

การตรวจสอบฟลาทอกซินโดยวิธีมินิคอลัมน์ในอาหารสัตว์ ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก

Determination of Aflatoxins in Mixed Feeds of Poultry Farms with Detection by Minicolumn Chromatography

วรศักดิ์ ปัจฉิมะศิริ, ร.ท.โสภา สอนดี¹ และสมชัย พงศ์จรรยากุล²

Vorasak Patchimasiri, Lt. Sopa Sondee and Somchai Pongjanyakul

ABSTRACT

The mixed feeds were analysed by minicolumn chromatography method, 171 samples of mixed feeds randomly collected from poultry farms in Nakhon-Pathom, Ratchaburi, Chonburi and Chachoengsao provinces during summer season (February-April, 1986-1987), revealed that 38.9% of the samples contained aflatoxins (total aflatoxin $B_1 + B_2$) in the range of 20-150 ppb. Another 189 samples of mixed feeds were collected after rainy season (October-December, 1985-1986). The aflatoxin contamination was found in 125 mixed feed samples (66.5%) at the level in the range of 20-1, 500 ppb. The results of this study indicated that seasonal variation has an influence on animal feeding stuff contamination with aflatoxins and a method for aflatoxin determination with minicolumn chromatography is simple and economical for a rapid screening method. Moreover this method gave the accurate values for aflatoxin at the level of 20 ppb.

บทคัดย่อ

การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์โดยวิธีมินิคอลัมน์โครมาโตกราฟี จำนวน 171 ตัวอย่าง โดยการสุ่มเก็บตัวอย่างมาจากฟาร์มสัตว์ปีกต่าง ๆ ในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี ชลบุรี และฉะเชิงเทรา ในช่วงก่อนฤดูฝน (กุมภาพันธ์ - เมษายน, 2529 - 2530) พบว่า 38.9% ของตัวอย่างอาหารสัตว์มีปริมาณสารพิษฟลาทอกซิน ($B_1 + B_2$) ปนเปื้อนอยู่ในระดับ 20 - 150 พีพีบี และตัวอย่างอาหารสัตว์ 189 ตัวอย่าง

ที่ทำการเก็บในช่วงหลังฤดูฝน (ตุลาคม - ธันวาคม, 2528 - 2529) พบว่า 66.5% ของตัวอย่างอาหารสัตว์ที่ทำการวิเคราะห์มีสารพิษฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ในระดับ 20 - 1, 500 พีพีบี ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าฤดูกาลมีอิทธิพลต่อการปนเปื้อนของสารพิษฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ และนอกจากนี้วิธีการตรวจสอบหาสารพิษฟลาทอกซินขั้นต้นโดยวิธีมินิคอลัมน์โครมาโตกราฟี ยังเป็นวิธีการตรวจอย่างง่าย ๆ วัสดุได้ในระยะเวลาที่รวดเร็ว และมีความแม่นยำในการตรวจสอบในระดับ 20 พีพีบี ซึ่งใช้ได้ผลดีในทางปฏิบัติ

¹ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

² ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dept. of Anatomy, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

คำนำ

ปัจจุบันวงการอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก เช่น เป็ดและไก่ มีการใช้อาหารสัตว์สำเร็จรูป หรืออาหารผสมกันอย่างกว้างขวาง ซึ่งผลิตโดยบริษัทอาหารสัตว์ต่าง ๆ หรือเกษตรกรผสมอาหารสัตว์จากวัตถุดิบต่าง ๆ ไว้ใช้เอง การใช้อาหารสำเร็จรูปนั้นว่าสะดวกและเสียเวลาน้อย ในการจัดเตรียมการเลี้ยงดู แต่มักมีปัญหาเกิดตามมา ทั้งนี้เนื่องจากส่วนผสมของอาหารสัตว์ส่วนใหญ่มักประกอบด้วยข้าวโพด และกากถั่วลิสงเป็นหลัก ซึ่งเมล็ดพืชเหล่านี้เหมาะแก่การเจริญเติบโตของเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* (Stoloff, 1977) ก่อปรกับสภาพดินฟ้าอากาศและสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อน และมีความชื้นสูง จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ช่วยให้เชื้อราเหล่านี้เจริญได้เร็วยิ่งขึ้น เชื้อราที่อยู่ในกลุ่ม *Aspergillus* จะสร้างสารพิษ (mycotoxin) ที่ชื่อว่าอฟลาทอกซิน อันตรายและความร้ายแรงของสารพิษอฟลาทอกซินมีมากมายนานับประการ ต่อมนุษย์และสัตว์ เช่น เป็นสารก่อมะเร็งที่ตับ (Heathcote, and Hibbert 1978; Wei, and Hsieh, 1980) ทำให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีก เช่น อัตราการเจริญเติบโตลดลง ผลผลิตลดลง (Howarth and Wyatt, 1976) และความต้านทานต่อโรคต่าง ๆ ลดลง (Edds, et al., 1973; Giambone, et al., 1978)

สำหรับในประเทศไทย ได้เริ่มมีการศึกษาปัญหาเกี่ยวกับสารพิษจากเชื้อราอย่างจริงจังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2510 เป็นต้นมา พบว่ามีปริมาณอฟลาทอกซินปนเปื้อนในปริมาณค่อนข้างสูงมาก ซึ่งพบได้ทั้งในอาหารของมนุษย์และสัตว์ จากการสำรวจตัวอย่างอาหารในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2516 - 2521 พบว่า 61.5% ของถั่วลิสง, 50% ของข้าวโพด และ 30%

ของอาหารสัตว์ มีปริมาณอฟลาทอกซินอยู่ในระดับสูงถึง 5,000 พีพีบี, 16,000 พีพีบี และ 5,000 พีพีบี ตามลำดับ (Shank, et al., 1972) แม้ว่าข้าวโพด ถั่วลิสงจะมีการปนเปื้อนของสารพิษอฟลาทอกซิน แต่เนื่องจากเมล็ดพืชเหล่านี้เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ จึงยากที่จะหลีกเลี่ยงการใช้เมล็ดพืชเหล่านี้ในอุตสาหกรรมอาหารของมนุษย์และสัตว์ เป็นผลให้ในหลายประเทศออกกฎข้อบังคับใช้ควบคุมการใช้วัตถุดิบที่มีสารพิษอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ เช่น มื้อฟลาทอกซิน B₁ ในอาหารคนและสัตว์ไม่เกิน 5 - 20 พีพีบี เพราะความเข้มข้นของสารพิษ B₁ ขนาดนี้จะไม่พบความผิดปกติใด ๆ ยกเว้นในหนู และ rainbow trout ถ้าได้รับสารพิษ B₁ ในระดับนี้เป็นเวลานาน สามารถก่อให้เกิดเนื้องอกที่ตับได้ (WHO, 1979) ฉะนั้นสิ่งที่สำคัญที่สุดในการควบคุมสารพิษอฟลาทอกซิน ก็คือ การคอยหมั่นตรวจสอบหาปริมาณอฟลาทอกซินในอาหารของมนุษย์และสัตว์อยู่เสมอ การตรวจสอบหาปริมาณอฟลาทอกซินมีหลายวิธี เช่น thin layer chromatography (TLC) หรือ high performance liquid chromatography (HPLC) วิธีเหล่านี้เป็นวิธีที่ยุ่งยาก สิ้นเปลืองและไม่สามารถทราบผลของการตรวจสอบในระยะเวลาอันสั้นได้

ในปี พ.ศ. 2519 กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้เริ่มพัฒนาวิธีวิเคราะห์อฟลาทอกซินอย่างง่ายขึ้นโดยวิธีมินิคอลัมน์ โครมาโตกราฟีค (Holaday, 1976; Romer, 1975) และเริ่มทดลองใช้ในปี พ.ศ. 2521 ซึ่งให้ผลการตรวจสอบที่รวดเร็วและแม่นยำในระดับ 10 พีพีบี เท่านั้น

ฉะนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จึงมุ่งตรวจสอบสารพิษอฟลาทอกซินโดยวิธีมินิคอลัมน์ โครมาโตกราฟีคในอาหารสัตว์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี ชลบุรี และฉะเชิงเทรา ในช่วงก่อนฤดูฝน และหลังฤดูฝน เพื่อเป็น

ข้อมูลในการหาทางควบคุม ป้องกัน และแก้ไขการปนเปื้อนของสารพิษอพลาทอกซินในอาหารสัตว์ในโอกาสต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างอาหารสัตว์

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างอาหารสัตว์ ประมาณ 200 กรัม จากฟาร์มเปิดและไก่ ในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี ชลบุรี และฉะเชิงเทรา ในช่วงก่อนฤดูฝน (กุมภาพันธ์-เมษายน พ.ศ. 2529 - 2530) และช่วงหลังฤดูฝน (ตุลาคม-ธันวาคม พ.ศ. 2528-2529) ตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บได้อาจเป็นอาหารสำเร็จรูปที่เจ้าของฟาร์มสั่งซื้อจากบริษัทผู้ผลิตอาหารสัตว์ หรือเป็นอาหารสัตว์ที่ผสมขึ้นใช้เองภายในฟาร์ม วัตถุดิบที่ใช้เป็นส่วนประกอบของอาหารผสมสำหรับเลี้ยงเปิด ไก่ มักประกอบด้วย ปลาป่น กากถั่ว รำละเอียด ปลาขี้ขาว ข้าวโพด กระถินป่น และแร่ธาตุต่าง ๆ

เครื่องมือใช้

1. เครื่องปั่นอาหารชนิดโถแก้วพร้อมฝาปิดขนาด 1 ลิตร
2. โคมไฟชนิดอุลตราไวโอเลต (uv) ความยาวคลื่น 365 นาโนมิเตอร์
3. หลอดแก้วมินิคอลัมน์
4. เครื่องแก้วประจำห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป
5. เคมีภัณฑ์
 - 5.1 สารละลายอินทรีย์: methanol, acetone, chloroform benzene, iso-propanol.
 - 5.2 น้ำยาสกัด: methanol : 5% NaCl (60:40)
 - 5.3 น้ำยาดกตะกอน: zinc acetate solution; 0.1 M H_3PO_4 .

5.4 น้ำยาชะ: chloroform; acetone; iso-propanol (90 + 10 + 2.5 V/V)

6. สารบรรจุในหลอดแก้วมินิคอลัมน์

Florisil^R (60-100 mesh Merck) Drierite ($CaSO_4$ drying agent, Fluka AG) Silica gel (70 - 230 mesh Merck) Alumina neutral (Al_2O_3 , Merck)

การเตรียมหลอดแก้วมินิคอลัมน์

หลอดแก้วมินิคอลัมน์จะต้องใสสะอาด แห้งสนิท ซึ่งมีขนาดสูงประมาณ 15 ซม. ปลายล่างเรียวมน มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 ซม. ส่วนปลายบนจะบานเป็นปากแตร มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2 ซม. การบรรจุสารต่าง ๆ ลงในหลอดแก้วมินิคอลัมน์ทำได้ดังนี้

บรรจุสารที่สกัดไขมันออกแล้วไว้ส่วนล่างของหลอดแก้ว ใช้แท่งแก้วอัดสารให้แน่นหนา 3 มม. เติมสารต่าง ๆ ต่อไปนี้ ตามลำดับ Drierite ($CaSO_4$, Sikkon Fluka drying agent, Fluka AG) สูง 10 มม. Florisil^R (60-100 mesh ASTM, Merck, Dramstadt) สูง 10 มม. Silica gel (70-230 mesh, ASTM, Merck, Dramstadt) สูง 40 มม. Alumina neutral (Al_2O_3 , 70-230 mesh, ASTM, Merck, Dramstadt) สูง 15 มม. และ Drierite ($CaSO_4$, Sikkon Fluka drying agent, Fluka AG) สูง 10 มม. ใช้แท่งแก้วกดสารที่เติมแต่ละชั้นพอแน่นและเรียบ ปิดทับชั้นบนสุดด้วยสำลีอัดแน่น

การสกัด

นำตัวอย่างอาหารสัตว์ที่ได้มาบดด้วยเครื่องปั่นอาหารให้ละเอียดผสมเป็นเนื้อเดียวกัน ชั่งตัวอย่างที่เตรียมไว้ดีแล้วหนัก 50 กรัม ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติมน้ำยาสกัด (extracting sol-

vent) จำนวน 200 มล. แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าอย่างแรง นาน 30 นาที กรองเก็บน้ำยาไว้

นำน้ำยาที่กรองได้จำนวน 40 มล. ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มล. เติมสารละลาย Zinc acetate จำนวน 20 มล. คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเติม $0.1 \text{ M H}_3\text{PO}_4$ จำนวน 40 มล. คนให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 1-2 นาที ระหว่างเวลาให้คนเป็นครั้งคราว ถ้าตะกอนที่เกิดขึ้นไม่ตกนอนก้น ให้เติม Celite^R 545 (Fluka AG.CH. 9470 Buchs) หนัก 5 กรัม คนให้เข้ากันจากนั้นนำมากรอง

นำน้ำยาที่กรองได้ในครั้งที่สองนี้ จำนวน 40 มล. ใส่ในกรวยแยกชั้นขนาด 250 มล. เติมเบนซีน 4 มล. ปิดจุกให้สนิทเขย่าแรง ๆ นาน 1 นาที ตั้งให้แยกชั้น ทิ้งน้ำยาชั้นล่าง น้ำยาชั้นบนเก็บไว้สำหรับตรวจสอบด้วยมินิคอลัมน์

การตรวจสอบ

ดูดน้ำยาที่สกัดด้วยเบนซีน 1 มล. ใส่ลงในมินิคอลัมน์ที่เตรียมไว้แล้วปล่อยให้สารละลายไหลออกมาด้วยแรงดึงดูดของโลกจนเกือบหมดจากผิวหน้าของสำลี ล้างมินิคอลัมน์ด้วยน้ำยาชะ ครั้งละ 1 มล.

อย่างน้อย 3 ครั้ง ปล่อยให้สารละลายไหลออกจนแห้งไปจากชั้นสำลี เช็ดปลายด้านล่างของมินิคอลัมน์ให้แห้ง นำมินิคอลัมน์ไปตรวจดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบความเข้มสารเรืองแสงสีฟ้าที่ชั้น florasil กับหลอดแก้วมินิคอลัมน์มาตรฐานที่รู้ปริมาณของอฟลาทอกซิน ($B_1 + B_2$) ขนาด 20 พีพีบี, 50 พีพีบี, 100 พีพีบี และ 150 พีพีบี

ผล

จากการตรวจสอบตัวอย่างอาหารสัตว์จากฟาร์มเปิดและไก่ ในเขตจังหวัดนครปฐม ราชบุรี ชลบุรี และฉะเชิงเทรา ในสองช่วงตามฤดูกาล คือ ในช่วงก่อนฤดูฝน (กุมภาพันธ์-เมษายน, 2529-2530) และในช่วงหลังฤดูฝน (ตุลาคม-ธันวาคม, 2528-2529) โดยวิธีมินิคอลัมน์โครมาโตกราฟี ปรากฏผลดังนี้

Table 1 แสดงผลการวิเคราะห์หาอฟลาทอกซินในอาหารสัตว์โดยวิธีมินิคอลัมน์โครมาโตกราฟีในช่วงก่อนฤดูฝน พบว่า 23.5%, 21.7%, 41.5% และ 68.9% ของตัวอย่าง อาหารสัตว์ที่เก็บจากฟาร์มในเขตจังหวัด

Table 1 Aflatoxin determination with minicolumn chromatography in the mixed feeds of poultry farms in Nakhon-Pathom, Ratchaburi, Chonburi and Chachoengsao provinces before the rainy season (February-April, 1986-1987)

Province	No. of samples analysed	Total percent of contaminated samples	Percentage of contaminated samples at different levels of aflatoxin				
			(ppb)				
			0	20	50	100	150
Nakhon-Pathom	34	23.5	76.5	-	23.5	-	-
Ratchaburi	23	21.7	78.3	8.7	13.0	-	-
Chonburi	41	41.5	58.5	26.8	9.8	2.4	2.4
Chachoengsao	74	68.9	31.1	29.7	21.6	6.8	10.8

นครปฐม (34 ตัวอย่าง), ราชบุรี (23 ตัวอย่าง), ชลบุรี (41 ตัวอย่าง) และฉะเชิงเทรา (74 ตัวอย่าง) ตามลำดับ มีอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ในระดับตั้งแต่ 20 – 150 พีพีบี โดยเฉพาะตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บจากฟาร์มในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา จะพบอฟลาทอกซินในระดับ 150 พีพีบี สูงถึง 10.8% ของจำนวนตัวอย่าง สังเกตได้ว่าตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บได้จากฟาร์มต่าง ๆ ในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนอฟลาทอกซินมากกว่าตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บจากจังหวัดอื่น แต่ไม่มีรายงานการสูญเสีย

สำหรับผลการวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์ในช่วงหลังฤดูฝน (Table 2) พบว่า 69.0%, 46.7%, 54.8% และ 95.9% ของตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บจากฟาร์มในเขตจังหวัดนครปฐม (29 ตัวอย่าง), ราชบุรี (45 ตัวอย่าง), ชลบุรี (42 ตัวอย่าง) และฉะเชิงเทรา (73 ตัวอย่าง) ตามลำดับ มีอฟลาทอกซินปนเปื้อนอยู่ในระดับตั้งแต่ 20–1,500 พีพีบี พบตัวอย่างอาหารสัตว์จำนวน 2 ตัวอย่าง (อาหารไก่เนื้อระยะแรก) ที่เก็บจากฟาร์มไก่ในเขตจังหวัดชลบุรี มีระดับอฟลาทอกซินสูง

สุดถึง 1,500 พีพีบี เพื่อเป็นการยืนยันอีกครั้ง จึงได้นำตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เหลือส่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขทำการวิเคราะห์โดยวิธี TLC (ตามวิธีวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC) พบว่าในตัวอย่างอาหารสัตว์ทั้งสองมีเชื้อรา *Aspergillus flavus* ปนเปื้อนในอาหารคิดเป็นร้อยละ 80 และ 100 และมีสารพิษอฟลาทอกซินจำแนกเป็น อฟลาทอกซิน B₁ 1,016.4 พีพีบี และ 1,191.5 พีพีบี, อฟลาทอกซิน B₂ 171.7 พีพีบี และ 199.7 พีพีบี ตามลำดับ ฉะนั้นรวมปริมาณอฟลาทอกซินที่พบทั้งสิ้น 1,188.1 และ 1,391.2 พีพีบี (ตามหมายเลขการวิเคราะห์ที่ 0.5990/28) และจากการติดตามผลของอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์จากฟาร์มไก่ดังกล่าว พบว่ามีอัตราการตายของลูกไก่เป็นจำนวนมากตั้งแต่อายุ 10 – 25 วัน ผลการผ่าพิสูจน์ซากทางห้องปฏิบัติการพบว่าตับมีสีเหลืองซีด (fatty liver) ในระดับต่าง ๆ กันและมีขนาดโตกว่าปกติ (Figure 1) และเนื้อเยื่อตับมี bile ducts proliferation (Figure 2)

นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างอาหารสัตว์จำนวน

Table 2 Aflatoxin determination with minicolumn chromatography in the mixed feeds of poultry farms in Nakhon-Pathom, Ratchaburi, Chonburi and Chachoengsao provinces after the rainy season (October-December, 1985-1986)

Province	No. of samples analysed	Total percent of contaminated samples	Percentage of contaminated samples at different levels of aflatoxin				
			(ppb)				
			0	20	50	100	150
Nakhon-Pathom	29	69.0	31.0	20.7	24.1	13.8	10.4
Ratchaburi	45	46.7	53.3	24.4	22.2	—	—
Chonburi*	42	54.8	45.2	14.3	16.7	16.7	2.4
Chachoengsao**	73	95.9	4.1	32.9	32.9	13.7	5.5

*Chonburi: 4.8% samples contained aflatoxins at 1,500 ppb.

**Chachoengsao: 8.2% and 2.8% samples contained aflatoxins, 200 and 500 ppb respectively.

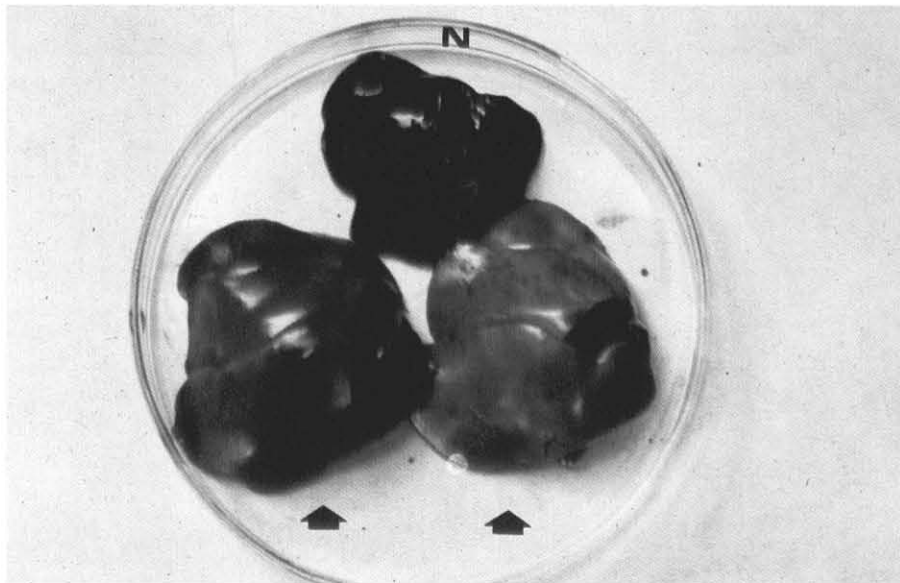


Figure 1 Comparison chicken liver exposed to aflatoxins at the level of 1,500 ppb. (arrow) with normal liver (N)

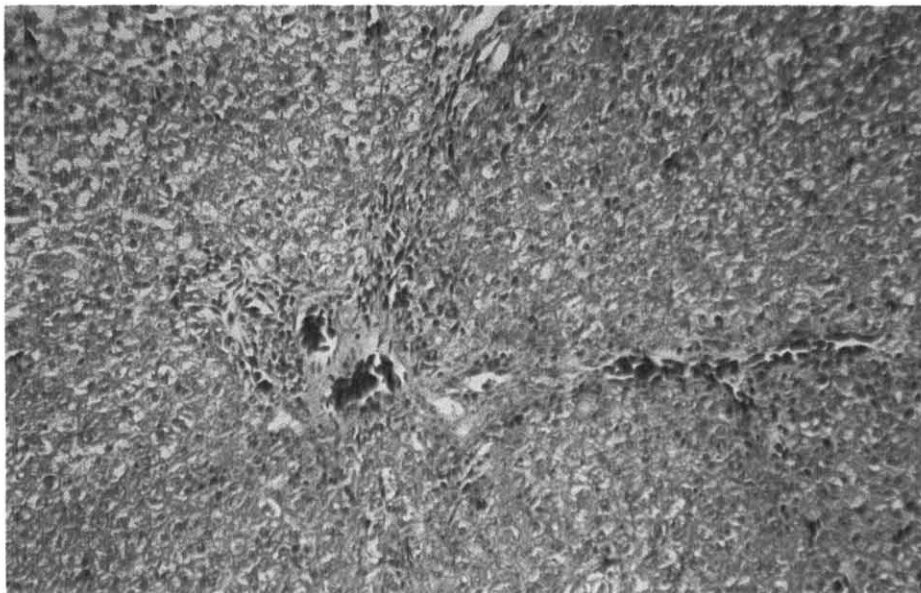


Figure 2. Histopathologic changes observed in liver of chicks : Proliferation of biliary ducts.

Table 3 Comparative percentage of aflatoxin contamination in mixed feeds of poultry farms in Nakhon-Pathom, Ratchaburi, Chonburi and Chachoengsao provinces before the rainy season (February-April, 1986-1987) and after the rainy season (October-December, 1985-1986)

	No. of samples analysed	Total percentage contaminated samples	Percentage of contaminated samples at different levels of aflatoxin							
			(ppb)							
			0	20	50	100	150	200	500	1,500
Before the rainy season (February-April)	171	38.9	61.1	16.3	17.0	2.3	3.3	—	—	—
After the rainy season (October-December)	189	66.5	33.4	23.1	24.0	11.1	4.6	2.1	0.7	1.2

3 ตัวอย่างจากฟาร์มเปิดเซอร์ในจังหวัดนครปฐม มีระดับฟลาทอกซินสูงเพียง 150 พีพีบี ซึ่งใช้เลี้ยงเป็ดตั้งแต่อายุ 1 วัน จนถึง 16 วัน พบว่ามีอัตราการตายสูงกว่าปกติโดยเฉลี่ยถึง 22.5%

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ทั้งหมดในช่วงระหว่างก่อนฤดูฝนและในช่วงหลังฤดูฝน (Table 3) จะเห็นได้ว่าตัวอย่างอาหารสัตว์มีโอกาสนปนเปื้อนสารพิษฟลาทอกซินในช่วงหลังฤดูฝนมากกว่าช่วงก่อนฤดูฝน กล่าวคือเพิ่มจาก 38.9% เป็น 66.5% และ Figure 3 เป็นแผนภูมิแสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของอาหารสัตว์ที่วิเคราะห์ พบฟลาทอกซินในช่วงก่อนฤดูฝนและหลังฤดูฝนในแต่ละเขตจังหวัด

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าดินฟ้าอากาศมีอิทธิพลต่อการปนเปื้อนสารพิษฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ โดยเชื้อราพวก *Aspergillus* spp. จะเจริญเติบโตในอาหารสัตว์ได้ง่าย จาก Table 3 จะเห็นว่าจำนวนตัวอย่าง

อาหารสัตว์ที่นำมาวิเคราะห์หาฟลาทอกซินในช่วงหลังฤดูฝน (ต.ค. – ธ.ค.) จะมีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนสูงกว่าในช่วงก่อนฤดูฝน (ก.พ. – เม.ย.) โดยเพิ่มจาก 38.9% เป็น 66.5% ซึ่งในช่วงหลังฤดูฝนของประเทศไทยจะมีความชื้นสูงและอุณหภูมิอยู่ในช่วง 27 – 30°C. ซึ่งถือว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมอย่างยิ่งต่อการสร้างสารพิษฟลาทอกซินของเชื้อรา (Davis and Deiner, 1970) ปริมาณฟลาทอกซินที่พบในอาหารสัตว์จะอยู่ในระดับ 20–1,500 พีพีบี ในจำนวนนี้มีตัวอย่างอาหารสัตว์ที่ตรวจพบฟลาทอกซินนี้มีเพียง 2 ตัวอย่าง (4.8%) เท่านั้นที่มีปริมาณสูงถึง 1,500 พีพีบี ซึ่งปริมาณฟลาทอกซินในระดับนี้ย่อมก่อให้เกิดอันตรายและการสูญเสียต่อสัตว์เลี้ยงได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง จากผลการติดตามแหล่งที่มาของอาหารสัตว์ทั้งสองตัวอย่าง พบว่าเป็นอาหารไก่เนื้อระยะแรกที่เหมาะสมใช้เองในฟาร์ม โดยในอาหารสัตว์มีส่วนประกอบข้าวโพดถึง 60% ซึ่งเป็นช่วงระยะที่ข้าวโพดมีราคาถูก ไก่ป่วยมีอัตราการตายมากกว่า 50% การผ่าซากพบตับเป็นสีเหลือง (fatty liver) และมีขนาดใหญ่กว่าปกติ (Figure 1) เมื่อทำการเปลี่ยนอาหารชุด

ใหม่ ซึ่งได้รับรายงานจากเจ้าของฟาร์มว่ามีอัตราการตายลดลง

นอกจากนี้ตัวอย่างอาหารสัตว์จากฟาร์มเปิดเซอร์รี่ในเขตจังหวัดนครปฐมจำนวน 3 ตัวอย่าง มีปริมาณอฟลาทอกซินสูงถึง 150 พีพีบี อาหารชุดนี้ใช้เลี้ยงเป็ดตั้งแต่อายุ 1 วัน ถึง 16 วัน พบว่ามีอัตราการตายสูงกว่าปกติ (22.5%) การผ่าซากพบตับเป็นสีเหลือง เห็นแนว lobule ชัดเจน ไตบวมเล็กน้อยและมีจุดเลือดออกกระจาย เมื่อนำเนื้อเยื่อตัดมาตรวจพบ progressive hyperplasia ของท่อน้ำดี ซึ่งถือเป็นรอยโรคเฉพาะของตับเป็ดที่ได้รับสารพิษอฟลาทอกซิน การที่เกิดปรากฏการณ์ธรรมชาติเช่นนี้ เนื่องจากเป็ดเป็นสัตว์ที่มีความทนทานต่อสารพิษอฟลาทอกซินน้อยที่สุด กล่าวคือมี LD_{50} เพียง 0.335 มก./กก. นน.ตัว (Butler, 1974)

ฉะนั้น ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงเป็ดจะต้องมีมาตรการการควบคุมและป้องกันการเกิดสารพิษอฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารที่ใช้เลี้ยง ถ้าเป็นไปได้ควรหลีกเลี่ยงการใช้เมล็ดข้าวโพดเป็นแหล่งโปรตีน จากการศึกษารั้วนี้พบว่าตัวอย่างอาหารสัตว์ที่ใช้ในฟาร์มเปิดในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา และชลบุรี ตรวจไม่พบสารพิษอฟลาทอกซินเลย ทั้งนี้เพราะสูตรอาหารเปิดที่ใช้ประกอบด้วยข้าวเปลือกบด รำหยาบ รำละเอียด ใบกระถิน ปลาป่น เป็นต้น

สิ่งที่น่าสังเกตคือ การวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์ที่เก็บจากฟาร์มต่าง ๆ ในเขตจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ของตัวอย่างอาหารสัตว์ที่ปนเปื้อนสารพิษอฟลาทอกซินสูงที่สุดทั้งในช่วงก่อนฤดูฝนและหลังฤดูฝน เมื่อเปรียบเทียบกับจังหวัดอื่น (Figure 3)

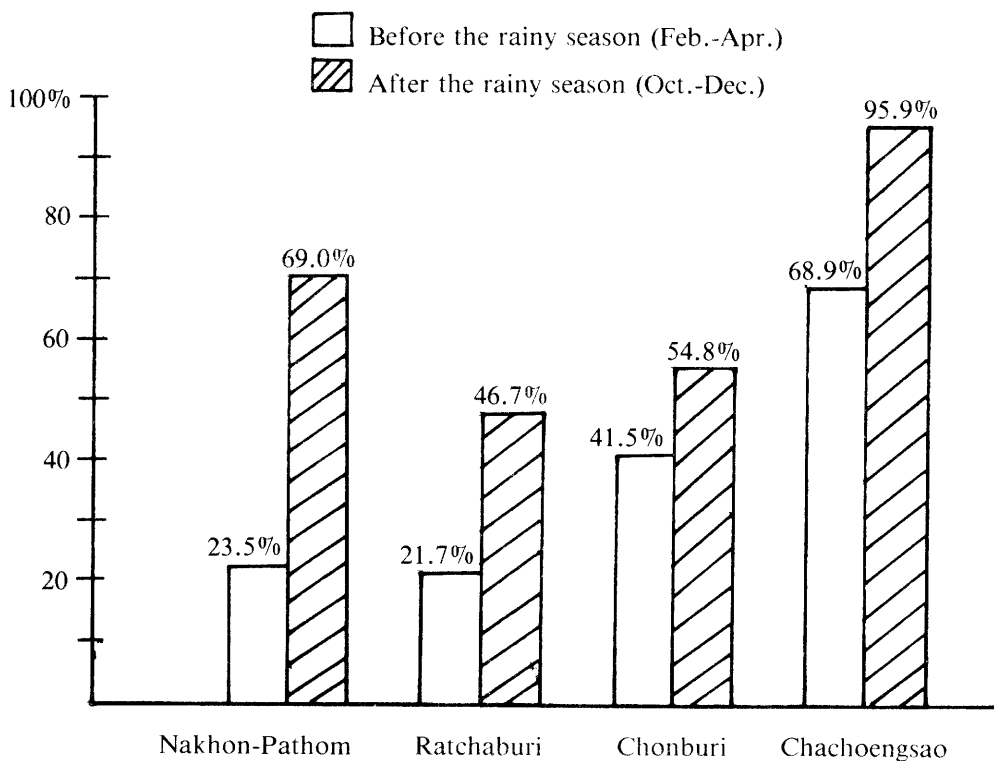


Figure 3. Histogram showing comparative percentage of aflatoxin contamination in mixed feed of poultry farms in Nakhon-Pathom, Ratchaburi, Chonburi and Chachoengsao provinces before the rainy season (February-April, 1986-1987) and after the rainy season (October-December, 1985-1986)

ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะสภาพภูมิอากาศในเขตจังหวัด จะเช็งเทรา เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของเชื้อราชนิดนี้ก็ได้ แม้ว่าปริมาณอฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ที่ตรวจพบ ไม่มีรายงานการสูญเสีย แต่ต้องคำนึงอยู่เสมอว่า การที่ร่างกายสัตว์ได้รับสารพิษอฟลาทอกซินในปริมาณน้อย ๆ เป็นเวลานาน ๆ อาจก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจได้ เพราะมีรายงานว่า ไก่กระทงถ้าได้รับอาหารที่มีปริมาณอฟลาทอกซิน B_1 ในระดับต่ำ ๆ เป็นเวลานาน ๆ แล้วจะมีผลไปขัดขวางเมแทบอลิซึมของร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุให้การกินอาหารลดลง และการเจริญเติบโตช้ากว่าปกติ (Maurice, *et al.*, 1983)

อย่างไรก็ตามปริมาณอฟลาทอกซินที่ตรวจพบโดยทั่วไปยังไม่สูงมากเกินกว่าที่คาดไว้ทั้ง ๆ ที่มีการใช้ข้าวโพดเป็นส่วนประกอบในอาหารผสมเป็นจำนวนมาก ซึ่งเป็นข้อยืนยันอีกอย่างหนึ่งว่า ในวงการอุตสาหกรรม การเลี้ยงสัตว์ปีกได้เล็งเห็นความสำคัญเกี่ยวกับสารพิษอฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหาร จึงได้เริ่มมีมาตรการการควบคุมป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนสารพิษอฟลาทอกซินมากนัก ซึ่งเมื่อเทียบกับรายงานของ Shank *et al.* (1972) พบว่าตัวอย่างอาหารสัตว์ในประเทศไทย มีปริมาณอฟลาทอกซินสูงถึง 5,000 พีพีบี

เนื่องจากฤดูกาลมีผลต่อการปนเปื้อนของสารพิษอฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ ฉะนั้นในช่วงหลังฤดูฝน เกษตรกรควรได้คำนึงการเก็บรักษารวมรวมอาหารสัตว์ที่ใช้ในฟาร์มจะต้องเพิ่มความระมัดระวังในเรื่องของเชื้อรา ซึ่งปัจจุบันถือว่าอฟลาทอกซิน ยังคงเป็นปัญหาระดับชาติ ที่จะต้องได้รับการแก้ไขทุก ๆ ด้าน ในโอกาสต่อไป ทั้งนี้เพื่อควมมีสุขภาพดีของมนุษย์และสัตว์

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณผู้มีส่วนช่วยให้โครง

การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ดังนี้สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนวิจัย คุณศรีสิทธิ์ การุณยะวนิช กองวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ได้ให้คำแนะนำเป็นอย่างดีในเรื่องการตรวจสอบอฟลาทอกซิน และ คุณจิตสุดา ชื่นวาริน ที่ได้ช่วยเหลือเรื่องการวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

- Butler, W.H. 1974. Aflatoxin. In : Purchase, I.F.H., ed. Mycotoxins, Amsterdam. Elsevier, 1 - 28.
- Davis, N.D. and U.L. Diener, 1970. Environmental factors affecting the production of aflatoxin. In : Herzberg, M., ed. Proceedings of the First US - Japan Conference on "Toxic Microorganisms", Washington, D.C., US Govt. Printing Office, 43 - 47.
- Edds. G.T., K.P.C. Nair, and C.F. Simpson, 1973. Effects of aflatoxin B_1 on resistance in poultry against cecal coccidiosis and Marek's disease. Am. J. Vet. Res., 34 : 819 - 826.
- Giambrone, J.J. ; D.L. Ewert, R.D. Wyatt, and C.S. Eidson, 1978. Effects of aflatoxin on the humoral and cell-mediated immune systems of the chicken. Amer. J. of Vet. Res. 39(2), 305 - 308.
- Heathcote, J.G., and J.P. Hibbert. 1978. Aflatoxins : Chemical and biological aspects. Developments in food science I. Elsevier Science Publishing, Inc., New York.
- Holaday, C.E. 1976. A rapid screening method for the aflatoxin and ochratoxin A.J. Am. Oil. Chem. Soc. 53, 603 - 605.
- Howarth, B., Jr., and R.D. Wyatt, 1976. Effect of dietary aflatoxin on fertility, hatchability and progeny performance of broiler breeder hens. Appl. Environ. Microbiol. 31(5) 680 - 684.

- Maurice, D.V., A.B. Bodine and N.J. Rehner. 1983. Metabolic effects of low aflatoxin B₁ levels on broiler chicks. *Appl. Environ. Microbiol.* 45(3) : 980 - 984.
- Romer, T.R. 1975. Screening method for the detection of aflatoxins in mixed feeds and other agricultural commodities with subsequent confirmation and quantitative measurement of aflatoxins in positive samples. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 58 : 500 - 506.
- Shank, R.C., G.N. Wogan, J.B. Gibson, and A.A. Nondasuta, 1972. Dietary Aflatoxins and Human Liver Cancer. II. Aflatoxins in Market Foods and Foodstuffs of Thailand and Hong Kong. *Food Cosmet. Toxicol.* 10 : 61 - 69.
- Stoloff, L. 1977. Aflatoxins-an Overview, p. 7-28. *In* J.V. Rodricks, C.W. Hessletine, and M. Mehlaman (ed). *Mycotoxins in human and animal health*. Pathotox Publishers, Inc., Park South, III.
- Wei, C., and D.P.H. Hsieh. 1980. Aflatoxins in human and animal health, p. 283 - 297. *In* : G.T. Edds (ed.), *Proceedings of the Annual Meeting of The U.S. Animal Health Association (83th)*, Gainesville, Fla.
- WHO, World Health Organization. 1979. *Mycotoxin*. WHO Environmental Health. Criteria, No. II, WHO, Geneva.