

การใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นตัวดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 และออกคราทอกซิน เอ

Using *Saccharomyces cerevisiae* as Aflatoxin B₁ and Ochratoxin A absorbing agents

วราพร รัตนเสนา^{1*} และ กิ่งแก้ว เจริญพรสุข¹

Waraporn Rattanasena^{1*} and Kingkeaw Charoenpornsook¹

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 (AFB₁) และออกคราทอกซิน เอ (OTA) ใน phosphate buffer saline (PBS) ของยีสต์ *S. cerevisiae* จำนวน 4 สายพันธุ์ (Hansen 5013, Hansen 5049, Hansen 5059, และ Hansen 5343) โดยนำ PBS ที่มี AFB₁ 100 ppb และ OTA 100 ppb ผสมกับเซลล์ยีสต์ พบว่า สายพันธุ์ Hansen 5013 และ Hansen 5049 ลด AFB₁ ใน PBS ลง 50.19 และ 49.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการทดสอบด้วยสายพันธุ์ Hansen 5059 และ 5343 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการดูดซับ OTA สายพันธุ์ Hansen 5013 และ Hansen 5049 ลด OTA ลงได้มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลดีกว่าการทดสอบด้วยอีกสองสายพันธุ์

คำสำคัญ : อะฟลาทอกซิน บี 1 ออกคราทอกซิน เอ ยีสต์

Abstract

The objective of this experiment was to compare the adsorption ability of *S. cerevisiae* 4 strains (Hansen 5013, Hansen 5049, Hansen 5059, and Hansen 5343) which used to reduce Aflatoxin B₁ (AFB₁) and Ochratoxin A (OTA) from the phosphate buffer saline (PBS). Yeast cells were mixed with AFB₁ 100 ppb and OTA 100 ppb. The results indicated that Hansen 5013 and Hansen 5049 reduced AFB₁ 50.19% and 49.40% respectively, which were better than Hansen 5059 and Hansen 5343. Similarly, the OTA reduction of Hansen 5013 and Hansen 5049 were more 70%, which higher than another strains.

Keywords : Aflatoxin B₁, Ochratoxin A, *Saccharomyces cerevisiae*

¹ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปทุมธานี 12120

¹ Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Pathumthani, 12120

* Corresponding author. E-mail: rattanasena@gmail.com

บทนำ

สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) เป็นผลผลิตทุติยภูมิที่เกิดขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตของเชื้อราบางสายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium proliferatum* เป็นต้น โดยราสายพันธุ์ต่างๆ อาจมีการสร้างสารพิษออกมาได้หลากหลายชนิด อันส่งผลให้วัตถุดิบอาหารมีโอกาสนปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อรามากกว่าหนึ่งชนิด จุดเริ่มต้นของปัญหามาจากวัตถุดิบกลุ่มพืชพันธุ์ธัญญาหารต่างๆ ที่มีสารพิษจากเชื้อราปนเปื้อนมาตั้งแต่ขณะเพาะปลูก จนหลังการเก็บเกี่ยวในระหว่างการเก็บรักษาเชื้อราจะยังคงผลิตสารพิษออกมา แม้ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสารพิษจากเชื้อราที่มีความคงตัวสูงจะไม่สลายตัวในความร้อนระดับของการแปรรูปอาหารโดยปัจจุบัน สารพิษจากเชื้อรา มีอยู่ราว 350-400 ชนิด (Schatzmayr and Streit, 2013) รายงานตรวจพบสารพิษจากเชื้อรา มีทั้งใน ธัญพืช ผลไม้ น้ำมัน เนื้อสัตว์ เครื่องเทศ เครื่องดื่ม และน้ำมันพืช (Jørgensen and Petersen, 2002; Vanesa and Ana, 2013) เมื่อร่างกายของคนหรือสัตว์ที่ได้รับสารพิษจะแสดงอาการหลากหลายไปตามลักษณะจำเพาะของสารพิษนั้นเช่น อะฟลาทอกซิน ส่งผลต่อตับและระบบภูมิคุ้มกัน ออกคราทอกซิน มีความเป็นพิษต่อตับและไต พูโมนิซินมีความเป็นพิษต่อตับ ไต และทางเดินหายใจ ส่วนซีราลีโน พบปัญหาที่ระบบสืบพันธุ์เป็นหลัก เป็นต้น นอกจากนี้ มีรายงานว่าสารพิษที่ปนเปื้อนพร้อมกัน จะเสริมฤทธิ์กันในการทำลายสุขภาพ เช่น อะฟลาทอกซิน บี 1 และออกคราทอกซิน เอ มีฤทธิ์เสริมกัน

ในการทำลายสุขภาพของไก่และกระต่ายโดยจะพบอาการที่ตับและไตมากกว่ากลุ่มที่ได้รับสารพิษเพียงชนิดเดียว (Orlando, 2011; Prabu *et al.*, 2013)

หนึ่งในกระบวนการแก้ปัญหาสารพิษปนเปื้อนจากเชื้อราโดยใช้ toxin binder นั้นมีการศึกษาเกี่ยวกับการเติมผนังเซลล์ของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในรูป esterified-glucomannan ลงในอาหารสัตว์เพื่อลดการสะสมของอะฟลาทอกซินออกคราทอกซินและทีทูทอกซินในร่างกายสัตว์ และมีการใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมักหรือการบ่มอาหารเพื่อลดการสร้างสารพิษจากเชื้อราและลดการปนเปื้อน เช่น ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เมล็ดกาแฟ อาหารหมักดอง (Shetty *et al.*, 2007; Velmourougane *et al.*, 2011; Kapetanakou *et al.*, 2012; Pizzolitto *et al.*, 2012a) โดยหลายงานวิจัยพบว่าเชื้อยีสต์ที่ตายแล้วจะมีประสิทธิภาพในการดูดซับสารพิษจากเชื้อราที่ดีกว่าเชื้อยีสต์ที่มีชีวิต (Shetty and Jespersen, 2006; Pizzolitto *et al.*, 2012b; Corassin *et al.*, 2013) Matur *et al.* (2011) ได้ทดสอบประสิทธิภาพของ Alphamune G ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มาจาก outer cell membrane ของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ประกอบไปด้วย β -glucan และ mannan-oligosaccharides ในการลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารไก่แม่พันธุ์โดยติดตามข้อมูลค่าทางโลหิตวิทยาและเซลล์เกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกัน พบว่าการเติม Alphamune G ลงในอาหารช่วยลดความเป็นพิษของอะฟลาทอกซินและช่วยเพิ่มความสามารถของระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ (non specific immune system) ให้ดีขึ้น

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือการทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน ปี 1 และออกคราฟอกซิน เอ ของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 4 สายพันธุ์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารไก่เนื้อ

วิธีการศึกษา

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารละลาย phosphate buffer saline (PBS) เตรียมจาก sodium chloride (NaCl) 9 กรัม disodium hydrogen phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 0.795 กรัม และ potassium hydrogen phosphate (KH_2PO_4) 0.114 กรัม เติมน้ำกลั่น (deionized water) จนครบ 1 ลิตร ทำการปรับ pH เป็น 7.4 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi นาน 15 นาที (autoclave) สารพิษมาตรฐานอะฟลาทอกซิน ปี 1 (Aflatoxin B1, SupelcoTM) และสารพิษมาตรฐานออกคราฟอกซิน เอ (Ochratoxin A, SupelcoTM) ถูกนำมาระเหยแห้งด้วยไนโตรเจนเหลวเพื่อกำจัดตัวทำละลายตั้งต้น จากนั้นเติมเมทานอล (methanol, HPLC grade FisherTM) ปรับความเข้มข้นเป็น 600 ppb

การเตรียมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*

เชื้อ *S. cerevisiae* 4 สายพันธุ์ทำการซื้อจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ดังนี้

- Hansen 5013 (wine production)
- Hansen 5049 (California wine yeast)
- Hansen 5343 (single cell protein)
- Hansen 5059 (bread yeast)

นำเชื้อมาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว potato dextrose broth (DifcoTM, pH 5.5) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 rpm เมื่อเชื้อเจริญเข้าสู่ช่วง log phase นำไป autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 psi นาน 15 นาที จากนั้นล้างเซลล์ยีสต์ด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 2 ครั้งและทำการอบแห้ง ก่อนการทดสอบกับสารพิษทำการเติม PBS เพื่อให้อยู่ในรูปเซลล์แขวนลอย (cell suspension) โดยตรวจนับปริมาณเซลล์ด้วย Hemacytometer

การทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษในหลอดทดลอง

แผนการทดลองออกแบบเป็นแบบสุ่มโดยสมบูรณ์ (completely randomized design) โดยแบ่งกลุ่มทดลองออกเป็นดังนี้

กลุ่มที่ 1 (negative control) ประกอบด้วยเมทานอลที่ไม่มีสารพิษ 100 ไมโครลิตร ผสมเข้ากับ PBS ที่ไม่มีเซลล์ยีสต์ 200 ไมโครลิตร

กลุ่มที่ 2 (positive control) ประกอบด้วยเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซิน ปี 150 ไมโครลิตรและออกครา-ทอกซิน เอ 50 ไมโครลิตร (สารพิษมาตรฐานทั้งสองชนิดถูกเตรียมความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 600 ppb) ผสมเข้ากับ PBS ที่ไม่มีเซลล์ยีสต์ 200 ไมโครลิตร โดยผลการวัดค่าปริมาณสารพิษจากกลุ่มนี้นำไปคำนวณเป็น %recovery ของการทดลอง

กลุ่มที่ 3-18 (experimental units) ประกอบด้วยเมทานอลที่มีอะฟลาทอกซิน ปี 150 ไมโครลิตร และออกคราฟอกซิน เอ 50 ไมโครลิตร ผสมเข้ากับ PBS ที่มีเซลล์ยีสต์ 200 ไมโครลิตร โดยทดสอบกลุ่มละ

1 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 4 ระดับ คือ 10^7 , 10^8 , 10^9 และ 10^{10} เซลล์/มิลลิลิตร

กลุ่มทดลองทั้งหมดถูกบ่มที่ 40 °C เขย่าความเร็วรอบ 200 rpm นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 1800g นาน 15 นาที เก็บส่วนน้ำใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณสารพิษที่คงเหลือใน PBS ด้วยเทคนิค enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การทดสอบวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน บี 1 และออกคราทอกซิน เอ

ดำเนินการตรวจวิเคราะห์หวั้ดปริมาณของอะฟลาทอกซิน บี 1 และออกคราทอกซิน เอ ที่คงเหลือใน PBS ด้วยชุดทดสอบ ScreenEZ Aflatoxin ELISA test kit (limit of detection 0.4 ppb) ชื่อจากบริษัทสยามอินเตอร์คอวลิตี้ จำกัด และชุดทดสอบ Ridascreen® Fast Ochratoxin A test kit (limit of detection 5 ppb) ชื่อจากบริษัท จักรมารัติน อินเตอร์วิรอนเทค จำกัด ตามลำดับ อ่านผลด้วยเครื่อง ELISA Reader TECAN รุ่น sunrise remote

การวิเคราะห์ทางสถิติ

คำนวณสัดส่วนของของอะฟลาทอกซิน บี 1 และออกคราทอกซิน เอ ใน PBS ที่ลดลง (%reduction) ดังสมการ (1)

ผลการทดสอบถูกนำมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS ver. 11.5 for window

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test กำหนดระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p < 0.05$)

สถานที่ดำเนินการวิจัย

1. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต (เลขที่ 99 หมู่ 18 ถ.พหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี)

2. ห้องปฏิบัติการทดสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (เลขที่ 91 หมู่ 4 ต.บางกะดี อ.เมือง จ.ปทุมธานี)

ช่วงเวลาดำเนินการวิจัย

ดำเนินการวิจัยระหว่าง 1 กุมภาพันธ์ 2557 ถึง 30 เมษายน 2557

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

ผลการทดลองกลุ่มที่ 2 (positive control) แสดง %recovery การทดลองของอะฟลาทอกซิน บี 1 อยู่ที 102.46 เปอร์เซ็นต์ และ ออกคราทอกซิน เอ อยู่ที 99.75 เปอร์เซ็นต์ ปัจจัยที่มีผลต่อ %recovery ได้แก่ ตัวทำละลายซึ่งในการทดสอบนี้คือ เมทานอล กับ PBS วิธีการตรวจวิเคราะห์ ความผิดพลาดจากอุปกรณ์และผู้ทดสอบ รวมไปถึงระยะเวลาการเก็บรักษาตัวอย่างก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์อันส่งผลให้ %recovery ของการทดสอบมีการผันแปรไปเล็กน้อย

$$\% \text{ Reduction} = \frac{\text{ความเข้มข้นสารพิษในกลุ่ม Positive control} - \text{ความเข้มข้นสารพิษในกลุ่มทดลอง}}{\text{ความเข้มข้นสารพิษในกลุ่ม Positive control}} \times 100 \quad (1)$$

เซลล์ของยีสต์ *S. cerevisiae* มีส่วนผนังเซลล์ ด้านนอกที่ประกอบไปด้วย พอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกลูแคนและแมนแนนและมีไคติน โปรตีนไขมันและสารอินทรีย์เป็นส่วนน้อย โดยกลูแคนที่พบในผนังเซลล์ยีสต์มี 2 ชนิดคือ เบต้า 1,3 กลูแคนและเบต้า 1,6 กลูแคน ทั้งนี้กลูแคนในผนังเซลล์จะเชื่อมกับโปรตีนโดยพันธะไดซัลไฟด์ ขณะที่แมนแนนจะเกาะกับโปรตีนโดยพันธะโควาเลนต์เรียกว่า แมนโนโปรตีน องค์ประกอบของผนังเซลล์นั้นสามารถ

แตกต่างกันไปได้ตามสายพันธุ์ ระยะการเจริญเติบโต และสภาวะในการเพาะเลี้ยง (Calleja, 1987; Klis *et al.*, 2002; Alberghina *et al.*, 2012) รวมไปถึงการนำไป autoclave ที่นอกจากจะทำให้เซลล์ตายอย่างสมบูรณ์แล้วก็มีผลต่อโครงสร้างของผนังเซลล์พบว่า โปรตีนบางส่วนถูก denature และพันธะเปปไทด์ถูกทำลาย โครงข่ายของพอลิแซ็กคาไรด์มีความพรุนมากขึ้นและขนาดรูพรุนใหญ่ขึ้น (Kasperkovitz *et al.*, 2011)

Table 1 Percentages of Aflatoxin B₁ reduction by autoclaved *S. cerevisiae* cells after were incubated at 40 °C for 4 hours. (mean±S.D.)

cell concentrations (cells/ml)	<i>S. cerevisiae</i> strains			
	Hansen 5013	Hansen 5049	Hansen 5059	Hansen 5343
10 ⁷	1.54±0.37 ^a	0.79±0.03 ^a	5.06±0.09 ^b	1.09±0.11 ^a
10 ⁸	7.90±1.87 ^a	15.35±0.41 ^b	15.17±0.81 ^b	12.91±1.91 ^b
10 ⁹	29.09±1.08 ^c	28.37±1.02 ^{bc}	26.31±1.09 ^b	18.69±1.97 ^a
10 ¹⁰	50.19±1.88 ^b	49.40±3.18 ^b	35.58±1.16 ^a	35.76±1.39 ^a

^{a-c} Values within a row with the same superscripts are not significantly different ($p < 0.05$).

Table 2 Percentages of Ochratoxin A reduction by autoclaved *S. cerevisiae* cells after were incubated at 40 °C for 4 hours. (mean±S.D.)

cell concentrations (cells/ml)	<i>S. cerevisiae</i> strains			
	Hansen 5013	Hansen 5049	Hansen 5059	Hansen 5343
10 ⁷	2.96±0.05 ^a	2.96±0.05 ^a	2.99±0.17 ^a	5.50±0.46 ^b
10 ⁸	7.57±0.45 ^a	7.57±0.45 ^a	10.60±1.76 ^{bc}	8.62±0.57 ^{ab}
10 ⁹	29.41±1.68 ^c	29.41±1.68 ^c	14.53±2.73 ^a	26.50±1.18 ^b
10 ¹⁰	76.63±3.03 ^c	76.63±3.03 ^c	67.21±1.09 ^a	71.68±1.00 ^b

^{a-c} Values within a row with the same superscripts are not significantly different ($p < 0.05$).

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน ปี 1 Table 1 และ Table 2 พบว่าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ทุกสายพันธุ์สามารถลดความเข้มข้นของอะฟลาทอกซิน ปี 1 และอะคราทอกซิน เอ ใน PBS ได้ โดยจำนวนเซลล์ใน PBS มีผลต่อสัดส่วนของสารพิษที่ลดลงและเมื่อเปรียบเทียบที่ระดับ 10^9 และ 10^{10} เซลล์/มิลลิลิตร เชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ Hansen 5013 และ Hansen 5049 มีแนวโน้มในการดูดซับอะฟลาทอกซิน ปี 1 ที่ดีกว่าสายพันธุ์ Hansen 5059 และ Hansen 5343 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษอะคราทอกซิน เอกกล่าวคือ ที่ระดับ 10^9 และ 10^{10} เซลล์/มิลลิลิตร เชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ Hansen 5013 และ Hansen 5049 สามารถดูดซับอะคราทอกซิน เอ ได้ดีกว่าอีกสองสายพันธุ์ โดยการศึกษาควบคุมปัจจัยอื่นๆ อันส่งผลต่อประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษเช่น อุณหภูมิและระยะเวลาการบ่ม สภาวะการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ ความเข้มข้นของสารพิษและปริมาณเซลล์ รวมถึงส่วนประกอบภายในหลอดทดลองให้สม่ำเสมอ

เซลล์ยีสต์ที่ตายแล้วจากการ autoclave นั้นจะไม่มีกระบวนการ metabolism ในการขับหรือเปลี่ยนสารพิษไปอยู่ในรูปอื่น เมื่อไม่มี metabolic activation การเข้าจับก็ไม่สามารถที่จะสร้างพันธะ covalent ขึ้นมาได้ จึงเป็นไปได้ว่าองค์ประกอบที่พื้นผิวของเชื้อจุลินทรีย์ต้องอาศัยพันธะ non covalent ในการเข้าจับกับสารพิษ (Haskard *et al.*, 2000) ซึ่งในงานวิจัยของ Pizzolitto และคณะ (2012b) พบว่าผนังเซลล์เป็นส่วนสำคัญที่มีบทบาทในการดูดซับสารพิษฟูโมนิซิน ปี 1 ซึ่งสอดคล้องกับ

การทดสอบกับสารพิษจากเชื้อราชนิดอื่น เช่น ซีราลีโนน อะฟลาทอกซิน ปี 1 อะคราทอกซิน เอ เป็นต้น (Jouany *et al.*, 2005; Nunez *et al.*, 2008; Matur *et al.*, 2011; Mendoza *et al.*, 2011; Armando *et al.*, 2012) กลไกในการที่ผนังเซลล์ยีสต์เข้ามาจับกับสารพิษในการดูดซับหรือจับกับสารพิษจากเชื้อรายังไม่เป็นที่ยืนยัน จากการศึกษาของ Jouany และคณะ (2005) ได้แสดงให้เห็นว่าเบต้ากลูแคนที่ผนังเซลล์จะเกิดพันธะไฮโดรเจนและอาศัยแรง van der Waals จับเข้ากับสารพิษซีราลีโนนเกิดเป็นโมเลกุลเชิงซ้อนซึ่งพันธะดังกล่าวอาจมีการหลุดออกได้ ทำให้การดูดซับสารพิษไม่เป็นแบบถาวร จึงมีการทดสอบภายใต้จำลองสภาวะทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตพบว่าเซลล์ *S. cerevisiae* ที่เข้าจับกับสารพิษซีราลีโนน อะฟลาทอกซิน ปี 1 และอะคราทอกซิน เอ หลังผ่านจำลองสภาวะทางเดินอาหารไม่มีการปล่อยสารพิษที่ดูดซับไว้หลุดออกมา (Avantaggiato *et al.*, 2003; Armando *et al.*, 2012; Pizzolitto *et al.*, 2012a)

ความแตกต่างของสายพันธุ์ยีสต์จะมีผลต่อขนาดเซลล์ ความหนาของผนังเซลล์ สัดส่วนขององค์ประกอบภายในโครงสร้างเซลล์ และการจัดเรียงตัวของโมเลกุลโครงสร้างต่างๆ (Calleja, 1987; Jouany *et al.*, 2005; Armando *et al.*, 2012) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวคาดว่าจะมีผลต่อการเข้าจับสารพิษจากเชื้อรา แต่ยังไม่มีการศึกษายืนยันที่แน่ชัดว่าเซลล์ยีสต์ที่ขนาดใหญ่หรือมีผนังเซลล์หนากว่าจะส่งผลให้การดูดซับสารพิษดีขึ้น การได้มาซึ่งข้อมูลประกอบเหล่านี้ อาจทำให้ทราบกลไกการดูดซับสารพิษที่ชัดเจนมากขึ้น อันนำไปสู่รูปแบบการจำลองโมเลกุล

ของตัวดูดซับที่มีประสิทธิภาพและความจำเพาะดีขึ้น หากนำมาพัฒนาเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรมสิ่งที่ต้องพิจารณานอกเหนือจากประสิทธิภาพการดูดซับ สารพิษต้องพิจารณาปัจจัยร่วมเช่น อัตราการเจริญของเชื้อ ผลพลอยได้อื่นๆ ของการเติมเชื้อยีสต์ในอาหาร ความคงตัวและสม่ำเสมอของคุณสมบัติตัวเชื้อ และผลการทดสอบในสภาวะการใช้งานจริง

สรุป

เซลล์เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ที่ผ่านการ autoclave แล้วสามารถดูดซับสารพิษของอะฟลาทอกซิน บี 1 และ ออคราทอกซิน เอ ได้โดยสายพันธุ์ของเชื้อที่นำมาใช้มีผลต่อประสิทธิภาพในการดูดซับสารพิษทั้งสองชนิด การที่เซลล์ซึ่งถูกทำให้ตายแล้วมีความสามารถในการเข้าจับกับสารพิษได้นั้นบ่งชี้ถึงรูปแบบการเข้าจับกับสารพิษเป็นลักษณะทางกายภาพ ประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษที่ไม่เท่ากันของทั้ง 4 สายพันธุ์จึงอาจเป็นผลจากโครงสร้างทางกายภาพของเซลล์ที่แตกต่างกัน ซึ่งการศึกษาถึงกลไกการดูดซับสารพิษนั้นควรทราบถึงโครงสร้างของเซลล์ยีสต์ การจัดเรียงตัวของโมเลกุลภายในผนังเซลล์ รวมไปถึงขนาดเซลล์มาประกอบการพิจารณา

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและบริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร จำกัดภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม พอว. ระดับปริญญาโท โดยความเห็นในรายงานผลการวิจัยเป็นของผู้รับทุน สำนักงานกองทุน

สนับสนุนการวิจัยและบริษัท ศูนย์วิทยาศาสตร์เบทาโกร จำกัด ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป และขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ภายใต้ “ทุนวิจัยทั่วไป” ตามสัญญาเลขที่ ทน 44/2557

เอกสารอ้างอิง

- Alberghina, L., G. Mavelli, G. Drovandi, P. Palumbo, S. Pessina, F. Tripodi, P. Coccetti and M. Vanoni. 2012. Cell growth and cell cycle in *Saccharomyces cerevisiae*: Basic regulatory design and protein-protein interaction network. *Biotechnol Adv* 30: 52-72.
- Armando, M.R., R.P. Pizzolitto, C. A. Dogi, A. Cristofolini, C. Merkis, V. Poloni, A.M. Dalcero and L.R. Cavaglieri. 2012. Adsorption of ochratoxin A and zearalenone by potential probiotic *Saccharomyces cerevisiae* strains and its relation with cell wall thickness. *J Appl Microbiol* 113: 256-264.
- Avantaggiato, G., R. Havenaar and A. Visconti. 2003. Assessing the zearalenone-binding activity of adsorbent materials during passage through a dynamic in vitro gastrointestinal model. *Food Chem Toxicol* 41: 1283-1290.
- Calleja, G.B. 1987. Cell aggregation. pp. 165-238. In: Rose A.H. and Harrison J.S. (eds.). The Yeasts. Vol.2 Yeast and the Environment. Academic Press, London.
- Corassin, C.H., F. Bovo, R.E. Rosim and C.A.F. Oliveira. 2013. Efficiency of *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria strains to bind aflatoxin M₁ in UHT skim milk. *Food Control* 31: 80-83.

- Haskard, C., C. Binnion and J. Ahokas. 2000. Factors affecting the sequestration of aflatoxin by *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Chem Biol Interact* 128: 39-49.
- Jørgensen, K. and A. Petersen. 2002. Content of ochratoxin A in paired kidney and meat samples from healthy Danish slaughter pigs. *Food Addit Contam* 19: 562-567.
- Jouany, J. P., A. Yiannikouris and G. Bertin. 2005. The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of *Saccharomyces cerevisiae* have been identified. *Archiva Zootechnica* 8: 26-50.
- Kapetanakou, A.E., J.N. Kollias, E.H. Drosinos and P.N. Skandamis. 2012. Inhibition of *A. carbonarius* growth and reduction of ochratoxin A by bacteria and yeast composites of technological importance in culture media and beverages. *Int J Food Microbiol* 152: 91-99.
- Kasperkovitz, P.V., N.S. Khan, J.M. Tam, M.K. Mansour, P.J. Davids and J.M. Vyas. 2011. Toll-like receptor 9 modulates macrophage antifungal effector function during innate recognition of *Candida albicans* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Infect Immun* 79(12): 4858-4867.
- Klis, F.M., P. Mol, K. Hellingwerf and S. Brul. 2002. Dynamics of cell wall structure in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Rev* 26: 239-256.
- Matur, E., E. Ergul, I. Akyazi, E. Eraslan, G. Inal, S. Bilgic and H. Demircan. 2011. Effects of *Saccharomyces cerevisiae* extract on haematological parameters, immune function and the antioxidant defence system in breeder hens fed aflatoxin contaminated diets. *Brit Poult Sci* 52(5): 541-550.
- Mendoza, A. H., L. R. Jimenez and H. S. Garcia. 2011. Assessment of Aflatoxin B₁ binding to *Lactobacillus reuteri* by microscopy and fluorescence techniques. *Food Biotechnol* 25: 140-150.
- Nunez, Y.P., E. Pueyo, A.V. Carrascosa and A.J. Martinez-Rodriguez. 2008. Effects of aging and heat treatment on whole yeast cells and yeast cell walls and on adsorption of ochratoxin A in a wine model system. *J food protect* 71: 1496-1499.
- Orlando, O. 2011. Interaction and effects of mycotoxins in poultry. *International Poultry Production* 19(4):7-9.
- Pizzolitto, R.P., M.R. Armando, M. Combina, L.R. Cavaglieri, A.M. Dalcero and M.A. Salvano. 2012a. Evaluation of *Saccharomyces cerevisiae* strains as probiotic agent with aflatoxin B₁ adsorption ability for use in poultry feedstuffs. *J Environ Sci Health (B)* 47: 933-941.
- Pizzolitto, R.P., M.A. Salvano and A.M. Dalcero. 2012b. Analysis of fumonisin B₁ removal by microorganisms in co-occurrence with aflatoxin B₁ and the nature of the binding process. *Int J Food Microbiol* 156: 214-221.
- Prabu, P.C., P. Dwivedia and A.K. Sharma. 2013. Toxicopathological studies on the effects of aflatoxin B₁, ochratoxin A and their interaction in New Zealand white rabbits. *Exp Toxicol Pathol* 65: 277-286.
- Schatzmayer, G. and E. Streit. 2013. Global occurrence of mycotoxins in the food and feed chain: facts and figures. *World Mycotoxin J* 6(3): 213-222.

- Shetty, P. H. and L. Jespersen. 2006. *Sacchaaromyces cerevisiae* and Lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating agents. *Trends Food Sci Tech* 17: 48-55.
- Shetty, P.H., B. Hald and L. Jespersen. 2007. Surface binding of aflatoxin B1 by *Saccharomyces cerevisiae* strains with potential decontaminating abilities in indigenous fermented foods. *Int J Food Microbiol* 113: 41-46.
- Streit, E., G. Schatzmayr, P. Tassis, E. Tzika, D. Marin, I. Taranu, C. Tabuc, A. Nicolau, I. Aprodu, O. Puel and I.P. Oswald. 2012. Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed-focus on Europe. *Toxins* 4: 788-809.
- Vanesa, D. and P. Ana. 2013. Occurrence of Ochratoxin A in coffee beans, ground roasted coffee and soluble coffee and method validation. *Food Control* 30: 675-678.
- Velmourougane, K., R. Bhat, T.N. Gopinandhan and P. Panneerselvam. 2011. Management of *Aspergillus ochraceus* and Ochratoxin-A contamination in coffee during on-farm processing through commercial yeast inoculation. *Biol Control* 57: 215-221.