

# สารพิษจากเชื้อรา: อะฟลาท็อกซิน

## Mycotoxin Aflatoxin

บดินทร์ บุตรอินทร์\*

แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

\* ผู้รับผิดชอบบทความ

### บทนำ

สารพิษจากเชื้อราอะฟลาท็อกซิน สร้างจากเชื้อราตระกูล *Aspergillus* spp. เช่น *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* และ *Aspergillus nomius* จัดเป็น “สารพิษหรือพิษ (toxin)” ที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุล หรือการเมตาบอลิซึมชนิดทุติยภูมิของเชื้อรา มีคุณสมบัติทางชีวภาพต่อ คน สัตว์ และพืช ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตภูมิอากาศแบบร้อนชื้น จึงมีสภาวะอากาศ และสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา ที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร เป็นตัวการทำให้เกิดอุบัติการณ์เสื่อมคุณภาพทางโภชนาการ และก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคได้ ในปัจจุบันพบว่าอาหารที่จำหน่ายในท้องตลาด มีการปนเปื้อนของสารพิษอะฟลาท็อกซิน ได้แก่ อาหารประเภทแป้ง และผลิตภัณฑ์จากแป้ง เช่น แป้งข้าวสาลี แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง อาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่ทำจาก ถั่วลิสง เช่น ถั่วลิสงคั่ว เนยถั่วลิสง กากถั่วลิสง และน้ำมันถั่วลิสง นอกจากนี้ยังพบปนเปื้อนอยู่ใน ข้าวโพด มันสำปะหลัง อาหารแห้ง เช่น ผัก ผลไม้อบแห้ง ปลาแห้ง กุ้งแห้ง เนื้อมะพร้าวแห้ง พริกแห้ง พริกไทย งา เมล็ดมะม่วงหิมพานต์ และถั่วอื่นๆ ปัจจุบันการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในประเทศไทยนับว่าเป็นปัญหาสำคัญในการส่งออกผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร และปัญหาสุขภาพโดยเป็นภัยเงียบที่เราไม่ได้คำนึงถึง<sup>1</sup>

### การจำแนกสารพิษจากเชื้อราอะฟลาท็อกซิน

สารพิษจากเชื้อราอะฟลาท็อกซิน จัดแบ่งได้ 2 แบบ คือ

#### 1. จำแนกตามสายพันธุ์ของเชื้อรา

สารพิษจากเชื้อราอะฟลาท็อกซิน เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus* spp. ซึ่งมีรูปร่างคล้ายดอกไม้มี่ปลายก้านชู

โคนเดี่ยวพองออก เป็นรูปกะเปาะ สปอร์ไม่มีสิ่งห่อหุ้มเกาะกลุ่มกันจำนวนมาก อยู่บนปลายก้านชูโคนเดี่ยว (รูปที่ 1) สปอร์ที่อยู่ส่วนนอกสุด สามารถแพร่กระจายได้ง่าย เชื้อราสายพันธุ์นี้เจริญเติบโตได้ดี ในอุณหภูมิแบบร้อนชื้น โดยส่วนใหญ่อะฟลาท็อกซิน สร้างจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* โดยพบได้บ้างจากการสร้างโดย *Aspergillus nomius*<sup>2</sup> การศึกษาที่ผ่านมา พบว่า *A. flavus* มีสัณฐานวิทยา 2 รูปแบบ โดยที่พบทั่วไปจะเป็นสายพันธุ์ L ซึ่งมี Sclerotia ขนาดใหญ่กว่า 400 ไมโครเมตร และสายพันธุ์ S มีขนาด Sclerotia ขนาดเล็กกว่า 400 ไมโครเมตร นอกจากนี้ ยังพบว่า *A. flavus* สายพันธุ์ S มีการสร้างอะฟลาท็อกซิน ได้สูงกว่าสายพันธุ์ L<sup>3</sup>

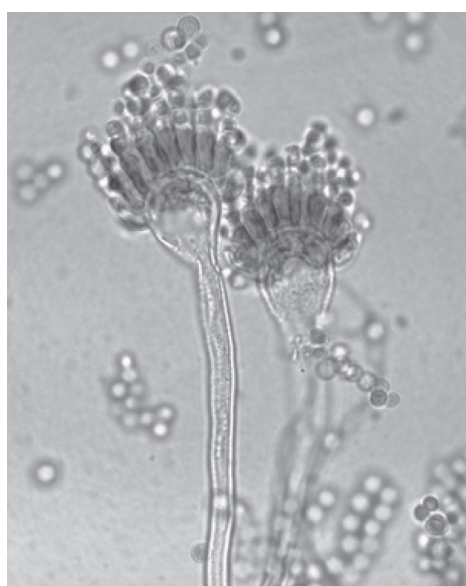


Figure 1 Microscopic morphology of *Aspergillus flavus* under light microscope (1000x)

## 2. จำแนกตามโครงสร้างทางเคมีของสารตัวกลาง

สารตัวกลางทำหน้าที่เป็นสารที่นำไปสู่การสังเคราะห์สารพิษทางชีวภาพ อะฟลาท็อกซินได้จากการสังเคราะห์ทางชีวภาพ ของสารพิษกลุ่มคีไทด์ ซึ่งจัดเป็นสารตัวกลางสารตั้งต้นคือเกลือแอซิเตต (acetate) และเกลือมาโลเนต (malonate) ถูกกระตุ้นด้วยโคเอนไซม์เอ ได้เป็นแอซิติลโคเอ (acetyl-CoA) และมาโลนิลโคเอ (malonyl-CoA) หลังจากนั้นสารทั้งสอง รวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหม่ของไดคีไทด์

(diketides) หรือแอซิทอแอซิติลโคเอ (acetoacetyl-CoA) พร้อมกับปล่อยก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ ในปฏิกิริยารวมตัวทุกครั้ง หมู่แอซิติลถูกเติมลงในสารตัวกลางคีไทด์เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ จนได้เป็นเดคะคีไทด์ (dekaketides) และมีปฏิกิริยาผ่านตัวกลางอีกหลายชนิด สารตัวกลางเหล่านี้ถูกดีคาร์บอกซิเลต ออกซิไดส์ และด้วยปฏิกิริยาทางเคมีต่าง ๆ จนเกิดเป็นวงแหวนกลายเป็นสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ 4 ดังแสดงในรูปที่ 2

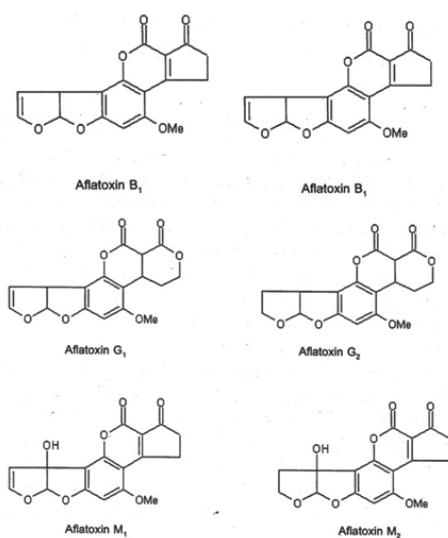


Figure 2 Chemical structure of the aflatoxins

### ชนิดของอะฟลาท็อกซิน

อะฟลาท็อกซินที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลทางชีวภาพ หรือเมตาบอลิซึมแบบทุติยภูมิ ทำให้เชื้อราสร้างสารพิษได้ 4 ชนิดคือ อะฟลาท็อกซินบี 1 (aflatoxin B1) และอะฟลาท็อกซินบี 2 (aflatoxin B2) สามารถเรืองแสงสีน้ำเงิน อะฟลาท็อกซินจี 1 (aflatoxin G1) และอะฟลาท็อกซินจี 2 (aflatoxin G2) เรืองแสงสีเขียวภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต เมื่อคน และสัตว์ได้รับสารพิษเข้าสู่ร่างกาย จะเกิดการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างโมเลกุลทางชีวภาพของสารพิษอะฟลาท็อกซิน หรือเมตาบอลิซึมแบบทุติยภูมิของสารพิษในร่างกาย อะฟลาท็อกซินที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลไปจากเดิมเรียกว่า อะฟลาท็อกซินเมแทบอลิท์ (aflatoxin metabolite) ซึ่งอาจมีคุณสมบัติการเรืองแสงให้สีเหมือนเดิม หรือเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ในบางครั้งอาจพบ อะฟลาท็อกซิน ชนิด M1 M2 และ P1 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ B1 และ B2 โดยพบในน้ำมันของพวกสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โครงสร้างรวมของอะฟลา

ท็อกซินเป็นสารเคมีประเภท heterocyclic ที่มีหมู่ oxygen อยู่หลายตำแหน่ง<sup>5</sup>

### คุณสมบัติของอะฟลาท็อกซิน

#### 1. คุณสมบัติทางเคมี

อะฟลาท็อกซินแบ่งตามโครงสร้างทางเคมีได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มอะฟลาท็อกซินบี (aflatoxin B) เป็นสารพวก bis-furano-isocoumarin กลุ่มที่สองคือ กลุ่มอะฟลาท็อกซินจี (aflatoxin G) มีโครงสร้างไอโซคูมาริน<sup>6</sup> ดังแสดงในรูปที่ 2

#### 2. คุณสมบัติทางกายภาพ

อะฟลาท็อกซินสามารถเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตในช่วงความยาวคลื่น 256-365 นาโนเมตร อะฟลาท็อกซิน B1 และ B2 เรืองแสงสีน้ำเงิน อะฟลาท็อกซิน G1 และ G2 เรืองแสงสีเขียว ละลายได้ดีในสารตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม เบนซีน เมทานอล เอทานอล

และอะซีโตน คุณสมบัติทางกายภาพที่สำคัญของสารพิษอะฟลาท็อกซิน คือสามารถทนความร้อนได้ถึงระดับอุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส ดังนั้นการใช้ความร้อนในรูปของการต้ม อบ คั่วหนึ่ง หรือการใช้ความดันไอน้ำเพื่อทำลายอะฟลาท็อกซินจึงไม่ได้ผล แต่อะฟลาท็อกซินสามารถถูกทำลายได้โดย

ไฮโปคลอไรท์ แอมโมเนีย ด่างและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เสื่อมสลายได้ภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต แสงแดด และรังสีแกมมา<sup>6</sup> อะฟลาท็อกซินมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1

**Table 1** Important chemicals and physical properties of the aflatoxins

| Type | Formula           | Molecular weight | Melting point (°C) |
|------|-------------------|------------------|--------------------|
| B1   | $C_{17}H_{14}O_6$ | 312              | 286-289            |
| B2   | $C_{17}H_{12}O_7$ | 314              | 244-246            |
| G1   | $C_{17}H_{14}O_7$ | 328              | 237-240            |
| G2   | $C_{17}H_{12}O_7$ | 330              | 299                |
| M1   | $C_{17}H_{14}O_7$ | 328              | 293                |
| M2   | $C_{17}H_{12}O_6$ | 330              | 268-269            |

### การสังเคราะห์อะฟลาท็อกซิน

ปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยจนทราบถึงกระบวนการสร้างอะฟลาท็อกซิน (aflatoxin biosynthesis) ว่ามีประมาณ 16 ขั้นตอน และการสังเคราะห์เกิดขึ้นที่นอกส่วนของไมโทคอนเดรีย กระบวนการสังเคราะห์เริ่มจากน้ำตาลพื้นฐาน เช่น glucose, sucrose, fructose และ maltose และมี gene ที่ควบคุมการสร้างคือ *afR* เริ่มจาก แอซิเตต และมาโลเนต ถูกกระตุ้นด้วยโคเอนไซม์ เอ (coenzyme A) กลายเป็นแอซิติลโคเอ (acetyl-CoA) และมาโลนิลโคเอ (malonyl-CoA) จากนั้นสารทั้งสองจะรวมตัวกันได้ แอซีโตแอซิติลโคเอ (acetoacetyl-CoA) พร้อมกับมีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ในปฏิกิริยารวมตัวทุกครั้ง หมู่แอซิติลถูกเติมลงไปบนสารตัวกลางคีไทด (ketide) จากนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นวงแหวนที่มีคาร์บอน 20 ตัว ได้ C<sub>20</sub> polyketide สารตัวกลางนี้จะถูก กระบวนการดีคาร์บอกซิเลท (decarboxylate) และออกซิโดส มีปฏิกิริยาหลายขั้นตอนผ่านตัวกลางอย่างน้อยอีก 4 ชนิดได้เป็นสเตอริกมาโตซิสติน (sterigmatocystin) และอะฟลาท็อกซิน ตามลำดับ<sup>7</sup>

### การเปลี่ยนแปลงของอะฟลาท็อกซินภายในร่างกาย

อะฟลาท็อกซินสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ทั้งทางตรง โดยการบริโภคผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ที่ปนเปื้อนอะฟลาท็อกซิน เช่น ถั่วลิสง หรือการสัมผัสผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีการปนเปื้อนโดยตรง และทางอ้อมโดยการบริโภคผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซิน โดยสัตว์

เหล่านั้น ได้รับสารพิษจากอาหารสัตว์ ที่มีส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่ปนเปื้อนอะฟลาท็อกซิน<sup>8</sup>

เมื่อเข้าสู่ร่างกายสารพิษจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้เล็ก ประมาณ 10-20% และถูกกำจัดออกจากร่างกาย ประมาณ 80-90% โดยกำจัดออกทางอุจจาระมากที่สุดประมาณ 50-60% และในปัสสาวะประมาณ 20-30% สำหรับอะฟลาท็อกซินที่อยู่ในอวัยวะต่างๆ พบว่ามีการสะสมมากที่สุดในระดับ และไต เนื่องจากตับเป็นอวัยวะเป้าหมายของอะฟลาท็อกซินโดยตรง ส่วนในอวัยวะอื่นมีปริมาณต่ำกว่า 0.1% อะฟลาท็อกซินถูกกำจัดออกนอกจากร่างกาย ได้เกือบหมดภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยไม่มีการสะสมภายในร่างกาย ทำให้การรักษาผู้ป่วยที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน ต้องเป็นการรักษาตามอาการ แต่อาจมีการสะสมได้เช่นกันหากได้รับอะฟลาท็อกซินเข้าสู่ร่างกายอย่างต่อเนื่อง ภายหลังจากถูกดูดซึม อะฟลาท็อกซินจะรวมตัวกับอัลบูมิน (albumin) ในซีรัม (serum) บางส่วนถูกขับออกจากร่างกาย ทางปัสสาวะ น้ำดี และอุจจาระ บางส่วนถูกเก็บไว้ในเซลล์ตับ<sup>5,6,7,8</sup>

อะฟลาท็อกซิน B1 ถูกเปลี่ยนแปลงในไซโตซอล (cytosol) เป็นอะฟลาทอกซิคอล (aflatoxicol) ในไมโครโซม (microsome) อะฟลาท็อกซิน B1 ถูกเปลี่ยนเป็นอะฟลาท็อกซินชนิด M1, P1, Q1 และอีพอกไซด์ (epoxide) อะฟลาท็อกซิน 8, 9-อีพอกไซด์ (aflatoxin 8,9 epoxide) มีความไวมาก สามารถรวมตัวกับสารชีวโมเลกุลต่างๆ เช่น ดีเอ็นเอ อาร์เอ็นเอ และโปรตีนอย่างรวดเร็วเกิด DNA adducts และ

albumin adducts ตามลำดับ โดยกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ สามารถตรวจพบ AFB1-N7-guanine และ AFB1-serum albumin adducts ซึ่งเป็นสารบ่งชี้ทางชีวภาพในเนื้อเยื่อ และซีรัมของผู้ป่วยที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน เมื่ออะฟลาท็อกซินรวมตัวกับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ทำให้โมเลกุลของดีเอ็นเอผิดปกติ ปฏิกริยาทางชีวภาพดังกล่าว ถูกเร่งหรือควบคุมโดยไซโตโครม พี450 (cytochrome P450) และไซโตโครม บี5 (cytochrome B5) ของกระบวนการเมแทบอลิซึมของดีเอ็นเอจะถูกเปลี่ยนแปลง ทำให้เอนไซม์นิวคลีอิกแอซิด พอลิเมอเรส (nucleic acid polymerase) ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ ส่งผลให้การสังเคราะห์โปรตีนต่างๆ หยุดชะงักลง<sup>9</sup>

### ความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน

องค์การอนามัยโลกจัดให้อะฟลาท็อกซินเป็นสารก่อมะเร็งที่ร้ายแรงมากที่สุดชนิดหนึ่ง (potent carcinogen) เนื่องจากปริมาณของอะฟลาท็อกซิน 1 ไมโครกรัมสามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย และทำให้เกิดมะเร็งในสัตว์ทดลองได้ หากได้รับอย่างต่อเนื่อง โรคที่ตรวจพบในคนอันเนื่องมาจากสารอะฟลาท็อกซิน ได้แก่ โรคมะเร็งตับ โรคตับอักเสบ โรคตับแข็ง โรคสมองอักเสบ นอกจากนี้ยังพบความผิดปกติที่อวัยวะอื่นร่วมด้วย เช่น เซลล์ปอดและเซลล์หลอดลมผิดปกติ อาการพิษเกิดจากการสะสมสารพิษเป็นระยะเวลานานจึงเกิดพยาธิสภาพขึ้น ความเป็นพิษแสดงออกมากหรือน้อยขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น ภาวะของการบริโภคอาหาร อายุ เพศ ฮอโมน การทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ในตับ และจำนวนสารพิษที่เข้าสู่ร่างกาย<sup>9,10</sup>

พิษของอะฟลาท็อกซินแบบเฉียบพลัน (acute aflatoxicosis) นั้นมักเกิดในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ อาการที่เกิดจากอะฟลาท็อกซินในเด็ก คล้ายคลึงกับอาการของเด็กที่เป็น Reye's syndrome คือ มีอาการชักและหมดสติได้ เนื่องจากมีความผิดปกติของตับและสมอง น้ำตาลในเลือดลดลงต่ำลง สมองบวม มีการคั่งของไขมันในอวัยวะภายใน เช่น ตับ ไต หัวใจและปอด บางครั้งอาจตรวจพบอะฟลาท็อกซินในตับของผู้ป่วยด้วย ในผู้ใหญ่หากได้รับอะฟลาท็อกซินเป็นปริมาณมาก จะเกิดพยาธิสภาพที่ตับ และอวัยวะภายในอย่างเฉียบพลัน เกิดตับวายเฉียบพลัน มีการตกเลือดภายใน เนื้อตายที่ตับ มีอาการบวม น้ำหนักลด หายใจลำบาก เข้าสู่สภาวะหมดสติ หากไม่ได้รับการรักษาอย่างทันท่วงทีจะเสียชีวิตในที่สุด<sup>8</sup>

การเลี้ยงสัตว์ด้วยอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิด การสูญเสีย

ทางเศรษฐกิจ ด้านการปศุสัตว์ รวมทั้งผลผลิต และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ เช่น สัตว์มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายเพิ่มขึ้น ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ลดลง คุณภาพไข่ลดลง ขนาดไขลดลง การฟักไขลดลง เปลือกไขบางลง ในลูกเป็ดที่ได้รับอะฟลาท็อกซิน การเกิดพิษแบบเฉียบพลันจะแสดงอาการชัก และตายภายใน 2-3 วันหลังจากได้รับสารพิษ พบลักษณะหัว คอ และขาบิดไปข้างหน้า ลำตัวแอ่นไปข้างหน้า มีจุดเลือดออกใต้ผิวหนังและอวัยวะภายใน ตับโตสีเหลืองซีด ตับอ่อนและม้ามขยายใหญ่ มีอาการบวม น้ำรอบหัวใจ และน้อง<sup>9</sup> กรณีเกิดพิษแบบเรื้อรัง (chronic aflatoxicosis) เซลล์ตับจะเปลี่ยนแปลงเป็นเซลล์มะเร็ง ในคนมีอาการคล้ายโรคตับอักเสบเรื้อรัง ระบบภูมิคุ้มกันต่ำลง เจ็บป่วยได้ง่าย โปรตีนในเลือดต่ำ หลังจากนั้นจะพัฒนาไปสู่โรคมะเร็งตับในที่สุด<sup>8</sup> ในสุกรที่เกิดพิษเฉียบพลันจะมีอาการผอม ขนหยาบ กร้าน อุจจาระร่วงและมีสีเหลืองจัด ขาหลังอ่อนแรง ยืนตัวโก่ง ดีซ่าน โลหิตจาง และตายภายใน 1-5 วัน กรณีการเกิดพิษเรื้อรังในสุกรพบภาวะตับเหลืองซีด มีการสะสมไขมันในเซลล์ตับ ภูมิต้านทานน้ำ และมีจุดเลือดออกรอบผิวหนัง มีน้ำคั่งในช่องอกหรือช่องท้อง ไตบวม น้ำ และมีจุดเลือดออกพบเซลล์ตับตาย และเซลล์บุท่อน้ำดีเพิ่มจำนวนมากขึ้น มีการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของตับ และพบการเพิ่มจำนวนเซลล์ตับ สำหรับในโคและกระบือ การเกิดพิษในลูกโคและกระบือมีความรุนแรงมากกว่าในโคและกระบือตัวโตเต็มวัย ลูกโคและกระบือจะแสดงอาการกระสับกระส่าย พยายามถ่ายหรือเบ่งมากจนทวารหนักทะลักออกมา และตายในที่สุด ในแม่โคนมแสดงอาการ ซึม เบื่ออาหาร น้ำหนักลด น้ำนมลด และมีอาการท้องมาน อวัยวะภายในต่างๆ บวม น้ำ มีการเพิ่มปริมาณของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันของตับ เซลล์บุท่อน้ำดีเพิ่มจำนวนมากขึ้นเซลล์บุหลอดเลือดดำของตับอักเสบอย่างเรื้อรัง ตับขยายใหญ่ขึ้น<sup>9,10</sup>

### ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน

เชื้อราและสารพิษอะฟลาท็อกซินสามารถปนเปื้อนในวัตถุดิบทางการเกษตรกรรมได้ดังนี้คือ

#### 1. อาหารที่ปนเปื้อนเชื้อรา

เชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus parasiticus* สามารถเจริญเติบโตและสร้างสารพิษได้ดี แหล่งอาหารเลี้ยงเชื้ออุดมสมบูรณ์ ได้แก่ เมล็ดพืชหรือวัสดุทางการเกษตรกรรม อาหารคนและอาหารสัตว์ที่มีความชื้น การปนเปื้อนเชื้อราสามารถเกิดขึ้นได้ในขั้นตอนของการเพาะปลูก การขนส่งผลผลิต รวมทั้งการบรรจุผลิตภัณฑ์ และเก็บในคลังสินค้า<sup>11</sup>

## 2. ภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อม

การเจริญของเชื้อราจนสามารถสร้างสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ มีปัจจัยสำคัญคือ

2.1 ความชื้น มีความสำคัญในการเจริญของเชื้อรา สปอร์ของเชื้อราต้องการความชื้นร้อยละ 75 ในการงอก และร้อยละ 80-100 สำหรับการเจริญเติบโต และการขยายจำนวนเซลล์ได้อย่างรวดเร็ว<sup>11</sup>

2.2 อุณหภูมิ เชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วงอุณหภูมิประมาณ 25-30 องศาเซลเซียส พบว่า *A. parasiticus* และ *A. flavus* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 10-43 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 32-33 องศาเซลเซียส และอะฟลาท็อกซินจะถูกสร้างขึ้นมากในอุณหภูมิช่วงประมาณ 12-40 องศาเซลเซียส<sup>11</sup>

2.3 ปริมาณก๊าซออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ เชื้อราเจริญเติบโตและสร้างอะฟลาท็อกซินได้ดีในที่มีปริมาณก๊าซออกซิเจนสูงและปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำ หากลดปริมาณของออกซิเจนหรือเพิ่มปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ จะทำให้การเจริญเติบโตของราต่ำลง และลดปริมาณการสร้างสารพิษ หากลดออกซิเจนโดยการบรรจุหีบห่อ หรือการใช้ oxygen scavengers จะสามารถยับยั้งการสร้างอะฟลาท็อกซิน จาก *A. parasiticus* และ *A. flavus* ได้<sup>11</sup>

## 3. การบริหารจัดการ

การบริหารจัดการที่ไม่ถูกต้องทำให้เชื้อราปนเปื้อนและสร้างอะฟลาท็อกซิน ทำให้สามารถแพร่กระจายได้อย่างรวดเร็ว และกว้างขวางมากขึ้น ดังนั้นสิ่งที่จำเป็นและต้องเอาใจใส่ในกระบวนการบริหารจัดการวัตถุดิบทางการเกษตร การจัดเก็บอาหารภายในครัวเรือน ประกอบด้วย

3.1 ความสะอาด เช่น เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตหรือผสมอาหาร ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ กระบวนการขนส่ง สถานที่เก็บผลผลิต และผู้ผลิตหรือเกษตรกรทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อรา

3.2 การถ่ายเทอากาศ เช่น สถานที่เก็บผลผลิตอัดชั้นมีด ทึบ อากาศไม่ถ่ายเทเท่าที่ควร ทำให้เกิดเชื้อราและสารพิษขึ้น<sup>12</sup>

### อะฟลาท็อกซินกับอาหาร

สารพิษอะฟลาท็อกซินถูกตรวจพบเป็นครั้งแรกในประเทศอังกฤษ เมื่อปี พ.ศ. 2503 จากการเกิดโรคระบาดร้ายแรงขึ้น กับไก่งวงในประเทศ อังกฤษ ทำให้ไก่งวงที่เลี้ยงไว้จำนวนประมาณหนึ่งแสนตัว ล้มตายลงภายในระยะเวลาเพียง 1 สัปดาห์ ภายหลังจากการศึกษาสาเหตุโดย สถาบัน

ผลิตผลเมืองร้อน (Tropical Products Institute) ของประเทศอังกฤษ (ปัจจุบันคือ Tropical Development and Research Institute) พบว่าสาเหตุการล้มตายของไก่งวง เป็นจำนวนมากนั้นเกิดจากความเป็นพิษของอาหาร ผสม ที่มีถั่วลิสงปน เมื่อได้ตรวจพบแน่ชัดแล้วว่าถั่วลิสง มีการปนเปื้อนของเชื้อรา ที่ทำให้เกิดพิษนี้ขึ้น จึงได้ทำการตรวจสอบตัวอย่างถั่วลิสงจากประเทศต่าง ๆ ที่ส่งไปจำหน่ายยังประเทศอังกฤษ ผลปรากฏว่าได้ตรวจพบสารพิษนี้จำนวนหนึ่งจากแหล่งใหญ่ ๆ ทุกแห่งที่ปลูกถั่วลิสง<sup>6</sup> ต่อมาจึงได้มีการออกตรวจสอบระดับของสารพิษนี้ในอาหารต่าง ๆ กันอย่างกว้างขวาง พบว่ามีอาหารหลายชนิดที่ เชื้อราชนิดนี้สามารถเจริญ และผลิตสารพิษได้ เช่น ผลิตภัณฑ์นม ขนมันปิ้ง ธัญพืช เครื่องเทศ และน้ำผลไม้ เป็นต้น โดยปกติ การเจริญของเชื้อราและสร้าง ท็อกซิน ขึ้นได้นั้นมักเกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยว หรือหลังจากขั้นตอนที่นำวัตถุดิบมาประกอบเป็นอาหารแล้ว แต่พบว่าในวัตถุดิบประเภทถั่วลิสง เม็ดฝ้าย ข้าวโพด แตกต่างจากวัตถุดิบชนิดอื่นที่เชื้อราสามารถเจริญและผลิต ท็อกซิน ได้ก่อนการเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนโดยเชื้อรารวมถึง โอกาสที่จะผลิตอะฟลาท็อกซิน ในพืชเหล่านี้สัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมทางการเกษตร ความชื้น สภาพอากาศ และส่วนเสียที่ถูกกัดกินโดยแมลงว่ามีมากเพียงใด ตัวอย่างเช่น ในถั่วลิสงต้องทำให้แห้งทันทีที่ทำการเก็บเกี่ยว<sup>8</sup> ในปี ค.ศ. 1963 คณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา ได้ออกข้อกำหนดเรื่องการปนเปื้อนของอะฟลาท็อกซินในอาหารคน และอาหารสัตว์ว่า ในอาหารคนไม่ควรจะมีปริมาณสูงกว่า 20 ppb (part per billion) ปัจจุบันมีเทคนิคใหม่ ๆ ที่สามารถวัดปริมาณสารนี้ในระดับต่ำมากได้ ทำให้แนวโน้มของค่าที่ยอมรับได้ต่ำลง ในประเทศญี่ปุ่นมีการตรวจสอบสารนี้ในอาหารหลากหลายชนิด<sup>10</sup> จากการศึกษาที่ผ่านมา ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1982-1985 พบอะฟลาท็อกซินในผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายชนิด เช่น ข้าวโพด เนยถั่ว ถั่วลิสง เครื่องเทศ พริกไทยขาว น้ำมันถั่ว และเนยแข็ง เป็นต้น จากที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าอะฟลาท็อกซินมีผลกระทบต่อการนำอาหารนั้นไปใช้<sup>12-14</sup>

การป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างอะฟลาท็อกซิน เป็นเรื่องที่ทำได้ยาก เนื่องจากสปอร์ของเชื้อราสามารถฟุ้งกระจายในอากาศ ทำให้วัตถุดิบมีการปนเปื้อนได้ง่าย วิธีปฏิบัติเพื่อการหลีกเลี่ยงการปนเปื้อน เสนอแนะโดย Food and Agricultural Organization of United Nations (FAO) ได้แก่ การเก็บเกี่ยวธัญพืชในฤดูที่เหมาะสม มีความชื้นต่ำ การอบหรือการทำแห้งธัญพืชให้มีความชื้นเพียง 13-16% หรือต่ำกว่า และการอบธัญพืชด้วย ammo-

nium polypropionate และ propionic acid ในอัตราส่วน 8:2 ที่ความชื้นไม่เกิน 22-25% เป็นต้น วิธีการดังกล่าว สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินได้<sup>12</sup> การป้องกันการได้รับเชื้อรา ที่สามารถสร้างอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกายโดยตรงนั้นเป็นไปได้ยาก เนื่องจากเชื้อรามีความแตกต่างจากจุลินทรีย์ชนิดอื่น การกระจายของเชื้อสามารถกระจายโดยทางอากาศ และการสัมผัส เมื่อเชื้อเข้าสู่ร่างกายจะไม่มี การสร้างอะฟลาทอกซิน ในอวัยวะของผู้ป่วย แต่จะเกิดขึ้นในสิ่งแวดล้อมเท่านั้น ข้อปฏิบัติในการลดโอกาสที่จะรับเชื้อราที่สร้างอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกาย โดยการเลือกบริโภค ัญญาพืชที่มี บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม และเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการรับรองจากองค์กรที่มีมาตรฐาน<sup>12,15,16,17</sup>

## การตรวจวัดอะฟลาทอกซิน

### 1. ขั้นตอนการสกัด และทำความเข้าใจสารสกัด

1.1 Solvent Extraction เป็นวิธีที่ใช้สกัดแยก อะฟลาทอกซินที่ใช้กันโดยทั่วไป ตัวอย่างเช่น ใช้ Chloroform สกัด อะฟลาทอกซิน ในตัวอย่างข้าวโพด หากตัวอย่างเป็น น้ำมันพืชอาจใช้ benzene : acetonitrile (98:2) เป็นตัวสกัด เป็นต้น เมื่อสกัดได้แล้วอาจนำไปประเหยหรือทำความเข้าใจ อีกขั้นหนึ่งก่อนนำไปแยกต่อไป<sup>10,11</sup>

1.2 Solid Phase Extraction (SPE) วิธีนี้ได้มีการปรับปรุงทำให้ไม่เปลือง Solvent และประหยัดเวลาได้มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับ การใช้ Column Chromatography แบบธรรมดา วิธีที่ The Association of Analytical Communities (AOAC) ได้รับรองแล้ว คือการนำ Seppak florasil มาใช้ในการทำความสะอาดตัวอย่างก่อนนำไปแยก Silica Seppak ก็สามารถนำมาใช้ในการสกัด และทำความสะอาดตัวอย่าง ประเภทนมเพื่อหาปริมาณ อะฟลาทอกซิน M1 ได้เช่นกัน โดยทั่วไปแล้วค่า Recovery อยู่ในช่วง 90-100% ขึ้นกับชนิดของ อะฟลาทอกซิน<sup>10,11,16-18</sup>

1.3 Immuno-Affinity เป็นวิธีที่ใช้ column ซึ่งมี monoclonal antibodies อยู่เมื่อผ่านตัวอย่างที่ละลายใน solvent ลงไป antibodies ก็จะจับอย่างจำเพาะกับ antigen (อะฟลาทอกซิน) ที่สนใจเท่านั้น วิธีนี้มักใช้ร่วมกับ column chromatography โดยสามารถทำให้ตัวอย่างมีความเข้มข้นสูงขึ้นได้ จากนั้นชะ (elute) เอาอะฟลาทอกซิน หรือ Antigen ออกไปวิเคราะห์หรือแยกต่อด้วยเทคนิค High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) วิธีนี้อาจพัฒนาเป็นวิธีที่ใช้ตรวจคัดกรองอะฟลาทอกซิน ก่อน จากนั้นจึงตรวจยืนยัน ด้วยวิธี HPLC หรือ Thin Layer Chromatography (TLC) ต่อไป<sup>10,11,19</sup>

### 2. ขั้นตอนการแยกและการตรวจวัด

2.1 TLC (thin layer chromatography) เป็นวิธีนี้ที่เชื่อกันนานแล้ว นิยมใช้เป็นวิธี Routine ในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ โดยใช้ Fluorodensitometer เป็นเครื่องตรวจวัด วิธีนี้มีข้อดีคือทำงานง่ายแต่เสียเวลา วิธีเดิมใช้เวลา 8-15 ชั่วโมง แต่ปัจจุบันหากใช้เทคนิค HPLC ช่วยลดเวลาให้สั้นเหลือเพียง 3-4 ชั่วโมงเท่านั้น ค่าระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ ขึ้นอยู่กับชนิดของอะฟลาทอกซิน เช่น อะฟลาทอกซิน B1=0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของสิ่งส่งตรวจ อะฟลาทอกซิน B2=0.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของสิ่งส่งตรวจ อะฟลาทอกซิน G1=0.2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของสิ่งส่งตรวจ อะฟลาทอกซิน G2=0.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของสิ่งส่งตรวจ และ อะฟลาทอกซิน M1=0.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมของสิ่งส่งตรวจ วิธี TLC นี้ ค่า Recovery อยู่ในช่วง 75-95% ขึ้นกับชนิดของ อะฟลาทอกซิน<sup>10,11,13,15</sup>

2.2. HPLC (high performance liquid chromatography) ให้ผลที่เชื่อถือได้แม่นยำ และรวดเร็วกว่าวิธี TLC แต่มีข้อเสียคือใช้ solvent ปริมาณมาก ทำให้ค่าใช้จ่ายสูงขึ้น ที่สำคัญคือ การเตรียมตัวอย่างก่อนทำการทดสอบซึ่งต้องสะอาดมาก ทำให้ต้องเพิ่มขั้นตอนมากขึ้นด้วย การตรวจโดย HPLC แบ่งเป็น 2 วิธีคือ สามารถทำได้ทั้ง post-column และ pre-column derivatization วิธี pre-column derivatization ใช้ Trifluoacetic acid ทำปฏิกิริยากับอะฟลาทอกซิน แล้วนำไปตรวจวัดด้วย Fluorescence detector การแยกใช้หลักการ Reverse phase chromatography ด้วย column C18 ส่วนวิธี post-column derivatization มีการแยก อะฟลาทอกซิน ด้วย column ชนิด Novapak phenyl แล้วทำปฏิกิริยากับ ไอโอดีน (I2) หลังจากการแยกด้วย column แล้ว ตรวจวัดด้วย Fluorescence detector<sup>10,11,17-19</sup>

2.3. Immuno assay kit ปัจจุบันเริ่มมีจำหน่าย เช่น ยี่ห้อ Aflaprep และ Aflascan เป็นต้น ค่าที่วิเคราะห์ได้ค่อนข้างใกล้เคียงกับวิธี Liquid Chromatography แต่ให้ผลรวดเร็วกว่าวิธี TLC และ HPLC มาก เหมาะกับการตรวจคัดกรอง มีบางบริษัทที่ AOAC ได้รับรองแล้ว แต่การวิเคราะห์วิธีนี้ยังมีข้อโต้แย้งกันในด้านความไว และความจำเพาะของวิธีการทดสอบการควบคุมคุณภาพ ราคา ความแม่นยำ ความถูกต้อง ทั้งนี้เนื่องจาก Collaborative test ทำได้ยากเนื่องจากชุดตรวจมีอายุในการใช้งานจำกัด บางชนิดต้องเก็บในตู้เย็นตลอดเวลาและเสื่อมคุณภาพได้ง่าย<sup>10,11,19</sup>

2.4 วิธีการอื่น ๆ เช่น ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) พบว่า Recovery ของ B1 ไม่ดีนักในตัวอย่างถั่วลิสงบดเมื่อ spike ที่ไว้ค้างคืนซึ่งทำให้

Collaborative test เพื่อนำมาเป็นข้อมูลในการรับรองทำได้ยาก เทคนิคอื่น ๆ เช่น LC/thermo spray mass spectrometric (TS-MS) ได้ถูกคิดค้นขึ้นมาเพื่อยืนยัน อะฟลาท็อกซินในถั่วลิสง ระดับที่วัดได้ในอะฟลาท็อกซิน B1, B2 และ G มีประมาณ 60, 40 และ 100 พิโคกรัม ตามลำดับ<sup>15-19</sup>

### บทสรุป

ประเทศไทยมีผู้ป่วยมะเร็งตับอยู่ในอันดับต้น ๆ ของภูมิภาคอาเซียน หนึ่งในปัจจัยที่ส่งผลให้เกิดมะเร็งตับ คือสารพิษจากเชื้อรา อะฟลาท็อกซิน ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งโดยตรงต่อตับ มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์ตับ สามารถเข้าสู่ร่างกายได้ โดยตรงจากการสัมผัสและการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษ นอกจากนี้ ยังส่งผลต่อผู้ป่วยที่มีพยาธิสภาพของโรคตับ อีกทั้งยังเกื้อหนุนการทำลายตับในผู้ป่วยที่ป่วยด้วยไวรัสตับอักเสบ บี อีกด้วย ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์

ของโรงพยาบาลขนาดใหญ่ กลาง และเล็ก สามารถเปิดบริการการตรวจหาสารพิษ จากเชื้อราได้โดยง่าย วิธีการไม่ยุ่งยาก วิธีที่สามารถทำได้โดยง่ายคือวิธี Thin layer chromatography ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานขั้นต้นในการตรวจคัดกรอง ในอนาคต การพัฒนาห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ อาจจำเป็นต้องมีการตรวจเพิ่มเติมเป็นห้องปฏิบัติการอาชีวอนามัย และความปลอดภัย (Occupational Health and Safety Laboratory) โดยเสริมการทดสอบสารพิษของเชื้อราเป็นการเฝ้าระวัง และส่งเสริมสุขภาพของชุมชนที่ห้องปฏิบัติการนั้น ๆ รับผิดชอบ การเลือกใช้วิธีการตรวจ มีส่วนสำคัญในการตรวจหาสารพิษ เพราะความไว และความจำเพาะของแต่ละวิธี มีความแตกต่างกันไป โดยอาศัยหลักการและวิธีการที่พัฒนาขึ้นตามเทคโนโลยีในปัจจุบัน การตัดสินใจใช้การทดสอบใดก็ตาม ขึ้นอยู่กับลักษณะงาน และลักษณะสิ่งส่งตรวจที่น่าสงสัยด้วย



## เอกสารอ้างอิง

1. Henry SH, Bosch FX, Troxell TC, Bolger PM. Reducing liver cancer-global control of aflatoxins. *Science* 1999; 286: 2453-4.
2. Georgiadou M, Dimou A, Yanniotis S. Aflatoxin contamination in pistachio nuts: A farm to storage study. *Food control* 2012; 26: 580-6.
3. Wang JS, Huang T, Su JJ, et al. Hepatocellular carcinoma and aflatoxin exposure in Zhuqing Village, Fusui County, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001; 10: 143-6.
4. Wild CP, Pisani P. Carcinogen DNA and protein adducts as biomarkers of human exposure in environmental cancer epidemiology. *Cancer Detect Prev* 1998; 22: 273-83.
5. Theumer MG, López AG, Masih DT, Chulze SN, Rubinstein HR. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1-FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Toxicology* 2003; 186: 159-70.
6. Ghoneimy WA, Hassan HA, Soliman SAA, Gergis SM. Study on the effect of aflatoxicosis on the immune response of rabbit to *Pasteurella multocida* vaccine. *Assault Vet Med J* 2000; 85: 287-303.
7. Turner PC, Moore SE, Hall AJ, Prentice AM, Wild CP. Modification of immune function through exposure to dietary aflatoxin in Gambian children. *Environ Health Prospect* 2003; 111: 217-20.
8. Li FQ, Yoshizawa T, Kawamura O, Luo XY, Li YW. Aflatoxins and fumonisins in corn from the high-incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4122-6.
9. Martins ML, Martins HM. Aflatoxin M(1) in yoghurts in Portugal. *Int J Food Microbiol.* 2004; 91: 315-7.
10. Park JW, Kim EK, Shon DH, Kim YB. Natural co-occurrence of aflatoxin B1, fumonisin B1 and ochratoxin A in barley and corn foods from Korea. *Food Addit Contam* 2002; 19: 1073-80.
11. Jonsyn-Ellis FE. Seasonal variation in exposure frequency and concentration levels of aflatoxin and ochratoxins in urine samples of boys and girls. *Mycopathologia* 2001; 152: 35-40.
12. Semple RL, Frio AS, Hicks PA, Lozare JV. 2012. "Mycotoxin prevention and control in food grains". (online). 5 May. Available URL: <http://www.fao.org/docrep/X5036E/X5036E00.htm> (5 may 2012).
13. Ding X, Li P, Bai Y, Zhou H. Aflatoxin B1 in post-harvest peanuts and dietary risk in China. *Food Control* 2012; 23: 143-8.
14. Ghosia L, Arshad H. Studies on contamination level of aflatoxins in some dried fruits and nuts of Pakistan. *Food Control* 2011; 22: 426-9.
15. Juan C, Zinedine A, Molto JC, Idrissi L, Manes J. Aflatoxins levels in dried fruits and nuts from Rabat-Sale area, Morocco. *Food Control* 2008; 19: 849-53.
16. Pietri A, Rastelli S, Mulazzi A, Bertuzzi T. Aflatoxins and ochratoxin A in dried chestnuts and chestnut flour produced in Italy. *Food Control* 2012; 25: 601-6.
17. Set E, Erkmen O. The aflatoxin contamination of ground red pepper and pistachio nuts sold in Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 2010; 48: 2532-7.
18. Sheibani A, Ghaziaskar HS. Pressurized fluid extraction for quantitative recovery of aflatoxins B1 and B2 from pistachio. *Food Control* 2009; 20: 124-8.
19. Stroka J, Anklam E, Jörisen U, Gilbert S. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste and paprika powder: collaborative study. *J AOAC Inter* 2000; 83(2): 320-40.