีขาวสวย การหลีกเลี่ยงการได้รับซัลไฟต์ที่ปนเปื้อนในถั่วงอกอาจทำได้โดยไม่เลือกซื้อถั่วงอกที่เก็บไว้นานแล้วยังมีสีขาวมาก

คำสำคัญ: ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยอนินทรีย์ ผักคะน้า

*Corresponding author:

ผศ.วิสุทธิ์ กังวานตระกูล

ที่อยู่ติดต่อ: กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

โทรศัพท์: 081-262-3407 โทรสาร: 043-202088

E-mail: wiskun@kku.ac.th

Protective Role of Gamma Oryzanol in Rice Bran Oil on Cadmium-Induced Rat Hepatotoxicity

Tarasub N^{1*}, Samrejkitcharoen C², Tarasub C³, Na Ayutthaya W.D⁴

1. Anatomy Unit, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand.
2. Biomedical Science Program, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand.
3. Preclinic Sciences, Faculty of Medicine, Thammasart University, Thailand.
4. Pharmacology and Toxicology Unit, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand

ABSTRACT

Cadmium (Cd) is one of the most toxic and carcinogenic heavy metals to organisms. The liver is one of the critical target organ following cadmium exposure. The gamma oryzanol, antioxidant compound, in rice bran oil (RBO) may prevent the oxidative stress resulted from cadmium. This study aimed to determine the potential protective effects of gamma oryzanol in RBO in attenuating the rat hepatotoxicity induced by oral exposure of cadmium. Male Wistar rats were subdivided into six groups for 8 animals each. The first group was used as control. While, groups 2-6 were orally treated with CdCl₂ (60 mg/kg BW), Suriny RBO (gamma oryzanol 1.7 mg/kg BW), vitamin E (125 mg/kg BW), Suriny RBO (gamma oryzanol 1.7 mg/kg BW) plus CdCl₂ (60 mg/kg BW) and vitamin E (125 mg/kg BW) plus CdCl₂ (60 mg/kg BW), respectively. All groups were treated by gavage once daily for 8 days except in cadmium-treated groups; it treated only once time on the last day of treatment. After 24 h of the last treatment, the malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and histological changes of liver were evaluated. The results showed a significant increase of MDA, a significant decrease of the reduced GSH and damages of hepatocytes in cadmium treated group when compared to the control group. Pretreatment with RBO and vitamin E could not reverse the changes of MDA, reduced GSH and the damages of hepatocytes from cadmium treatment. In conclusion, the gamma oryzanol in RBO at the studied dosage does not seem to be helpful against cadmium toxicity in rat liver.

Key words: Gamma Oryzanol, Rice Bran Oil, Vitamin E, Malondialdehyde (MDA), Glutathione (GSH), Cadmium Toxicity, Liver

*Corresponding author:

ดร.เนาวรัตน์ ชาราทรัพย์

หมวดวิชาเภสัชวิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

จังหวัด: ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12000

โทรศัพท์: 02-9972222-30 ext 4151 โทรสาร: 02-9972222-30 ext 1417

E-mail: tarasubnao@gmail.com

Protective Role of Gamma Oryzanol in Rice Bran Oil on Arsenite Induced Rat Nephrotoxicity

Tarasub N^{1*}, Samrejkitcharoen C², Tarasub C³, Na Ayutthaya W.D⁴

1. Anatomy Unit, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand.
2. Biomedical Science Program, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand.
3. Preclinic Sciences, Faculty of Medicine, Thammasart University, Thailand.
4. Pharmacology and Toxicology Unit, Department of Medical Sciences, Faculty of Science, Rangsit University, Thailand

ABSTRACT

Arsenite (As) compounds are environmental toxins and cause oxidative stress. The gamma oryzanol, antioxidant compound, in rice bran oil (RBO) may prevent the oxidative stress resulted from arsenite. The aim of study was to investigate the potential protective effects of gamma oryzanol in RBO in attenuating the rat nephrotoxicity induced by oral exposure of arsenite. Male Wistar rats were subdivided into six groups for 8 animals each. The first group was used as control. While, groups 2-6 were orally treated with sodium arsenite (30 mg/kg BW), Suriny RBO (gamma oryzanol 1.7 mg/kg BW), vitamin E (125 mg/kg BW), Suriny RBO (gamma oryzanol 1.7 mg/kg BW) plus sodium arsenite (30 mg/kg BW) and vitamin E (125 mg/kg BW) plus sodium arsenite (30 mg/kg BW), respectively. All groups were treated by gavage once daily for 8 days except in sodium arsenite-treated groups; it treated only once time on the last day of treatment. After 24 h of the last treatment, the malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and histological changes of kidney were evaluated. The results showed that MDA level and reduced GSH were increased significantly, including the epithelial cells lining the proximal convoluted tubule were swollen and cells in glomerulus were damaged in sodium arsenite-treated group when compared to the control group. A significant reduction of reduced GSH was observed in pretreatment with RBO and vitamin E when compared to the sodium arsenite-treated group. However, RBO and vitamin E could not reduce MDA level from sodium arsenite treatment. The damages of proximal convoluted tubule and glomerulus were remained observed in pretreatment with RBO and vitamin E. In conclusion, the data suggest that gamma oryzanol in RBO at the studied dosage could not prevent the damages induced by As in rat kidney.

Keywords: Gamma Oryzanol, Rice Bran Oil, Vitamin E, Malondialdehyde (MDA), Glutathione (GSH), Arsenite Toxicity, Kidney

*Corresponding author:

ดร.เนาวรัตน์ ชาราทรัพย์

หมวดวิชาเภสัชศาสตร์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรังสิต

จังหวัด: ปทุมธานี รหัสไปรษณีย์ 12000

โทรศัพท์: 02-9972222-30 ext 4151 โทรสาร: 02-9972222-30 ext 1417

E-mail: tarasubnao@gmail.com

ไนเตรท ไนไตรท์ ตะกั่ว และแคดเมียมในปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้านิยมใช้

วีรยา การพานิช¹ เวนิกา เบ็ญจพงษ์^{1*} นวรัตน์ ว่องไวเมธี¹ ปราณี พัฒนกุลอนันต์¹ และนริศรา ม่วงศรีจันทร์¹

¹สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม 73170

บทคัดย่อ

ปุ๋ยเป็นปัจจัยการผลิตที่สำคัญในการเพาะปลูกพืช อย่างไรก็ตามหากปุ๋ยที่เกษตรกรใช้ในการเพาะปลูกไม่เหมาะสมนอกจากส่งผลต่อคุณภาพของผักแล้ว อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนในผลผลิตได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณไนเตรท ไนไตรท์ ตะกั่ว และแคดเมียมในปุ๋ยอินทรีย์ และปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้านิยมใช้ เก็บข้อมูลชนิดปุ๋ยที่เกษตรกรผู้ปลูกผักคะน้านิยมใช้โดยใช้แบบสอบถามข้อมูล ทำการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรทและไนไตรท์ โดยวิธี Cadmium reduction method และ Colorimetric method และวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว และแคดเมียมโดยวิธีย่อยสลายในระบบปิด (Closed System Digestion) และวิเคราะห์ปริมาณโดยใช้เครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry ผลการศึกษาพบว่า ปุ๋ยอินทรีย์ หรือปุ๋ยเคมี ที่เกษตรกรนิยมใช้ได้แก่ สูตร 16-16-16 และสูตร 25-7-7 ปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกรนิยมใช้มี 2 กลุ่ม คือ ปุ๋ยคอก และปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพ ปุ๋ยคอกได้แก่ ปุ๋ยมูลโค และปุ๋ยมูลสุกร ปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพได้แก่ ปุ๋ยน้ำหมักชีวภาพสูตรพืช สูตรปลา และสูตรหอยเชอร์รี่ จากผลการวิเคราะห์ปริมาณไนเตรท ไนไตรท์ ตะกั่ว และแคดเมียมในตัวอย่างปุ๋ย 46 ตัวอย่าง พบปริมาณไนเตรทสูงสุดในปุ๋ยเคมีสูตร 25-7-7 และ 16-16-16 (4414.72 และ 4431.32 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ) ปริมาณไนไตรท์สูงสุดพบในตัวอย่างมูลสุกร (12.35 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ปริมาณตะกั่วสูงสุดพบในตัวอย่างมูลสุกร และมูลโค (5786.04 และ 4127.42 ไมโครกรัม/กิโลกรัม) ปริมาณแคดเมียมสูงสุดพบในตัวอย่างมูลสุกร และปุ๋ยเคมีสูตร 16-16-16 (1089.94 และ 679.17 ไมโครกรัม/กิโลกรัม) โดยจากการศึกษาพบว่าปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในปุ๋ยอินทรีย์ทั้งปุ๋ยมูลสัตว์ และปุ๋ยน้ำชีวภาพมีค่าไม่เกินมาตรฐานปุ๋ยอินทรีย์ พ.ศ.2548 ตามประกาศของกรมวิชาการเกษตร อย่างไรก็ตามพบปริมาณตะกั่วและแคดเมียมในปุ๋ยมูลสัตว์มีค่าสูงกว่าปุ๋ยเคมี และปุ๋ยน้ำชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และปริมาณแคดเมียมในปุ๋ยมูลสุกรมีค่าสูงกว่าปุ๋ยมูลโคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งอาจเนื่องจากการปนเปื้อนของแคดเมียมในอาหารเลี้ยงสัตว์ที่แตกต่างกัน ถึงแม้การปนเปื้อนของโลหะหนักในตัวอย่างปุ๋ยมีค่าไม่เกินที่มาตรฐานกำหนด อย่างไรก็ตามหากนำปุ๋ยมูลสัตว์จากพื้นที่ที่มีการปนเปื้อนสูงมาใช้ในการเพาะปลูก อาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของโลหะหนักในผักสูงได้ เนื่องจากปุ๋ยอินทรีย์ที่เกษตรกรส่วนใหญ่นำมาใช้ในการเพาะปลูก เป็นปุ๋ยที่ผลิตขึ้นเอง หรือรับซื้อมาจากแหล่งอื่น ซึ่งไม่ได้ผ่านการตรวจสอบคุณภาพโดยหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง

คำสำคัญ: ปุ๋ยอินทรีย์ ปุ๋ยอินทรีย์ ผักคะน้า

*Corresponding author:

ผศ.เวนิกา เบ็ญจพงษ์

สถาบันโภชนาการ ม.มหิดล ต.ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม 73170

โทรศัพท์ 0 2800 2380 ต่อ 311 โทรสาร 0 2441 9344 E-mail: nuwbe@mahidol.ac.th

Preserved foods and nasopharyngeal carcinoma: a case-control study in Thailand

Boomsern R¹, Tepsuwan K², Kanka C³, Klinvimol T⁴, Temiyastith S⁵, Pongnikorn S⁶, Sangrajrang S¹.

¹National Cancer Institute, Thailand, ²Chonburi Cancer Center, ³Lopburi Cancer Center,

⁴Ubonratchathani Cancer Center, ⁵Udonthani Cancer Center, ⁶Lampang Cancer Center

ABSTRACT

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is rare in most part of the world, but incidence is high in China and Southeast Asia. Previous studies in high risk area of NPC have found elevated risk with higher consumption of salted fish and preserved foods, particularly during childhood. Salted fish and other salted and preserved foods contain nitrosamines and nitrosamine precursors, known animal carcinogens. The objective of this study was to investigate the relationship between preserved foods intake and risk of NPC among Thai population. A total of 651 histologically confirmed incident cases and 747 controls were included in the study. Information of diet consumption was obtained through a personal interview together with information on other known risk factors of NPC. Analysis was performed using logistic regression; Odds Ratio (OR) estimated and 95% confidence intervals (CI) were calculated. In contrast to most studies which have examined the effect of diet on NPC risk, we did not observe an association between NPC and consumption of salted fish (OR= 1.01, 95%CI 0.75-1.34). Fermented fish was also not related to NPC risk (OR=0.86, 95%CI 0.68-1.08). In addition, no association was observed for consumption of processed meat or vegetable. Our results suggest that consumption of preserved foods was unlikely involving in the development of NPC among Thai Population.

Keywords: Nasopharyngeal carcinoma, Preserved foods, Case-control study

*Corresponding author:

ดร.ศุภีพร แสงกระจ่าง

กลุ่มงานวิจัย สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 268/1 ถนนพระราม 6 ราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์: 02-354 7025 ต่อ 1405 โทรสาร: 02-354 7025 ต่อ 1414

E-mail: suleesa@yahoo.com

Cytobioassay for Estrogenic Activity Monitoring in Natural Water Resources and Consumable Product Samples

Junthakhao L^{1*}, Wongkham W²

Department of Biology, Faculty of Science Chaingmai University, Thailand

ABSTRACT

Contaminated steroids in the water resources are more found currently and it is lipid with the special characteristic of 4 grommets (rings) linked up in the carbon structure. The difference of steroid types also depend on the functional group on the rings. A great number of dissimilar steroids is found in plants and animals, the major steroids are cholesterol, steroid hormone, precursor and metabolite. While excess steroids cause the disease and various abnormal state. In addition, most of steroids result in physiology effect by connecting with protein receptor and cause the modification in transcription gene as well as the function of cell itself. For example, the insecticide in the organochlorine group (e.g. lindane, atrazine, DDT, aldrine, endrine) which can originate the breast cancer later. The DDT particularly is able to block off the testosterone functioning and causes the abnormality of male's sexual organ. The human breast cancer cell line, MCF-7, was used as an estrogen receptor containing (ER⁺) model. The natural water samples were taken from several sources including sewage disposal from slaughterhouse, cattle farm and frog farm. The consumable product samples were bought from local market including energy drink and herbal beverages. The ethanol extract from *Puraria mirifica*, the xenoestrogenic herbs was also studied. The experiments were carried out using SRB assay with 17 β -estradiol aldrine and endrine as positive control. The cells exposed to serial concentrations of various solutions containing steroid showed unique positive response. The result implied of the tendency for the cells to be in creating more effective testing procedure for the benefit in public health and environment in the future.

Key word: steroid contamination, MCF-7, cytobioassay, estrogen, xenoestrogen, SRB assay

*Corresponding author:

นางสาวละม้าย จันทะขาว

ตึกรังพลส 63/38 หมู่ 8 ต.สุเทพ อ.เมือง

จังหวัด: เชียงใหม่ 50200 โทรศัพท์: 086 9348894

E-mail: gul48330103@hotmail.com

ผลของแคดเมียมต่อการงอกของข้าวบางสายพันธุ์เพื่อการประยุกต์ใช้สำหรับติดตามสภาพแวดล้อม

Naksiri R^{1*}, Sutthathorn Chairuangsrri^{1,2}

¹ Environmental Science Program and Center for Environmental Health, Toxicology and Management of Chemical (ETM), Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

² Biology Departments, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของแคดเมียมต่อการงอกของเมล็ดข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ คือ ปทุมธานี1 พิษณุโลก3 สันป่าตอง1 สุพรรณบุรี1 และสุพรรณบุรี3 โดยการศึกษาผลของแคดเมียมต่อการงอกของเมล็ดข้าวในสารละลายแคดเมียมความเข้มข้น 25, 50, 100 และ 200 μmolL^{-1} ด้วยวิธีการเพาะระหว่างกระดาษ (BF) เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าอัตราการงอกของข้าวทุกสายพันธุ์ลดลงตามความเข้มข้นของแคดเมียมที่เพิ่มขึ้น และพบว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 มีอัตราการงอกสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์สันป่าตอง1 พิษณุโลก3 สุพรรณบุรี1 และสุพรรณบุรี3 ตามลำดับ และเมื่อนำน้ำตัวอย่างบริเวณเขตพื้นที่ลำห้วยแม่ดาว อ.แม่สอด จ.ตาก ที่มีปัญหาการปนเปื้อนแคดเมียมมาทดสอบผลของการงอกของต้นข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่าอัตราการงอกของต้นข้าวทุกสายพันธุ์มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อมีแคดเมียมในตัวอย่างน้ำที่มากขึ้นและเกิดลักษณะความผิดปกติของการงอก เช่น เมล็ดสดไม่งอก เมล็ดตาย ต้นอ่อนผิดปกติ การม้วนงอของต้นอ่อน เกิดสีเหลืองซีดและขาว เป็นต้นและพบยังพบว่าข้าวสายพันธุ์ปทุมธานี1 มีอัตราการงอกสูงที่สุดและสายพันธุ์สันป่าตอง1 พิษณุโลก3 สุพรรณบุรี1 สุพรรณบุรี3 มีอัตราการงอกที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งจากผลการทดลองนี้สามารถนำมาประยุกต์ใช้ติดตามการปนเปื้อนของแคดเมียมในแหล่งน้ำจากการใช้ลักษณะการงอกและอัตราการงอกของต้นข้าวได้ในระดับหนึ่ง

*Corresponding author:

นางสาวรัชณีวรรณ นาคศิริ

6 หมู่3 ตำบลปากโทก อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

จังหวัดพิษณุโลก รหัสไปรษณีย์ 65000

โทรศัพท์: 089-6065969

E-mail: mim_naksiri@hotmail.com

Validity of Reported Paracetamol Dose in Acute Paracetamol Overdose

Chomchai S¹, Korphaisarn K¹.

¹ Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

ABSTRACT

Background: Decisions to treat acute paracetamol overdose with *N*-acetylcysteine in most hospitals in Thailand, where the serum paracetamol level analysis is not available, are based on ingested dose. Two dose cut-off methods in used are dose at least 150 mg/kg (average dose) and dose at least 7.5 gram of paracetamol (dose). These cut-off methods have never been evaluated.

Objective(s): To know and to compare the accuracies among the paracetamol dose evaluation methods used in acute paracetamol overdoses

Materials and Methods: We retrospectively reviewed medical records of patients who presented at the Siriraj hospital with acute paracetamol overdose from January 2004 to June 2009. With the treatment line (150 µg/ml at 4 hours post-ingestion) in Rumack-Matthew nomogram as the gold standard, two cut-off methods being used and a new method, using the lowest of either the dose or average dose as cut-off value, were evaluated with sensitivity, specificity and ROC curve.

Results 305 patients were enrolled. Dose, average dose and new method had sensitivity/ specificity to predict serum paracetamol levels over the treatment line of 0.937/ 0.325, 0.926/ 0.276 and 0.944/ 0.325, respectively. The area under the curve (AUC) of ROC of new method (0.694) is significantly larger than the dose's AUC (0.673), while there is no statistically significant difference from the average dose's AUC (0.691).

Conclusion: The cut-off method using the lowest value of dose 7.5 gram or dose 150mg/kg has the best sensitivity, specificity and ability to predict potentially toxic paracetamol level. We propose it as a new cut-off point for practice in Thailand.

Keywords: Paracetamol, history, validity

*Corresponding author:

ผศ.สัมพันธ์ โฉมฉาย

ภาควิชาเวชศาสตร์ป้องกันและสังคม คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ม.มหิดล 2 ถนนพราวานนท บางกอกน้อย จังหวัด: กรุงเทพฯ
รหัสไปรษณีย์ 10700 โทรศัพท์: 0818314190 โทรสาร: 024115034

E-mail: siscd@mahidol.ac.th, schomchai@hotmail.com