การสำรวจสารพิษจากเชื้อราที-2 ทอกซินที่ปนเปื้อนในธัญพืช

Survey of Mycotoxin 'T2-toxin' Contamination in cereal grains

ดวงจันทร์ สุประเสริฐ[1] อภินันท์ สุประเสริฐ[2]
Duangchan Suprasert[1] Apinun Suprasert[2]

Abstract

Thirty samples of each kind of 9 cereal grains collected at Bangkok and suburb markets were analysed by Elisa test kit for the presence of T-2 toxin, a mycotoxin produced by fungi genus Fusarium that caused haemorrhage in the gastrointestinal mucosa in human. All kinds of cereal grains were detected T-2 toxin at moderate level in the range of 9.5 - 31.6 ppb. Oatmeal was contaminated with T-2 toxin at the highest level (31.6 ppb), while Job's tear was the lowest contaminated at 9.5 ppb.

Key words: T-2 toxin, Job's tear, Oatmeal

บทคัดย่อ

ได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ที่เกิดจากเชื้อราตระกูล Fusarium ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เกิดการตกเลือดในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี Elisa test kit ในธัญพืช 9 ชนิดที่เก็บจากตลาดสดในกรุงเทพมหานครและเขตปริมณฑล จำนวนธัญพืชละ 30 ตัวอย่าง ตรวจพบการปนเปื้อนของสารพิษ T-2 toxin ในธัญพืชทั้ง 9 ชนิดปริมาณปานกลางโดยพบระหว่าง 9.5 - 31.6 พีพีบี ข้าวโอ๊ตพบการปนเปื้อนมากที่สุด (31.6 พีพีบี) ในขณะที่ลูกเดือยพบการปนเปื้อนน้อยที่สุด 9.5 พีพีบี

[1] สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี 11000
Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nontaburi 11000

2 คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Faculty of Veterinary Medicine

คำนำ

T-2 toxin บางครั้งมีชื่อเรียกว่า Fusariotoxin T2 หรือ Insariotoxin เป็นสารพิษจากเชื้อราในกลุ่ม Trichothecenes type A ที่มีสูตรโครงสร้างเป็น sesquiterpenes (Ueno, 1983) สร้างจากเชื้อราที่ชอบอยู่ในที่ชื้นและอากาศเย็นอุณหภูมิ –2 - 35°C ตระกูล Fusarium เช่น F. sporotrichioides F. poae F. equiseti F. acuminatum เมื่อ T-2 toxin เข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงโดยเอ็นไซม์ carboxyesterases (SH serine esterases) ในตับ เกิดเป็น HT-2 toxin, 3'-hydroxy-HT-2, 3'-hydroxy-T-2, T-2 tetraol, de-epoxy 3'-hydroxy-T-2 triol, de-epoxy 3'-hydroxy-HT-2, 3'-hydroxy-T-2 triol ซึ่งมีความเป็นพิษน้อยลง (Ueno, 1984) นอกจากนี้ T-2 toxin ยังสามารถเข้าสู่ร่างกายทางผิวหนังและทางการหายใจด้วย สารพิษ T-2 toxin มีความคงทนต่อความร้อนมากโดยต้องใช้ความร้อนสูงถึง 260°C จึงจะทำให้ T-2 toxin ถูกทำลายสลายตัวได้ (Trusal, 1985) ความร้อนจากการหุงต้มไม่สามารถทำลาย T-2 toxin ได้

พบว่า T-2 toxin เป็นสาเหตุการตายของทหารรัสเซียในสงครามโลกครั้งที่สองซึ่งรู้จักกันในชื่อว่า alimentary toxic aleukia (Mirocha, 1984) เนื่องจากสารพิษนี้ออกฤทธิ์โดยขัดขวางการทำหน้าที่ของ mitochondrial ribosome และการบีบตัวของลำไส้ทำลายการสังเคราะห์โปรตีนและDNA ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอวัยวะต่างๆเช่น ระบบหัวใจและหลอดเลือด ตับ ไต ตับอ่อน กล้ามเนื้อ มีการตกเลือดและเป็นแผลในกระเพาะอาหาร อาเจียน ท้องเสีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลด การเต้นของหัวใจผิดปกติ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวร่างกายไม่สามารถรักษาให้กลับคืนสู่สภาพปกติได้ (Ueno, 1983)

นอกจากนี้มีรายงานว่า T-2 toxin เป็นพิษต่อผิวหนังซึ่งความเป็นพิษร้ายแรงกว่า mustard หรือ lewisite เป็นร้อยๆเท่า (Bunner and Morris, 1988) โดยมีค่า LC_{50} อยู่ที่ 1 mg/m^3 มีการนำ T-2 toxin ไปผสมกับ polyethyleneglycol sodium lauryl sulfate หรืออาจใช้ dimethylsulfoxide แทน sodium lauryl sulfate ก็ได้ในการใช้ทำเป็นอาวุธชีวภาพ ที่เรารู้จักกันในชื่อฝนเหลือง เมื่อตกลงสู่สิ่งแวดล้อมแล้วสามารถอยู่ได้นานเป็นสัปดาห์โดยไม่สลายในดิน อากาศ และแสงแดด คนที่ได้รับฝนเหลืองเข้าสู่ร่างกายจะเกิดอาการดังนี้คือ คลื่นไส้อาเจียน ชัก หนาวสั่น มีไข้ ความดันโลหิตลดลง ปวดท้อง อุจจาระมีเลือดปน ผิวหนังร้อน คันและไหม้ ปวดหน้าอก ปวดหัว มึนงง การมองเห็นลดลง ปวดตา ตาแดง ในรายที่เป็นเรื้อรังจะมีอาการคือ ร่างกายอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร ความจำลดลง เสื่อมสมรรถภาพทางเพศ ติดเชื้อง่าย ไอ คอแห้ง ลูกที่เกิดมามีลักษณะผิดปกติ และมารดาแท้งบุตรง่าย

สุกรเป็นสัตว์ที่มีรายงานความเป็นพิษจาก T-2 toxin มากกว่าสัตว์อื่นๆ สุกรที่ได้รับสารพิษ T-2 toxin แล้วจะมีแผลในปาก น้ำหนักลดลง เกิดการเปลี่ยนแปลงที่ขน การเดินผิดปกติและภูมิคุ้มกันลดลงซึ่งทำให้ติดเชื้อได้ง่ายโดยเฉพาะเชื้อ Salmonella ไก่กระทงที่ได้รับสารพิษ T-2 toxin ที่ระดับ 4 พีพีเอ็ม อัตราการเจริญเติบโตลดลง เกิดรอยโรคที่ปากเป็นแผ่นคล้ายเนยแข็งสีเหลืองอยู่ที่ขอบของจงอยปาก ขนปีกส่วนปลายจะหดและโค้งเข้าหาลำตัว ส่วน quill จะโค้งออกจากลำตัว ระบบประสาทผิดปกติ (เปล่งศรี อิงคนินันท์,

2540) ค่า LD_{50}ในไก่และหมูคือ 4 mg/kg bw (Cole and Cox, 1981)

องค์การ International Agency for Research on Cancer (IARC)ได้จัดให้ T-2 toxin เป็นสารก่อมะเร็ง group 3 คือไม่สามารถจัดได้ว่าเป็นสารก่อมะเร็งในคนเนื่องจากการทดลองที่ทำยังไม่ชัดเจนพอที่จะสรุปได้ มีรายงานการตรวจพบ T-2 toxin ในข้าวโพด ข้าวสาลี รำข้าว ข้าวเจ้า ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ข้าวไรน์ ถั่วเหลือง (WHO, 1990) เพื่อเป็นการเฝ้าระวังและคุ้มครองผู้บริโภคสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ในธัญพืช 9 ชนิดคือ ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวกล้อง ข้าวมันปู ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ลูกเดือย และ เมล็ดบัว ดังรายงานนี้

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างธัญพืช 9 ชนิดจากห้างสรรพสินค้าและตลาดสดบริเวณกรุงเทพและปริมณฑลในฤดูหนาวประมาณเดือนพฤศจิกายน ดังนี้คือ ข้าวกล้อง ข้าวเหนียวกล้อง ข้าวมันปู ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวฟ่าง ลูกเดือย และเมล็ดบัว จำนวนธัญพืชละ 30 ตัวอย่าง บดธัญพืชแต่ละตัวอย่างให้ละเอียด ชั่งมา 5 กรัม นำมาสกัดด้วยสารละลายผสมของ MeOH:H_2O (70:30) ปริมาตร 25 ml โดยใช้เครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 190 รอบต่อนาที นาน 3 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 100 ul ไปหาปริมาณสารพิษโดยใช้ Elisa test kit ชื่อ Veratox for T-2 toxin อ่านค่า absorbance ด้วยเครื่อง Microwell reader ที่ 650 nm เทียบกับสารมาตรฐานซึ่งทราบความเข้มข้นและผ่านวิธีการทดสอบข้างต้น จะทำให้ทราบปริมาณ T-2 toxin ที่ตรวจได้ซึ่งมีหน่วยเป็นส่วนในพันล้านส่วน (ppb) นำค่าที่ตรวจพบในตัวอย่างทั้ง 270 ตัวอย่างมารวบรวมและวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้ค่าทางสถิติได้แก่ ค่าเฉลี่ย (average), ค่าร้อยละ (percent), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation)

ผล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ด้วยวิธี Elisa โดยใช้ test kit ในตัวอย่างธัญพืชทั้ง 9 ชนิดจำนวนทั้งหมด 270 ตัวอย่าง นำมาคำนวณค่าเฉลี่ยปริมาณสารพิษ T-2 toxin ที่พบในตัวอย่างทั้ง 30 ตัวอย่างตามชนิดของธัญพืชดังแสดงใน Table 1 พบว่าธัญพืชทุกชนิดที่ทำการตรวจวิเคราะห์มีการปนเปื้อนจากสารพิษ T-2 toxin ประมาณร้อยละ 27 - 57 แต่ปริมาณที่พบมากบ้างน้อยบ้างขึ้นอยู่กับธัญพืชแต่ละชนิด ปริมาณเฉลี่ยที่พบอยู่ระหว่าง 9.5 - 31.6 ppb พบว่าข้าวโอ๊ตมีการปนเปื้อนจากสารพิษ T-2 toxin มากที่สุดค่าเฉลี่ยที่พบคือ 31.6 ppb โดยปริมาณที่พบมากสุดคือ 115.2 ppb โอกาสที่ตรวจพบสารพิษ T-2 toxin ปนเปื้อนในข้าวโอ๊ตมีร้อยละ 57 ในขณะที่ลูกเดือยมีการปนเปื้อนจากสารพิษ T-2 toxin น้อยที่สุดค่าเฉลี่ยที่พบคือ 9.5 ppb โดยปริมาณมากสุดที่พบคือ 74.1 ppb โอกาสที่ตรวจพบสารพิษ T-2 toxin ปนเปื้อนในลูกเดือยมีร้อยละ 27 ทั้งนี้มิได้หมายความว่าเมื่อกินธัญพืชแล้วจะได้รับสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ในปริมาณดังกล่าว เนื่องจากปริมาณสารพิษคำนวณมาจากการเฉลี่ย

Table 1 T2 - toxin found in cereal grains (average amount from 30 samples of each grain)

Cereal grains (ppb)	Brown rice rice	Brown glutinous	Red rice	Wheat seed	Lotus tears	Job's meal	Sorghum	Barley	Oat
%found	53	33	33	40	33	27	42	39	57
Max	109.1	138.9	102.3	98.6	127.4	74.1	95	101.5	115.2
Average	14.0	17.0	7.4*	17.6	13.9	9.5	22.5	15.0	31.6
Standard deviation	28.07	39.73	20.39	33.75	29.30	21.11	34.38	28.18	41.15

หมายเหตุ * ค่าที่ได้มีค่าต่ำกว่าค่าต่ำสุดที่วิเคราะห์ได้ (LOD = 7.5 ppb) เนื่องจากเป็นค่าเฉลี่ยที่เกิดจากการนำค่าที่พบและไม่พบมาหาค่าเฉลี่ย ในที่นี้มี 20 ตัวอย่างที่ตรวจไม่พบ จึงทำให้ค่าเฉลี่ยที่ได้มีค่าต่ำกว่าค่า LOD

ปริมาณสารพิษ T-2 toxin ที่พบในธัญพืชแต่ละชนิดจาก 30 ตัวอย่างที่พบการปนเปื้อนบ้างไม่พบบ้าง ในกรณีที่ธัญพืชชนิดหนึ่งพบการปนเปื้อนในปริมาณสูงโดยพบไม่กี่ตัวอย่างจากทั้งหมด 30 ตัวอย่าง เมื่อนำมาคิดค่าเฉลี่ยแล้วทำให้ดูเหมือนว่าธัญพืชดังกล่าวพบสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ในปริมาณค่อนข้างสูง ทั้งๆที่ในความเป็นจริงบางตัวอย่างเท่านั้นที่พบการปนเปื้อนสูงในขณะที่ตัวอย่างที่เหลืออาจไม่พบการปนเปื้อนเลย

บทวิจารณ์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ด้วยวิธี Elisa โดยใช้ test kit สามารถเกิด antibody cross-reactivity HT-2 toxin ได้ 17% ซึ่ง HT-2 toxin ก็เป็นสารพิษที่เกิดจากการ metabolism ของสารพิษ T-2 toxin ที่ยังคงความเป็นพิษอยู่ จะเห็นได้ว่าวิธีดังกล่าวเป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์เบื้องต้น (screening test) ว่ามีสารพิษดังกล่าวปนเปื้อนอยู่ในปริมาณมากน้อยเพียงใด ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็ว ได้ข้อมูลที่สามารถนำไปใช้ได้อย่างทันเหตุการณ์ ไม่ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากใช้น้ำและเมธานอลในการสกัดตัวอย่าง ไม่ได้ใช้ตัวทำละลายเช่น คลอโรฟอร์ม เอธิลอะซีเตด และ เฮกเซน ในการสกัดสารพิษจากเชื้อราตามวิธีวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการใช้อยู่โดยทั่วไป ซึ่งเมธานอลเมื่อเทียบกับตัวทำละลายข้างต้นแล้วนับว่าปลอดภัยต่อนักวิเคราะห์และไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ปริมาณที่ใช้ในการวิเคราะห์ก็ใช้เพียงเล็กน้อย แต่ค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องซื้อ Elisa test kit จากต่างประเทศ

ปัจจุบันมีไม่กี่ประเทศทั่วโลกที่มีเกณฑ์กำหนดปริมาณสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ที่ปนเปื้อนในอาหารชนิดต่างๆ ประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 (กระทรวงสาธารณสุข, 2522) กำหนดให้มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราเฉพาะ aflatoxin

เท่านั้นในอาหารได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม หรือ 20 ppb ไม่ได้กำหนดมาตรฐานสำหรับสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ประเทศรัสเซียกำหนดให้มี T-2 toxin ปนเปื้อนในอาหารจำพวกธัญพืชเช่นข้าวสาลี แป้งและรำข้าวสาลีได้ไม่เกิน 100 พีพีบี (van Egmond, 1989) ประเทศอิสราเอลกำหนดให้มี T-2 toxin ปนเปื้อนในอาหารสัตว์ที่ทำจากธัญพืชได้ไม่เกิน 100 พีพีบี ประเทศสหรัฐอเมริกาแนะนำให้มีการควบคุมการปนเปื้อนของสารพิษ T-2 toxin ในอุตสาหกรรมสัตว์ปีกได้ไม่เกิน 150 ppb ประเทศแคนนาดาไม่ได้กำหนดค่าสำหรับ T-2 toxin แต่ได้กำหนดค่าของสารพิษที่เกิดจากการเมทตาโบไลท์ของ T-2 toxin โดยให้มี HT-2 toxin ได้ไม่เกิน 100 พีพีบีในอาหารสัตว์ที่ใช้เลี้ยงโคและไก่และกำหนดให้มีHT-2 toxin ได้ไม่เกิน 25 พีพีบีในอาหารสัตว์ที่ใช้เลี้ยงสุกร ลูกวัว และ วัวที่อยู่ในระยะให้นม (FAO, 1996)

การศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่าการนำอาหารประเภทธัญพืชที่นำมาตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ซึ่งเป็นอาหารสำหรับคนที่ทุกคนยอมรับว่ามีคุณภาพดีกว่าอาหารสัตว์ยังสามารถตรวจพบ T-2 toxin ได้แต่อยู่ในระดับที่ปลอดภัย เกณฑ์ปลอดภัยที่กำหนดให้บริโภคสารพิษ T-2 toxin และหรือ HT-2 toxin ได้สูงสุดในแต่ละวัน (provisional maximum tolerable daily intake, PMTDI) คือ 60 ng/kg bw/day (FAO, 2001) แต่ผู้บริโภคควรระลึกอยู่เสมอว่าอาจมีผลต่อสุขภาพได้เมื่อรับประทานสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin ที่ปนเปื้อนในธัญพืชปริมาณน้อยๆเป็นเวลานานๆ เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาโรคภัยไข้เจ็บที่เนื่องมาจากการรับประทานธัญพืชที่มีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา T-2 toxin จึงต้องพิจารณาการเลือกซื้อธัญพืชมาใช้เป็นอาหาร โดยต้องเลือกซื้อที่คุณภาพไม่ใช่เลือกซื้อที่ราคา เนื่องจากธัญพืชที่ราคาสูงอาจมีคุณภาพไม่ดีเสมอไป ธัญพืชคุณภาพดีคือเมล็ดมีลักษณะสมบูรณ์ไม่มีร่องรอยของการถูกทำลายจากแมลงและเชื้อรา ไม่มีกลิ่นหืนและไม่มีลักษณะเป็นขุยเนื่องจากการเก็บไว้นานและเก็บไม่ถูกวิธี เช่นโดนฝนสาดทำให้มีความชื้นสูงเหมาะแก่การเจริญของเชื้อรา เป็นต้น

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ คุณศรีสิทธิ์ การุณยวนิช ที่ให้คำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้ และบริษัท ไทย-นีโอ ไบโอเทค จำกัด และ Neogen Corporation ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่อง ELISA test kit, เครื่องมือ Microwell reader และผู้ช่วยในการวิเคราะห์

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2522. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มี สารปนเปื้อน.

เปล่งศรี อิงคนินันท์, 2540. สารพิษจากเชื้อรา ผลกระทบต่อสุขภาพสัตว์ การประชุมวิชาการในวาระ 80 ปีแห่งการสถาปนาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 13-14 มีนาคม 2540 เปล่งศรี อิงคนินันท์ บรรณาธิการ

Bunner, D.L. and Morris, E.R. 1988. Alteration of

multiple cell membrane functions in L-6 myoblasis by T-2 toxin, an important mechanism of action. Toxicol. Appl. Microbiol., 92, 113-121.

Cole, R.J. and Cox, R.H. 1981. Handbook of Toxic Fungal Metabolites, New York, Academic Press, pp 185-188.

van Egmond, H.P. 1989. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. Food Addit. Contam., 6, 139-188.

FAO, 1996. Worldwide regulations for mycotoxins 1995 A compendium D/W 1380. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome, 1996.

FAO, 2001. Safety evaluation of certain mycotoxins in food. Food Additives series: 47, Food and Nutrition paper 74, 557-652.

Mirocha, C.J. 1984. Mycotoxicoses associated with Fusarium. In: Moss, M.O. and Smith, J.E., Eds, The Applied Mycology of Fusarium, Cambridge, Cambridge University Press, pp 141-155.

Trusal, L.R. 1985. Morphological changes in CHO and Vero cells treated with T-2 mycotoxin. Correlation with inhibition of protein synthesis. Cell Biochem. Funct., 3, 205-216.

Ueno, Y.1983. Trichothecenes chemical, biological and toxicological aspects. Kodansha Ltd., Tokyo, Japan, p73-82.

Ueno, Y. 1984. Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes. Fundam. Appl. Toxicol., 4, S124-S132.

WHO, 1990. Selected Mycotoxins: Ochratoxins, Trichothecenes, Ergot (Environmental Health Criteria 105), Geneva.