

การศึกษาปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีของ Aflatoxin B₁ จากข้าวโพด และถั่วลิสงบด ด้วยแบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง

Bioaccessibility of Aflatoxin B₁ in Grinded Corn and Peanut by *in vitro* Digestion Model

วิษชาดา สิมลา¹, สุพัตรา ปรศุพัฒน์^{2*}, ปิยะดา ส่งเสริมสกุล³

Witchada Simla¹, Supatra Porasuphatana^{2*}, Piyada Songsermsakul³

Received: 31 March 2009 Accepted: 13 August 2009

บทคัดย่อ

อะฟลาทอกซินบีหนึ่ง (Aflatoxin B₁, AFB₁) เป็นเมแทบอไลต์ที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus Parasiticus* นับเป็นสารพิษที่มีอันตรายต่อร่างกายอย่างมากหากได้รับเข้าไปอย่างต่อเนื่องและเป็นเวลานาน ในข้าวโพดและถั่วลิสงบดมักมีการปนเปื้อนของสารพิษนี้อยู่เสมอและไม่อาจหลีกเลี่ยงการเกิดสารพิษได้ การนำแบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestion) มาใช้เพื่อประเมินการปลดปล่อย (bioaccessibility) สารพิษของเชื้อราจากอาหารนั้นทำให้ทราบถึงปริมาณของ AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยออกจากข้าวโพดและถั่วลิสง และใช้ Trifluoroacetic acid ทำอนุพันธ์กับ AFB₁ เพื่อหาปริมาณด้วยเครื่อง HPLC-fluorescent detector ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณการปลดปล่อย AFB₁ สู่กระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้น (chyme) นั้นสัมพันธ์กับปริมาณของ AFB₁ ที่มีอยู่ในข้าวโพดและถั่วลิสงบด และยังพบว่า การปลดปล่อยของ AFB₁ ในข้าวโพดและถั่วลิสงบดนั้นมากถึงร้อยละ 95 สำหรับในข้าวโพดและร้อยละ 94 ในถั่วลิสง หากับประทานข้าวโพดและถั่วลิสงบดที่มีการปนเปื้อนเข้าไปจะมีการปลดปล่อยสาร AFB₁ ออกมาสู่อาหารในกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนต้น อันนำไปสู่การถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพในที่สุด โดยปริมาณของสาร AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยออกมานั้นอาจถือได้ว่าเป็นปริมาณของการได้รับสัมผัสกับสาร AFB₁ จากการรับประทานได้โดยตรง และจะเป็นประโยชน์อย่างมากหากนำมาประยุกต์ใช้ในการบวการประเมินความเสี่ยงการได้รับสัมผัสจากสาร AFB₁

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซินบีหนึ่ง, การหาปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธี, แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง, วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2552; 5(2): 108-113

Abstract

Aflatoxin B₁ (AFB₁) is a secondary metabolite produced principally by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus Parasiticus*. This toxin represents a significant health hazard for those exposed to it continually for a prolonged

¹ นิสิต, หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิชาพิษวิทยา) ² ปร.ด. อาจารย์, ³ ปร.ด. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น

¹ M.Sc. student (Toxicology), ² Ph.D., Lecturer, ³ Ph.D., Assistant Professor, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen

* Corresponding author: Supatra Porasuphatana, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Tel. +66 4336 2089 E-mail: psupatra@kku.ac.th

period. Aflatoxigenic molds are commonly found in corn and peanuts, and under certain conditions aflatoxins will be formed. *In vitro* digestion is a method that has been used to estimate the bioaccessibility of chemicals and contaminants in foods. An *in vitro* digestion experiment was carried out in this study to analyze the bioaccessibility of AFB₁ in grinded corn and peanut. Trifluoroacetic acid–derivatized AFB₁ was measured using a HPLC–fluorescent detector. Results indicated that the bioaccessibility of AFB₁ in grinded corn and peanut was relatively high at 95% 94%, respectively. When AFB₁–contaminated grinded corn and peanut are ingested, most of the AFB₁ will be dissolved into chyme, with this strongly influencing the bioavailability of AFB₁ in humans. This may have important implications on dietary exposure. Findings from the current study could be applied to improve risk assessment of ingested AFB₁.

Keywords : AFB₁, bioaccessibility, *in vitro* digestion

IJPS 2009; 5(2): 108-113

บทนำ

Aflatoxin B₁ (AFB₁) สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. Parasiticus* ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีความสามารถในการก่อมะเร็ง ก่อการกลายพันธุ์ และส่งผลอันตรายต่อสุขภาพของคนและสัตว์ที่บริโภคสารพิษจากเชื้อรานี้ เช่น การเกิดโรค aflatoxicosis และการเกิดมะเร็งตับ เป็นต้น ปัจจุบัน International Agency for Research on Cancer (IARC) ได้จัดให้ AFB₁ อยู่ใน Class 1 ที่ถือว่าเป็นสารที่สามารถก่อให้เกิดมะเร็งได้ ด้วยเหตุนี้จึงมีผู้ศึกษาถึงวิธีการลดความเป็นพิษหรือลดปริมาณการได้รับ AFB₁

การหาปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธี (bioaccessibility) เป็นการศึกษาถึงความสามารถในการปลดปล่อยของสารปนเปื้อนออกจาก matrix ใดๆ (อาหาร, ดิน, ฯลฯ) ในทางเดินอาหาร โดยใช้แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestion) ที่เป็นการประยุกต์และเลียนแบบระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ จึงถูกนำมาใช้โดยจะให้ความสำคัญต่อระบบทางเดินอาหารที่เกี่ยวข้องกับการย่อย และการดูดซึมสารอาหาร อวัยวะที่ถูกเลียนแบบในแบบจำลองนี้ คือ ปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองนี้จะเลียนแบบทั้งที่เป็นส่วนของเหลวต่างๆที่อยู่ในแต่ละอวัยวะ เช่น น้ำลาย น้ำย่อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาที่อาหารอยู่ในแต่ละอวัยวะ ที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง โดยมักทำการศึกษาถึงการปลดปล่อยของสารอันตรายต่างๆ ที่มีอยู่ในดิน เช่น การศึกษาของ Oomen et al. (2003) ได้พัฒนา *in vitro* digestion สำหรับการประเมินถึงการปลดปล่อยของสารปนเปื้อนในดิน Chan et al. (2007) ทำการศึกษาถึงชีวอนุเคราะห์

(bioavailability) และการปลดปล่อยของแคดเมียม โดยการใช้ *in vitro* digestion และการเคลื่อนที่ของสารผ่านผนังลำไส้เล็ก (intestinal epithelial monolayers) นอกจากการศึกษาถึงการปลดปล่อยสารต่างๆจากดินแล้วยังมีการนำไปใช้กับการปลดปล่อยสารต่างๆ ทั้งที่มีประโยชน์และมีอันตรายต่อร่างกายในอาหารด้วย เช่น Xing et al. (2008) ศึกษาการปลดปล่อยของ polychlorinated biphenyls ในปลาน้ำจืดและผักด้วย *in vitro* digestion และ Liu et al. (2004) ทำการประเมินชีวอนุเคราะห์ของ carotenoid ในอาหาร โดยประยุกต์ *in vitro* digestion ร่วมกับแบบจำลองการเคลื่อนที่ของสารผ่านผนังลำไส้เล็ก (Caco-2) แต่กลับพบว่าการศึกษาถึงการปลดปล่อยสาร AFB₁ โดยใช้ *in vitro* digestion ที่อธิบายถึงการปลดปล่อยสารพิษจากเชื้อราในอาหารได้นั้นมีเพียงการศึกษาเดียวเท่านั้นโดย Versantvoort et al. (2005) ได้นำ *in vitro* digestion มาใช้เพื่อประเมินถึงการปลดปล่อยสารพิษ AFB₁ และ ochratoxin จากอาหาร

ดังนั้นการศึกษานี้จึงได้นำ *in vitro* digestion ที่สามารถคาดการณ์ถึงปริมาณการรับสัมผัสกับ AFB₁ ได้อย่างถูกต้อง จากความสามารถในการปลดปล่อย AFB₁ จากข้าวโพดและถั่วลิสงบด เพื่อนำไปเป็นแนวทางในการป้องกันการได้รับสัมผัสกับ AFB₁ ที่ปนเปื้อนมากับอาหาร

วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

สารมาตรฐาน aflatoxin B₁ (Sigma A6636, 068K4002), α-amylase (Sigma A3176, 058K0724),

bile (Sigma B8631, 037K0196), pepsin (Sigma-Aldrich P7000, 077K0661), pancreatin (Sigma-Aldrich P1625, 017K1291), Trifluoroacetic acid (TFA) (Fluka 91700, 62540 34306C01), methanol (HPLC grade, LabScan), acetonitrile (HPLC grade, LabScan), Sep-Pak C18 cartridge (500 mg/3 mL) (Water WAT020805, 029138144A)

การเตรียมตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสง

ตรวจสอบตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด คือ ข้าวโพด และ ถั่วลิสง ไม่ให้มีการปนเปื้อนของ AFB₁ โดยการใช้แสงอัลตราไวโอเลต คัดตัวอย่างที่มีการเรืองแสงสีฟ้าออกจากนั้นนำข้าวโพดไปต้มจนสุก เป็นเวลา 15 mins หลังน้ำเดือด ฝานและซังให้ได้ 750 g สำหรับถั่วลิสง นำถั่วลิสง 750 g คั่วจนสุก แล้วนำไปบดให้พอละเอียด เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะนำมาทำการทดลอง

การทดสอบการปลดปล่อย AFB₁ โดยใช้แบบจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro digestion*)

เตรียมสารละลายสำหรับการทดลอง *in vitro digestion* (Dziki et al., 2009)

น้ำลายเทียม ประกอบด้วย Na₂HPO₄ 2.38 g เติม KH₂PO₄ 0.19 g และ NaCl 8 g ในน้ำ 1000 mL ปรับให้มีค่า pH ที่ 6.75 จากนั้นเติมด้วย α -amylase 200 U

น้ำย่อยเทียมในส่วนของกระเพาะอาหาร ประกอบด้วย pepsin 3.2 g กับ NaCl 2 g แล้วนำไปละลายในกรดไฮโดรคลอริก 7 mL และปรับปริมาตรครบ 1000 mL ด้วยน้ำ แล้วปรับค่า pH ของสารละลายเป็น 1.2

น้ำย่อยเทียมในส่วนของลำไส้เล็ก ประกอบด้วย KH₂PO₄ 6.8 g ละลายในน้ำ 250 mL เติมด้วย 0.2 N NaOH 77 mL เติมน้ำ 500 mL จากนั้นใส่ pancreatin 10 g ปรับปริมาตรครบ 1000 mL ด้วย 0.2 N NaOH แล้วปรับสารละลายให้มีค่า pH ประมาณ 6.8 $\pm$ 0.1

น้ำดีเทียม ประกอบด้วย bile 0.45 g ละลายใน 0.1 M NaHCO₃ 37.5 mL

การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์

เก็บน้ำย่อยเทียมไว้ที่อุณหภูมิ 37 $\pm$ 2 °C ระหว่างการศึกษาจะต้องควบคุมให้อุณหภูมิอยู่ที่ 37 $\pm$ 2 °C ในรูป

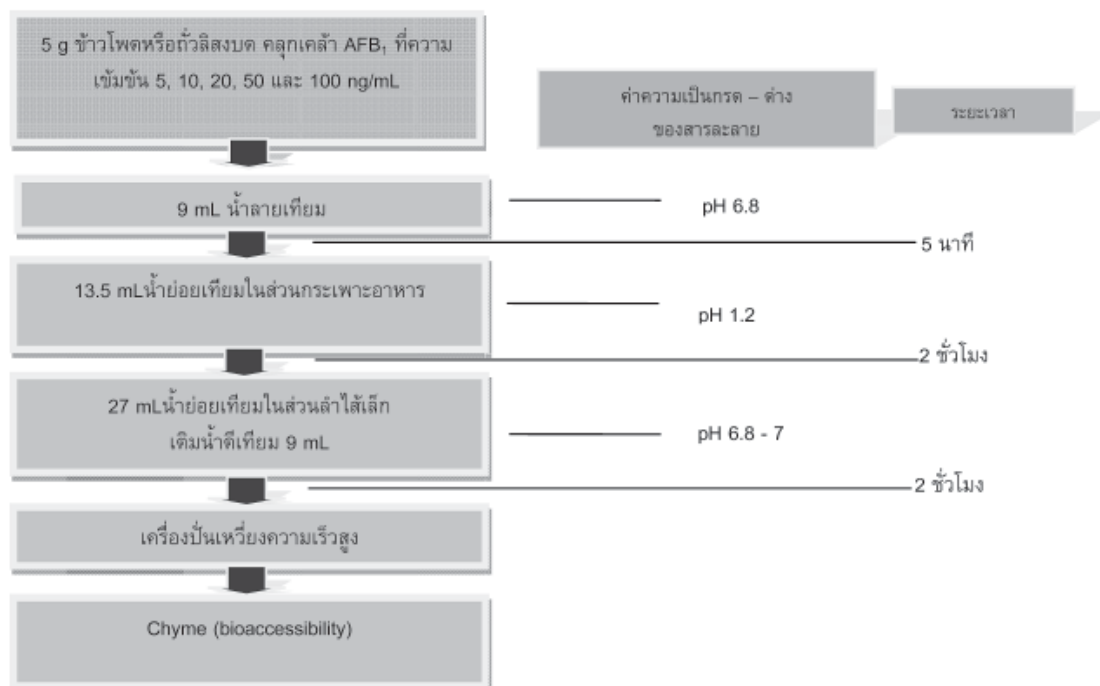
ที่ 1 เป็นการสุ่มขั้นตอนในการทดสอบการปลดปล่อย AFB₁ โดยนำตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงบดมาอย่างละ 5 g คลุกเคล้าด้วย AFB₁ 5 ความเข้มข้น คือ 5, 10, 20, 50 และ 100 ng/5 g จากนั้นนำตัวอย่างทั้งข้าวโพดและถั่วลิสงที่คลุกเคล้ากับ AFB₁ แล้วเติมน้ำลายเทียม 9 mL ในตัวอย่าง และผสมคลุกเคล้าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ 5 mins เติมน้ำย่อยเทียมในส่วนของกระเพาะอาหาร 13.5 mL และผสมคลุกเคล้าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 2 hrs โดยให้สารละลายมีค่า pH 1.2 เติมน้ำย่อยเทียมในส่วนของลำไส้เล็ก 27 mL และน้ำดี 9 mL ผสมคลุกเคล้าด้วยเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 2 hrs โดยให้ค่า pH เป็นของ chyme >5.5 นำหลอดทดลองไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูงเป็นเวลา 5 นาที ที่ 2,750 rpm เพื่อแยกระหว่าง chyme (supernatant) และ pellet (Oomen et al., 2004) นำ chyme 50 mL กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ AFB₁

การตรวจวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณ AFB₁ จาก chyme

นำสารละลายที่ผ่านการกรองมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี solid phase extraction (SPE) โดยเติมเมทานอล 5 mL และ 8% acetonitrile 5 mL ในหลอดใส่ของเหลวทำซ้ำ 2 ครั้ง และต้องไม่ทำให้หลอดใส่ของเหลวแห้งในระหว่างวิเคราะห์ จากนั้นเติมตัวอย่าง (5 mL) ในหลอดใส่ของเหลวโดยให้มีปริมาตรของสารมากถึง 2 ใน 3 ส่วนจากปริมาตรเต็ม และให้สารไหลผ่านจากหลอดใส่ของเหลว 5–8 mL/min ล้างหลอดใส่ของเหลวต่อเนื่องกัน 2 ครั้งด้วยน้ำ 1 mL แล้วทำให้หลอดใส่ของเหลวแห้งภายใต้สุญญากาศเป็นเวลา 5 mins สะสารต่อเนื่องกัน 3 ครั้งด้วยเมทานอล 1 mL

การอนุพันธ์ AFB₁ ด้วย trifluoroacetic acid (TFA)

นำสารที่ผ่านหะให้แห้งด้วยก๊าซไนโตรเจน จากนั้นเติม hexane 200 μ L และ trifluoroacetic acid 50 μ L จากนั้นนำไปผสมด้วย เครื่องผสมสารละลาย (vortex) แล้วเติม acetonitrile: water (1:9) 1.95 mL ผสมด้วยเครื่องผสมสารละลายนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง 1,000 rpm นาน 1 min



รูปที่ 1 ขั้นตอนของกระบวนการจำลองระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestion) เพื่อหาปริมาณสาร AFB₁ ในข้าวโพดและถั่วลิสงบดที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 ng/5 g (n=5)

วิเคราะห์ปริมาณ AFB₁ ด้วยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

หลังทำอนุพันธ์ TFA-AFB₁ แล้วดูเฉพาะสารละลายในน้ำไปวิเคราะห์ปริมาณ AFB₁ ด้วยเครื่อง HPLC ตัวตรวจวัด (detector) แบบ fluorescence โดยมี excitation wavelength และ emission wavelength เป็น 365 nm และ 440 nm ตามลำดับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) คือ deionize water: acetonitrile: methanol (60: 20: 20) มีอัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่ (flow rate) เป็น 1 mL/min

การคำนวณร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีของ AFB₁ (Wittsiepe et al., 2001; Schroder et al., 2004)

ร้อยละของการปลดปล่อยนั้นคำนวณได้จากสัดส่วนของสารที่อยู่ในน้ำย่อยเทียมและปริมาณของสารทั้งหมดที่อยู่ในส่วนที่เป็นน้ำย่อยและที่ติดอยู่ในอาหาร โดยที่อาจจะมีบางส่วนของสารที่หายไปในช่วงกระบวนการย่อย

ร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธี = ปริมาณสารที่สกัดได้จากน้ำย่อย / ปริมาณสารทั้งหมด * 100

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ กันโดยใช้สถิติการวิเคราะห์ t-test ทดสอบความแตกต่างระหว่างคู่โดยกำหนดค่า $p < 0.05$ จึงถือว่ามีความสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. ปริมาณการปลดปล่อยสาร AFB₁ จากข้าวโพดและถั่วลิสงบด

ปริมาณของ AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยออกมา นั้นเมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นแล้วพบว่าทั้งในข้าวโพดและถั่วลิสงบดมีปริมาณที่ใกล้เคียงกันกับปริมาณของ AFB₁ ที่ใส่ลงไป ดังตารางที่ 1 และมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของปริมาณสาร เมื่อนำ AFB₁ ที่ความเข้มข้น 5, 10, 20, 50 และ 100 ng/5 g คลุกเคล้ากับข้าวโพดและถั่วลิสงบดตัวอย่างละ 5 g ผ่านกระบวนการ *in vitro* digestion แล้วมานำสกัดนั้น ผลการทดลองพบว่าปริมาณของสาร AFB₁ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร AFB₁ ทั้งในข้าวโพดและถั่วลิสงบดมากขึ้น ปริมาณของสาร AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยมีปริมาณมากขึ้นตามไปด้วย เมื่อนำมาเปรียบเทียบทางสถิติด้วย t-test

แล้วพบว่า การปลดปล่อย AFB₁ ทั้งในข้าวโพดและถั่วลิสงนั้น ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร AFB₁ ในข้าวโพด และถั่วลิสงบดหลังผ่านกระบวนการ *in vitro* digestion และการสกัด (n=5) (mean±SD)

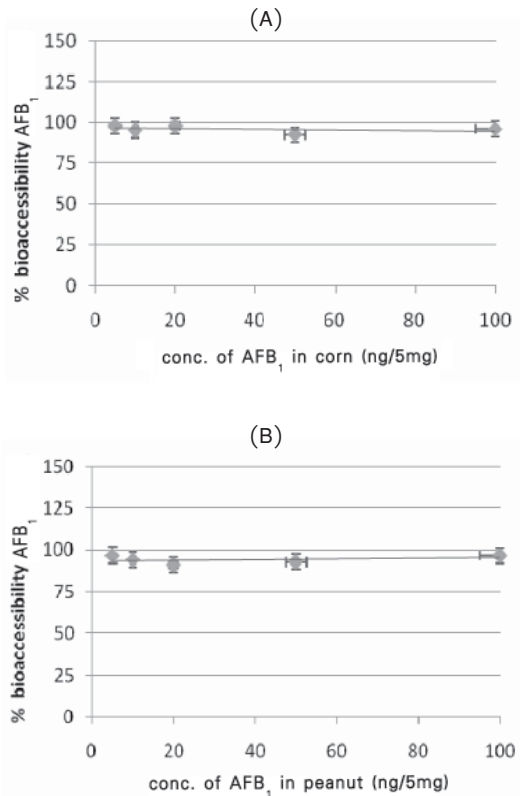
ความเข้มข้น ของ AFB ₁ ที่ใส่ใน ตัวอย่าง (ng/mL)	ข้าวโพด		ถั่วลิสงบด	
	A	B	A	B
5	4.91±0.11	98.14±1.77	4.85±0.16	97.04±2.66
10	9.51±0.14	95.11±1.14	9.41±0.21	94.10±1.68
20	19.56±0.28	97.80±1.16	18.23±0.29	91.15±1.17
50	46.26±0.23	92.51±0.37	46.41±0.21	92.82±0.33
100	96.02±0.22	96.02±0.18	96.71±0.11	96.71±0.09

A = ปริมาณ AFB₁ ที่วิเคราะห์ได้

B = ร้อยละของการปลดปล่อย AFB₁

2. ร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีจากข้าวโพด และถั่วลิสงบด (% bioaccessibility)

จากผลของปริมาณการปลดปล่อย AFB₁ จากข้าวโพดและถั่วลิสงบด เมื่อนำมาคำนวณหาค่าร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีแล้วพบว่าร้อยละของการปลดปล่อยสาร AFB₁ ในแต่ละความเข้มข้นมีค่าใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 1 เมื่อนำมาหาค่าเฉลี่ยแล้วพบว่าร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีในข้าวโพดและถั่วลิสงบด ประมาณร้อยละ 95 และ 94 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 2 พบว่าค่าร้อยละของการปลดปล่อยนั้นมีแนวโน้มคงที่ถึงแม้ว่าค่าความเข้มข้นมากขึ้น ทั้งในข้าวโพดและถั่วลิสง เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติด้วย t-test แล้วพบว่าร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีของ AFB₁ ทั้งในข้าวโพดและถั่วลิสงนั้น ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 2 แนวโน้มร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีของสาร AFB₁ สู่ร่างกายในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง (*in vitro* digestion) และนำมาผ่านการสกัด (A) การปลดปล่อย AFB₁ ในข้าวโพด (B) การปลดปล่อย AFB₁ ในถั่วลิสงบด (n=5) (mean±SD)

สรุปผลการวิจัย

การทดลองนี้เป็นการประยุกต์และเลียนแบบระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยจะให้ความสำคัญต่อระบบทางเดินอาหารที่เกี่ยวข้องกับการย่อย คล้ายการจำลองการย่อยในปาก กระเพาะอาหารและลำไส้เล็กที่เกิดขึ้นจริงในมนุษย์ แบบจำลองนี้จะเลียนแบบทั้งที่เป็นส่วนของเหลวต่างๆ ที่อยู่ในแต่ละอวัยวะ เช่น น้ำลาย น้ำย่อย ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระยะเวลาที่อาหารอยู่ในแต่ละอวัยวะ เพื่อสามารถช่วยคาดการณ์ถึงปริมาณการได้รับสัมผัส AFB₁ ในอาหาร จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสาร AFB₁ มากขึ้นปริมาณของสาร AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยมีปริมาณมากขึ้นตามไปด้วยและร้อยละปริมาณปลดปล่อยโดยชีววิธีของ AFB₁ ที่ปนเปื้อนใน

ข้าวโพดและถั่วลิสงถูกปลดปล่อยในระบบทางเดินอาหารได้ในปริมาณที่สูง คือร้อยละ 95 และ 94 สำหรับข้าวโพดและถั่วลิสงตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Versantvoort et al. (2005) ที่ทำการศึกษาการปลดปล่อย AFB₁ ในอาหาร ที่พบว่าปริมาณของ AFB₁ ที่ถูกปลดปล่อยออกมาแปรผันตรงกับปริมาณของ AFB₁ ที่มีการปนเปื้อนซึ่งอาจเป็นปริมาณสารที่สามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายและเมื่อสาร AFB₁ เข้าสู่ร่างกายแล้วก่อให้เกิดอันตรายอย่างมากหากได้รับเข้าไปอย่างต่อเนื่องและเป็นเวลานาน จาก *in vitro* digestion ที่เป็นการประยุกต์และเลียนแบบระบบทางเดินอาหารของมนุษย์สามารถช่วยคาดการณ์ถึงปริมาณการได้รับสัมผัสกับ AFB₁ ได้อย่างถูกต้องและแท้จริง จึงถือได้ว่าเป็นปริมาณของการได้รับสัมผัสกับสาร AFB₁ จากการรับประทานได้โดยตรง และเป็นประโยชน์อย่างมากหากนำไปประยุกต์ใช้ในการประเมินการสัมผัสสาร AFB₁ ในกระบวนการประเมินความเสี่ยง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้เงินสนับสนุนทุนอุดหนุนการค้นคว้าและวิจัยในการทวิทยานิพนธ์จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีงบประมาณ พ.ศ. 2551 และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการและเพื่อนๆ พี่ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำจนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Chan DY, Black WD, Hale BA. Cadmium bioavailability and bioaccessibility as determined by *in vitro* digestion, dialysis and intestinal epithelial monolayers, and compared to *in vivo* data. *J Envi Sci Health A Tox Hazard Subst Envi Eng* 2007; 42(9): 1283-1291.
- Dziki UG, Dziki D, Baraniak B, Lin R. The effect of simulated digestion *in vitro* on bioactivity of wheat bread with TBF (Tartary Buckwheat Flavones) addition, *LWT - Food Science and Technology* 2009; 42(1): 137-143.
- Liu CS, Glahn RP, Liu RH. Assessment of carotenoid bioavailability of whole foods using a Caco-2 cell culture model coupled with an *in vitro* digestion. *J Agric Food Chem* 2004; 52(13): 4330-7.
- Oomen AG, Rempelberg CJ, Bruil MA, Dobbe CJ, Pereboom DP, Sips AJ. Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants. *Arch Envi Contam Toxicol* 2003; 44(3): 281-287.
- Oomen AG, Rempelberg CJ, Van de kamp E, Pereboom DP, De Zwart LL, Sips AJ. Effect of bile type on the bioaccessibility of soil contaminants in an *in vitro* digestion model. *Arch Envi Contam Toxicol* 2004; 46(2): 183-188.
- Schroder L, Basta NT, Casteel SW, Evans TJ, Payton ME, Si J. Validation of the In Vitro Gastrointestinal (IVG) Method to Estimate Relative Bioavailable Lead in Contaminated Soils. *J Envi Qual* 2004; 33(2): 513-521.
- Versantvoort CH, Oomen AG, Van de kamp E, Rempelberg CJ, Sips AJ. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. *Food Chem Toxicol* 2005; 43(1): 31-40.
- Wittsiepe J, Schrey P, Hack A, Selenka F, Wilhelm M. Comparison of different digestive tract models for estimating bioaccessibility of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/F) from red slag 'Kieselrot'. *Int J Hyg Envi Health* 2001; 203(3): 263-273.
- Xing GH, Yang Y, Chan JKY, Tao S, Wong MH. Bioaccessibility of polychlorinated biphenyls in different foods using an *in vitro* digestion method. *Enviro. Pollut* 2008; 156(3): 1218-1226.