การปนเปื้อนของสารแอฟลาทอกซิน บี 1 และสารโอคราทอกซิน เอ ในข้าวกล้องและข้าวขาว

Contamination of Aflatoxin B 1 and Ochratoxin A in Brown Rice and White Rice

อมรา ชินภูติ[1)] ศุภรา อัคคะสาระกุล[1)]

Amara Chinaphuti[1)] Suppara Aukkasarakul[1)]

Abstract

Rice is the stable food of Thai people and also to be the first level among the agricultural commodities for export. In the recent year, most of the consumer give awareness to the safety of food. Moreover, this issue was taken to use as the trade barrier for import-export. This study have been conducted to investigate the possibility of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A contamination in brown rice and white rice. Brown rice and white rice samples were collected from 5 markets with 5 samples of each kind per market in Bangkok in June 2009. ELISA technique was employed to use in this study for their rapid test of hundred samples. DOA-Aflatoxin ELISA test kit was used to detect Aflatoxin B1 whereas Ochratoxin A was detected in rice using ELISA test kit of Neogen, USA. Contamination of Aflatoxin B1 was found to be the most in brown rice with 92%. The average amount of Aflatoxin B1 in brown rice was 2.912 µg/kg (0- 4.56 µg/kg). Lower Aflatoxin B1 contamination in white rice was investigated with 56 % the average of 0.702 µg/kg (0- 2.53 µg/kg). Ochratoxin A was also detected in brown rice ranging from 0 - 1.50 µg/kg with the average 0.292 µg/kg of 40 % positive samples. None of white rice tested samples were detected for Ochratoxin A contamination. Moreover, only 3% of *Aspergillus flavus* was found in brown rice and none in white rice. No *Aspergillus ochraceus* was found in both kinds of rice. The result showed that the detectable level of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A in both brown rice and white rice were lower than the regulatory limited .

Keywords : brown rice, white rice, Aflatoxin B1, Ochratoxin A, ELISA

บทคัดย่อ

ข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทย และเป็นสินค้าเกษตรที่ส่งออกเป็นอันดับหนึ่งของประเทศ ปัจจุบันปัญหาเรื่องสุขอนามัย และความปลอดภัยของผู้บริโภคเป็นสิ่งที่สำคัญมาก หลายประเทศได้นำมาเป็นข้อกีดกันทางการค้า จึงจำเป็นต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับการปนเปื้อนของสารพิษในข้าวกล้องและข้าวขาวของไทย ได้สุ่มเก็บตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวขาวจากตลาดในกรุงเทพมหานคร เดือนมิถุนายน 2550 จำนวน 5 แห่ง แห่งละ 5 ตัวอย่างต่อชนิดข้าว นำตัวอย่างข้าวมาตรวจหาการปนเปื้อนของเชื้อรา บนอาหาร DG 18 ด้วยวิธี direct plate count และตรวจการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ด้วยวิธี ELISA โดยชุดตรวจสอบ DOA-Aflatoxin ELISA test kit ของกรมวิชาการเกษตร และตรวจสาร Ochratoxin A โดยใช้ชุดตรวจสอบของ Neogen ผลการทดสอบพบว่า ข้าวกล้องมีการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin

1) สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900
e-mail: amarachina@yahoo.com
Postharvest and Processing Research and Development Office, Department of Agriculture, Chatuchak, Bangkok 10900
e-mail: amarachina@yahoo.com

Bureau of Rice Research and Development

B1 92% ของจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ ปริมาณสาร Aflatoxin B1 อยู่ระหว่าง 0 - 4.56 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 2.912 ไมโครกรัม/กก. สำหรับข้าวขาวพบการปนเปื้อนสาร Aflatoxin B1 56% โดยมีปริมาณอยู่ระหว่าง 0-2.53 ไมโคร - กรัม/กก. เฉลี่ย 0.702 ไมโครกรัม/กก. สำหรับการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A พบว่า ข้าวกล้องมีการปนเปื้อน 40% จากจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบทั้งหมด แต่ปริมาณการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 0-1.60 ไมโครกรัม/กก. เท่านั้น เฉลี่ย 0.292 ไมโครกรัม/กก. ไม่พบการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวขาว ปริมาณสารพิษจากเชื้อราทั้งสองชนิดที่พบในข้าวมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด โดยปริมาณเชื้อรา *Aspergillus flavus* ที่ตรวจพบมีเพียง 3% และไม่พบเชื้อรา *Aspergillus ochraceus*

คำสำคัญ : ข้าวกล้อง ข้าวขาว Aflatoxin B1 Ochratoxin A ELISA

คำนำ

ประเทศไทยส่งออกสินค้าข้าวมาเป็นเวลาช้านาน โดยการส่งออกข้าวขาวในปี 2550 มีปริมาณ 9.19 ล้านตัน ปี 2551 มีการส่งออก 10.22 ล้านตัน และในช่วง 6 เดือนแรกปี 2552 มีการส่งออก 5.0 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) ซึ่งมูลค่าการส่งออกของปี 2552 ลดลง 17.32% เมื่อเทียบกับปี 2551 ในช่วงเวลาเดียวกัน แม้ในปัจจุบันไทยจะยังคงเป็นผู้นำการส่งออกข้าวสู่ตลาดโลก แต่การส่งออกโดยรวมของไทยมีแนว - โน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ตามภาวะการค้าข้าวในตลาดโลกที่ชะลอตัวลง ประกอบกับการแข่งขันด้านราคากับประเทศเวียดนาม การผลิตข้าวของไทยเสียเปรียบด้านความสมบูรณ์ของดิน ทำให้ต้องใช้ปุ๋ยบำรุงดิน ต้นทุนการผลิตจึงสูงกว่าเวียดนาม อย่างไรก็ตาม ตลาดที่แข่งขันกับเวียดนามเป็นตลาดข้าวคุณภาพต่ำ ขณะที่ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตข้าวคุณภาพสูงและเป็นที่ต้องการของตลาด เช่น สหภาพยุโรป สหรัฐอเมริกา และสาธารณรัฐประชาชนจีน ดังนั้น เกษตรกรและหน่วยงานทุกฝ่าย ต้องร่วมมือกันรักษามาตรฐานในการผลิตข้าวให้มีคุณภาพและเป็นที่ต้องการของตลาดโลก

ปัญหาด้านสุขอนามัยและคุณภาพข้าวส่งออกของอุตสาหกรรมอาหาร คือ ความไม่ปลอดภัยของข้าวที่อาจมีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อรา สารเคมีตกค้าง และปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และแมลง สารพิษจากเชื้อราเท่าที่มีการค้นพบมีประมาณ 400 ชนิด แต่มีประมาณ 20 ชนิด ที่เกี่ยวข้องกับความปลอดภัยด้านอาหาร ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญต่อการส่งออกข้าวไทย กล่าวคือ เมื่อวันที่ 3 ธันวาคม 2551 สำนักงานเกษตรประเทศญี่ปุ่นประจำกรุงโตเกียว ได้รับแจ้งว่ามีการพบเชื้อราในข้าวปริมาณ 180 กรัม ในกระสอบข้าว 1 ตัน จากข้าวไทยที่ญี่ปุ่นซื้อไว้ 24 ตัน และพบว่าข้าวชนิดนี้มีการปนเปื้อนสาร Aflatoxin ปริมาณ 4 ไมโครกรัม/กก. จากการตรวจพบทำให้ภาพลักษณ์ของคุณภาพข้าวไทยเสียหายได้ นอกจากนี้ ยังมีปัญหาการส่งออกข้าวไทยไปประเทศรัสเซีย เนื่องจากประเทศรัสเซียเข้มงวดเกี่ยวกับการตรวจสอบคุณภาพมาตรฐานการนำเข้าข้าว และได้เสนอให้มีการลงนามในเอกสารความร่วมมือด้านความปลอดภัยของข้าวไทยที่จะส่งออกไปยังประเทศรัสเซีย โดยต้องแนบผลการตรวจวิเคราะห์ความปลอดภัยอาหารไปด้วย แต่ฝ่ายไทยยังไม่ได้ลงนามเนื่องจากอาจมีผลกระทบกับการส่งออกข้าวไปประเทศอื่นๆ ได้ ความไม่ปลอดภัยที่รัสเซียต้องการตรวจสอบคือ สารพิษ Ochratoxin A และ Citrinin ซึ่งถ้าประเทศไทยมีข้อมูลทางวิชาการยืนยันว่าข้าวไทยมีโอกาสเกิดการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราหรือไม่มากน้อยเพียงไร ก็จะเป็นประโยชน์ต่อการส่งออกข้าวไทยอย่างมาก

Aflatoxin B1 เป็นสารก่อมะเร็ง ที่สร้างโดยเชื้อรา *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* และ *A. normius* โดยจะพบเชื้อรา *A. flavus* มากที่สุด และเป็นเชื้อราที่สามารถสร้างสารพิษได้สูงที่สุด (Wilson and Palyen, 1994) ในประเทศไทย มีรายงานว่าพบ *A. flavus* ในข้าวสูงถึง 58 % (Shank *et al.*, 1972) Ochratoxin A เป็นสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *A. ochraceus* และ *Penicillium verrucosum* ในประเทศแถบร้อนชื้น เช่น ประเทศไทย *A. ochraceus* จะสร้างสารพิษชนิดนี้ ส่วนในประเทศแถบหนาวจะสร้างสารพิษโดย *P. verrucosum* สำหรับสาร Ochratoxin A เป็นสารพิษที่ทำลายระบบการทำงานของไต และทำให้เกิดโรคมะเร็งตับ สามารถทนความร้อนได้

Bureau of Rice Research and Development

ถึง 221 °ซ. (อมรา, 2551) ดังนั้น การศึกษานี้จะศึกษาเฉพาะ สาร Aflatoxin B1 และ Ochratoxin A

อุปกรณ์และวิธีการ

การตรวจการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ในข้าวกล้องและข้าวขาว

สุ่มเก็บตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวขาวจากแหล่งจำหน่ายข้าวในกรุงเทพมหานคร ในเดือนมิถุนายน 2552 จำนวน 5 แห่ง แห่งละ 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 1 กก. รวมทั้งหมด 50 ตัวอย่าง และนำมาตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ด้วยวิธี ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) โดยใช้ชุดตรวจสอบสาร Aflatoxin B1 สำเร็จรูปของกรมวิชาการเกษตร DOA-Aflatoxin ELISA test kit (Fig. 1) ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์มีดังนี้

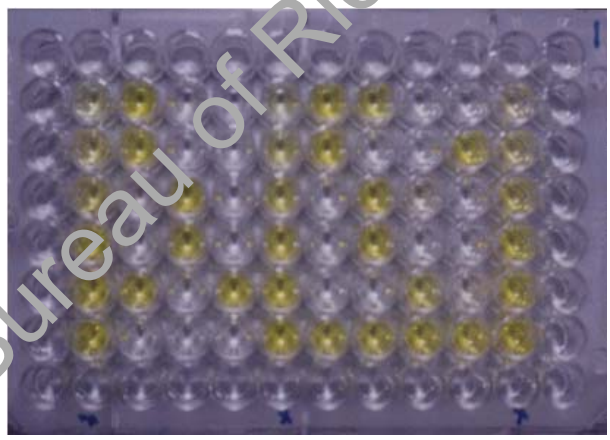
1. การเตรียมตัวอย่าง บดตัวอย่างข้าวให้ละเอียดด้วยเครื่องบด นำตัวอย่างข้าวที่บดละเอียดมากวนให้เข้ากันอย่างสม่ำเสมอด้วยเครื่องกวนผสมอาหาร จากนั้นนำมาแบ่งด้วยเครื่อง divider 2 ครั้ง ชั่งตัวอย่างข้าวที่บดละเอียดปริมาณ 20 กรัม ใส่ใน flask (ขวดแก้ว) ขนาด 250 มล.จำนวน 2 ขวดแก้ว/ตัวอย่าง

2. การสกัดสารพิษจากตัวอย่าง เติมสารเมทธานอล 70% ลงในขวดแก้วที่ใส่ตัวอย่าง ปริมาณ 100 มล./ขวดแก้ว (อัตราส่วน 1:5) ปิดปากขวดด้วยจุกยางแล้วนำขวดแก้วไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่อัตราความเร็ว 300 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ให้ตกตะกอน แล้วนำสารละลายมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ส่วนที่กรองได้นำไปเจือจางด้วย 0.01M phosphate buffer ให้เป็นอัตราส่วน 1:20

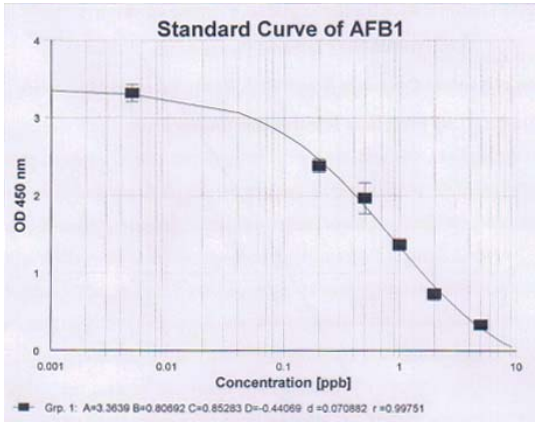
3. การวิเคราะห์สารพิษด้วยวิธี ELISA ใช้หลุม

(a)

(b)



(c)



(d)

Fig. 1 Detection of Aflatoxin B1 from rice sample using DOA-Aflatoxin ELISA test kit (a) rice samples extraction with methanol (b) 96 wells micro ELISA plate (c) and typical standard curve of the test (d)

Bureau of Rice Research and Development

ทดสอบชนิด 96 หลุม/เพลท ที่เคลือบด้วยแอนตีซีรั่มต่อสาร Aflatoxin B1 เรียบร้อยแล้ว วางแผนการหยดตัวอย่างทดสอบดังนี้

	Std									Std	
	2	S2	S8	S14	S20	S1	S7	S13	S19	2	
	1	S3	S9	S15	S21	S2	S8	S14	S20	1	
	0.5	S4	S10	S16	S22	S3	S9	S15	S21	0.5	
	0.2	S5	S11	S17	S23	S4	S10	S16	S22	0.2	
	0	S6	S12	S18	S24	S5	S11	S17	S23	0	
	S1	S7	S13	S19	S25	S6	S12	S18	S24	S25	

3.1 หยดสารพิษมาตรฐานปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0 0.2 0.5 1 และ 2 นาโนกรัม/มล. จำนวน 2 แถว แล้วหยดสารสกัดที่เตรียมไว้ในปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมทดสอบ จำนวน 2 หลุม/ตัวอย่าง ในการทดสอบใช้เพลททั้งหมด จำนวน 4 เพลท (ตัวอย่างข้าวกล้อง 2 เพลท และข้าวขาว 2 เพลท)

3.2 หยด enzyme conjugate (AflatoxinB1-HRP conjugate) ปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม แล้วบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 °ซ. เป็นเวลา 30 นาที

3.3 เทสารในหลุมทดสอบทิ้ง แล้วล้างหลุมทดสอบด้วย PBS-T (0.01M phosphate buffer saline - 0.5% tween 20 pH 7.2) 3 ครั้ง

3.4 หยด substrate (tetramethylbenzidine) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงในทุกหลุม บ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที ปฏิกิริยาจะเกิดเป็นสีฟ้า

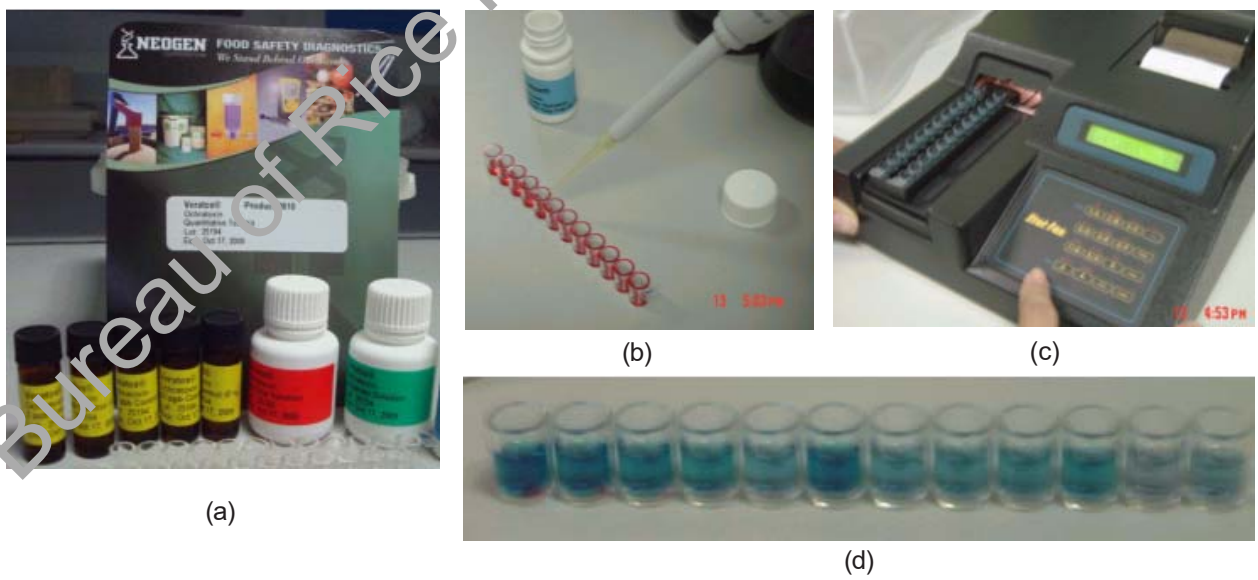
3.5 หยด stopping solution ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ปฏิกิริยาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

3.6 นำหลุมทดสอบไปอ่านความเข้มของสี และปริมาณสาร Aflatoxin B1 ด้วยเครื่อง MicroELISA Reader (Sunrise ของ Tecan) ที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร

การตรวจการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวกล้องและข้าวขาว

ใช้ตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวขาวที่บดแล้วจำนวน 50 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างเดียวกับการตรวจสาร Aflatoxin B1 นำมาตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ด้วยวิธี ELISA โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปของ Neogen (นำเข้าจากสหรัฐอเมริกา) ซึ่งหลุมทดสอบจะเป็นแบบแถว (stripe) มีจำนวนหลุมทดสอบ 12 หลุมต่อแถว (Fig. 2) โดยมีขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์ดังนี้

1. การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง นำตัวอย่างที่บดละเอียดแล้วมาชั่งในปริมาณ 25 กรัม/ตัวอย่าง ใส่ในขวดแก้วขนาด 250 มล. เติม เมทธานอล 50% ปริมาณ 100 มล. ลงในขวดแก้ว นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความ



(a) (b) (c) (d)

Fig. 2 Detection of Orchatoxin A from rice sample using Neogen ELISA test kit (a) red mixing well (b) stripe test (c) and microELISA reader for stripes (d)

Bureau of Rice Research and Development

เร็ว 300 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นตั้งขวดแก้วทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนที่ใสด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ส่วนที่กรองได้นำไปวิเคราะห์ได้ทันที

2. การวิเคราะห์สารพิษจากตัวอย่าง ชุดทดสอบ 1 ชุดจะมีหลุมทดสอบสำหรับผสมตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์จำนวน 4 แถว และแถวหลุมทดสอบสำหรับวิเคราะห์ 4 แถว ชุดทดสอบสาร Ochratoxin A มีสารพิษมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ 5 ระดับคือ 0 2 5 10 และ 25 ppb ดังนั้น จึงสามารถวิเคราะห์สารพิษได้ 7 ตัวอย่างต่อ 1 แถว ดังนี้

0	2	5	10	25	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7

2.1 นำแถวหลุมสำหรับผสมตัวอย่าง (red marked mixing well) มาหยดสารพิษมาตรฐานลงไปหลุมละ 100 ไมโครลิตรต่อระดับความเข้มข้น จำนวน 5 ระดับ แล้วหยดสารสกัดตัวอย่างลงในหลุมที่เหลือปริมาณ 100 ไมโครลิตร/หลุม/ตัวอย่าง

2.2 เติม enzyme conjugate ทุกหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร แล้วใช้อุปกรณ์ดูดปล่อยสารละลายแบบ 12 หัว (multi channel pipette) ดูดปล่อยผสมสารในหลุมทดสอบให้เข้ากัน

2.3 ใช้ multi channel pipette ดูดสารละลายจากหลุมสำหรับผสมตัวอย่าง ปริมาณ 100 ไมโครลิตร นำมาใส่ในหลุมทดสอบที่เคลือบด้วย antibody ต่อสาร Ochratoxin A พร้อมกัน แล้วบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที

2.4 เทสารในหลุมทดสอบทิ้ง แล้วล้างด้วย washing buffer 3 ครั้ง

2.5 หยด substrate ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงไป ปฏิกิริยาที่เกิดเป็นสีฟ้า

2.6 หยด stopping solution ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ลงไปในหลุมทดสอบ สีจะเปลี่ยนเป็นชมพูอมม่วง อ่านความเข้มของสีและปริมาณสารพิษด้วยเครื่อง MicroELISA Reader (stat fax) ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

การตรวจการปนเปื้อนของเชื้อราในข้าวกล้องและข้าวขาว

สุ่มตัวอย่างเมล็ดข้าวทั้ง 2 ชนิดก่อนทำการบดสำหรับการทดสอบสารพิษ โดยสุ่มชนิดละ 100 เมล็ด นำเมล็ดมาแช่ 1% sodium hyperchloride เป็นเวลา 1 นาที เพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่อยู่บนผิวนอกเมล็ดข้าวออกไป แล้วนำเมล็ดมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที เพื่อให้สาร sodium hyperchloride ถูกล้างออกจนหมด หลังจากนั้นใช้ปากคีบที่ปราศจากเชื้อคีบเมล็ดข้าวไปวางบนอาหาร DG 18 ในจานเลี้ยงเชื้อ โดยวางเมล็ดข้าวจำนวน 20 เมล็ดต่อจานเลี้ยงเชื้อ จำนวน 5 จานเลี้ยงเชื้อต่อชนิดของข้าว จากนั้นวางไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จึงตรวจนับจำนวนเชื้อราที่ปนเปื้อน

ผลการทดลองและวิจารณ์

การตรวจการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ในข้าวกล้องและข้าวขาว

จากตัวอย่างข้าวกล้องจำนวน 25 ตัวอย่าง พบว่า มีการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 สูงถึง 23 ตัวอย่าง คิดเป็น 92% แต่ปริมาณสารที่ปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 0-4.56 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 2.912 ไมโครกรัม/กก. (Table 1) สำหรับมาตรฐานของประเทศไทยตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข อนุญาตให้อาหารมีการปนเปื้อนสาร Aflatoxin ได้ไม่เกิน 20 ไมโครกรัม/กก. แต่ประเทศญี่ปุ่นกำหนดให้มีการปนเปื้อนได้ไม่เกิน 10 ไมโครกรัม/กก. ขณะที่สหภาพยุโรปกำหนดให้ Aflatoxin B1 มีได้ไม่เกิน 4 ไมโครกรัม/กก. และ Aflatoxin รวม ต้องไม่เกิน 8 ไมโครกรัม/กก.

อนึ่ง ปี 2543 ได้มีการสำรวจการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ในผลิตผลเกษตรหลายชนิดรวมทั้งข้าวกล้อง พบปริมาณการปนเปื้อนอยู่ระหว่าง 7.0-18.30 ppb (อมรา, 2543) แสดงให้เห็นว่าในปัจจุบันเกษตรกรและผู้เกี่ยวข้องได้มีการจัดการที่ดีในช่วงหลังการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษา ทำให้ข้าวกล้องมีคุณภาพดีขึ้น ประเทศในแถบเอเชีย เช่น ฟิลิปปินส์ และอินเดีย มีรายงานพบการปนเปื้อนสาร Aflatoxin B1 ในข้าวกล้อง 100 และ 38.5% โดยมีปริมาณการปนเปื้อนเฉลี่ยที่ 0.39 และมากกว่า 5 ไมโครกรัม/กก. ตามลำดับ (Yoshizawa, 2006) ขณะที่ประเทศเกาหลีมีรายงานว่า 6% ของตัวอย่างข้าวที่เก็บมาจากเมืองโซล มีการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 เฉลี่ย 4.8 ไมโครกรัม/กก.

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Amount of Aflatoxin B1 contamination in brown rice from 5 markets in Bangkok, June 2009

Sampling market	Amount of Aflatoxin B1 (µg/kg)*					Average±SD	% positive sample
	S1	S2	S3	S4	S5		
1	2.38	2.40	2.15	2.71	3.08	2.544±0.359	100
2	2.81	2.96	3.04	3.02	2.74	2.914±0.132	100
3	3.24	3.29	0	3.25	4.00	2.756±1.573	80
4	2.94	3.40	2.87	0	3.49	2.540±1.445	80
5	3.02	4.50	4.56	3.14	3.38	3.805±0.839	100
					Average	2.912	92

* Average from 2 replications of subsamplings

S = sample, SD = standard deviation

The maximum tolerance level of Aflatoxin B1 in cereal is 20 ppb for Thailand and 10 ppb for Japan.

Table 2 Amount of Aflatoxin B1 contamination in white rice from 5 markets in Bangkok, June 2009

Sampling market	Amount of Aflatoxin B1 (µg/kg)*					Average±SD	% positive sample
	S1	S2	S3	S4	S5		
1	0	0	0	1.72	1.05	0.554±0.794	40
2	0	0.88	1.52	1.10	1.12	0.924±0.565	80
3	0	1.64	2.53	0	1.27	1.088±1.093	60
4	1.05	0	0	1.10	0.89	0.608±0.560	60
5	0	0.94	0.76	0	0	0.340±0.469	40
					Average	0.702	56

* Average from 2 replications of subsamplings

S = sample, SD = standard deviation

The maximum tolerance level of Aflatoxin B1 in cereal is 20 ppb for Thailand and 10 ppb for Japan.

ส่วนผลการทดสอบการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 ในข้าวขาว พบว่ามีการปนเปื้อนเพียง 56% โดยมีปริมาณสารพิษอยู่ระหว่าง 0-2.53 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 0.702 ไมโครกรัม/กก. เท่านั้น (Table 2) ซึ่งเป็นปริมาณสารพิษต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดมาก จึงถือได้ว่าข้าวขาวมีความปลอดภัยจากการปนเปื้อนสาร Aflatoxin B1 สูงกว่าข้าวกล้อง ทั้งนี้เนื่องจากข้าวกล้องอุดมไปด้วยสารอาหาร และวิตามินที่มีประโยชน์ต่อสิ่งมีชีวิต รวมทั้งเชื้อราด้วย

การตรวจการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวกล้องและข้าวขาว

จากผลการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสาร Ochratoxin A ในข้าวกล้อง พบว่า มีเพียง 40% ของตัวอย่างทั้งหมด โดยมีปริมาณการปนเปื้อนตั้งแต่ 0-1.60 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 0.292 ไมโครกรัม/กก. (Table 3) ตาม

Bureau of Rice Research and Development

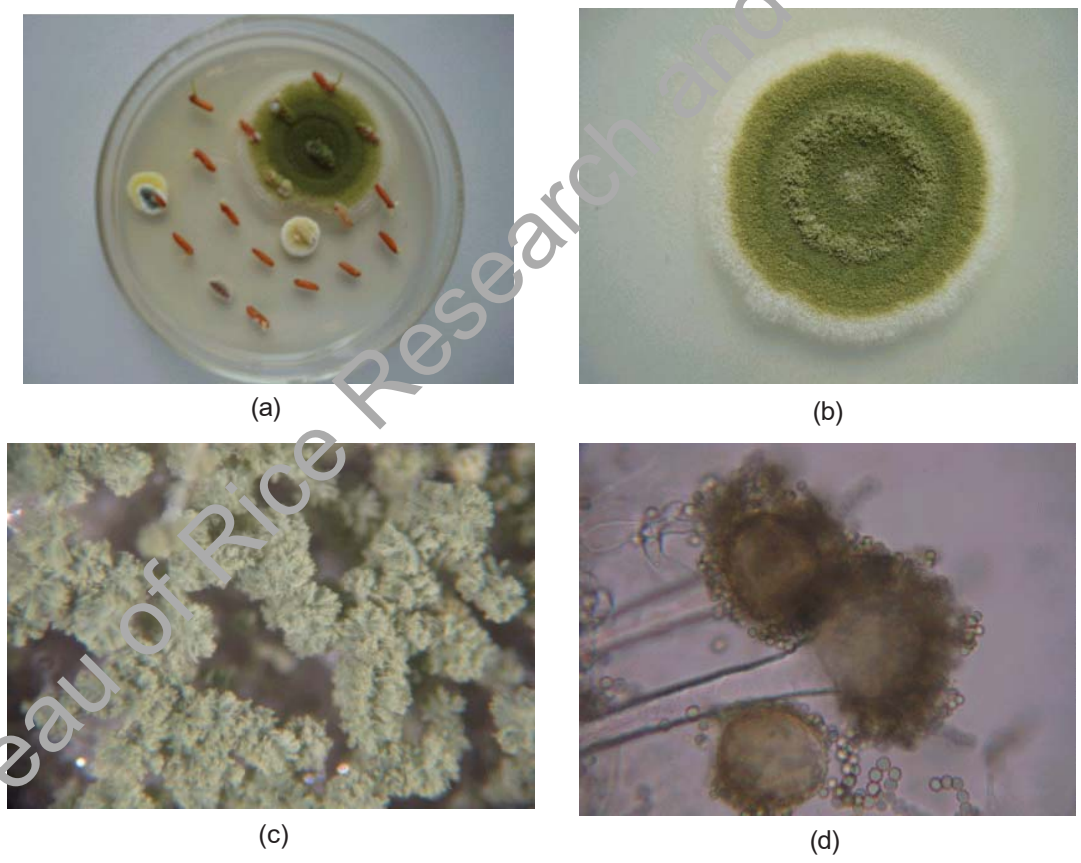
Table 3 Amount of Ochratoxin A contamination in brown rice from 5 markets in Bangkok, June 2009

Sampling market	Ochratoxin A (µg/kg)*					Average±SD	% positive sample
	S1	S2	S3	S4	S5		
1	0	0	0	0	0	0	0
2	1.60	1.50	0.3	0	0.60	0.80±0.717	80
3	0.40	0	0	0	0	0.08±0.178	20
4	0.60	0	0	0.80	0.70	0.42±0.389	60
5	0.40	0	0	0.40	0	0.16±0.219	40
					Average	0.292	40

* Average from 2 replications of subsamplings

S = sample, SD = standard deviation

The maximum tolerance level of Ochratoxin A in cereal is 3 ppb



(a) (b) (c) (d)

Fig. 3 Contamination of *Aspergillus flavus* on brown rice seed (a) colony of isolated *A. flavus* on PDA (b) conidial head as seen under stereomicroscope (c) and conical head x 1650 (d)

Bureau of Rice Research and Development

ข้อกำหนดของ codex ประกาศให้สาร Ochratoxin A ปนเปื้อนในธัญพืชได้ไม่เกิน 3 ไมโครกรัม/กก. (FAO, 2004) ส่วนผลจากการตรวจวิเคราะห์ในข้าวขาว พบว่าทุกตัวอย่างไม่มีการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A (0%)

อนึ่ง ในประเทศเวียดนามมีรายงานพบการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวเช่นกัน โดยปริมาณการปนเปื้อนสูงรองจาก สาร Aflatoxin B1 (Nguyen *et al*., 2007) สาร Ochratoxin A โดยทั่วไปจะสร้างโดยเชื้อรา *A. ochraceus* มักพบปนเปื้อนในกาแฟและผลไม้แห้ง อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีรายงานว่า *A. niger* ก็สามารถสร้างสาร Ochratoxin A ได้เช่นกัน (Abarca *et al*., 1994) ซึ่งเชื้อราชนิดนี้เป็นราสีดำที่มักพบปนเปื้อนในผลิตผลเกษตร สำหรับในประเทศไทยยังไม่มีข้อมูลการสร้างสารพิษ โดย *A. niger* และในการตรวจสอบครั้งนี้เป็นข้อมูลใหม่และเป็นครั้งแรกของประเทศไทยที่รายงานเกี่ยวกับการปนเปื้อนสาร Ochratoxin A ในข้าว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวของประเทศไทยยังปลอดภัยจากการปนเปื้อนสาร Ochratoxin A

การตรวจการปนเปื้อนของเชื้อราในข้าวกล้องและข้าวขาว

เชื้อราที่พบปนเปื้อนในข้าวกล้อง จะเป็นเชื้อราสกุล *Aspergillus* spp. โดยพบ *A. flavus* เพียง 3 เมล็ดจาก 100 เมล็ดที่ทดสอบ (Fig. 3) ในข้าวขาวไม่พบเชื้อรา *A. flavus* แต่พบเชื้อราชนิดอื่นๆ ประเทศกาหลีมีรายงานว่าเชื้อรา *A. ochraceus* ที่แยกได้จากข้าวสามารถสร้างสาร Ochratoxin A ได้ (Shim *et al*., 2006) อย่างไรก็ตาม ในการตรวจสอบครั้งนี้ไม่พบเชื้อรา *A. ochraceus* ทั้งในข้าวกล้องและข้าวขาว

สรุปผลการทดลอง

ข้าวกล้องมีสาร Aflatoxin B1 ปนเปื้อน 92% ของจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบ ปริมาณสาร Aflatoxin B1 อยู่ระหว่าง 0-4.56 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 2.912 ไมโครกรัม/กก. สำหรับข้าวขาวพบการปนเปื้อนของสาร Aflatoxin B1 56% มีปริมาณอยู่ระหว่าง 0-2.53 ไมโครกรัม/กก. เฉลี่ย 0.702 ไมโครกรัม/กก. เท่านั้น ส่วนการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวกล้องมีการปนเปื้อน 40% จากจำนวนตัวอย่างที่ทดสอบทั้งหมด แต่ปริมาณการปนเปื้อนต่ำมากอยู่ระหว่าง 0-1.60 ไมโครกรัม/กก. เท่านั้น เฉลี่ย 0.292 ไมโครกรัม/กก. ไม่พบการปนเปื้อนของสาร Ochratoxin A ในข้าวขาว และปริมาณสารพิษจากเชื้อราทั้งสองชนิดในข้าวที่ตรวจสอบมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดไว้ โดยปริมาณเชื้อรา *A. flavus* ที่ตรวจพบมีเพียง 3% และไม่พบเชื้อรา *A. ochraceus* ทั้งในข้าวกล้องและข้าวสาร

เอกสารอ้างอิง

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2550. ข้อมูลพื้นฐานเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2550. ศูนย์สารสนเทศการเกษตร เอกสารสถิติการเกษตรเลขที่ 413. หน้า 9.

อมรา ชินภูติ. 2543. สารพิษและพาหะทอกซินในผลิตผลเกษตรและวิธีการลดสารพิษก่อนการบริโภค. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา 10(2) : 34-40.

อมรา ชินภูติ. 2551. สารพิษจากเชื้อราและการจัดการ. เอกสารประกอบการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง "การตรวจวิเคราะห์สารแอฟลาทอกซินในผลิตผลเกษตรอย่างรวดเร็วโดยใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป DOA-Aflatoxin ELISA Test Kit" สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, กรมวิชาการเกษตร. 60 หน้า.

Abarca, M.L., M.R. bragult, G. Castella and F.L. Cabanes. 1994. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. niger. Applied and Environmental Microbiology 60(7) : 2650-2652.

Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). 2004. Worldwide Regulations for Mycotoxins in Food and Feed in 2003 . FAO Food and Nutrition Paper 81, Rome, Italy.

Nguyen, M.T., M. Tozlovanu, T.L. Tran and A. P. Leszkwicz. 2007. Occurrence of Aflatoxin B1, Citrinin and Ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. Annual Review of Food Science and Technology. Available source : www. annualreviews.org.

Shim, W.H., Z.Y. Yang, S.J. Park and D.H. Chung. 2006. The screening of mycotoxigenic fungi in Korea by HPLC, ELISA and PCR methods. pp. 26-34.

Bureau of Rice Research and Development

In : Susumu K. (ed.), Proceedings of the International Symposium on Mycotoxicology in Bangkok, 2006.

Shank, R.C., G.N. Wogan, and J.B. Gibson. 1972. Dietary aflatoxins and human liver cancer. *In* : Toxigenic moulds in foods and foodstuffs of tropical south-east Asia. Fd. Cosmet. Toxicol. 10 : 51-60.

Wilson, D.M. and G.A. Palyne. 1994. Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of crops. pp. 309-325. *In* : Eaton, D.L. and J.D. Groopman. (eds.), The Toxicology of Aflatoxins Human Health, Veterinary and Agriculture Significance. San Diego: Academic press.

Yoshizawa,T. 2006. Current situation and perspective of mycotoxin research in Asia. pp. 1-9 *In* : Susumu K. (ed.), Proceedings of the International Symposium on Mycotoxicology in Bangkok, 2006.

Bureau of Rice Research and Development