



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน
จากแหล่งดินต่างๆในประเทศไทย

Investigation on efficacy of adsorbents from the different clay mineral sources
in Thailand for the detoxification of aflatoxins

โดย

อุไร เต้งเจริญกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

พฤษภาคม 2550

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินจากแหล่งดินต่างๆในประเทศไทย

Investigation on efficacy of adsorbents from the different clay mineral sources
in Thailand for the detoxification of aflatoxins

โดย

อูไร เต็งเจริญกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

(ความเห็นในงานวิจัยนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

Executive Summary

สารพิษจากเชื้อราประกอบด้วยสารพิษหลายชนิด แต่สารพิษจากเชื้อราที่มีพิษร้ายแรงและก่อความเสียหายอย่างมากแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และอาหารสัตว์คือสารพิษอะฟลาท็อกซิน แต่ที่ให้ความสนใจเป็นพิเศษคือสารพิษอะฟลาท็อกซิน บี1 (aflatoxin B1) เนื่องจากมีความเป็นพิษสูงในกลุ่มนี้ ความรุนแรงของสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยทั่วไปขึ้นอยู่กับจำนวนและช่วงระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสารพิษ ในสัตว์ที่ได้รับพิษขนาดสูงอาจตายได้ภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง ส่วนสัตว์ที่ได้รับพิษขนาดต่ำจะกินอาหารน้อยลง ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง อัตราการเติบโตต่ำ น้ำหนักลด และภูมิคุ้มกันต่ำ สัตว์อ่อนแอเกิดโรคได้ง่าย มีอัตราการตายเพิ่มขึ้นและที่สำคัญคือสารพิษอะฟลาท็อกซินสามารถตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ ทำให้เกิดพิษภัยต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการก่อโรคมะเร็งในคน

ปริมาณอาหารสัตว์ที่คาดว่าจะใช้ในการผลิตสัตว์มีประมาณมากถึงสิบล้านตัน ดังนั้นการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินแม้เพียง 1% ก็สามารถก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาล ในปัจจุบันวิธีกำจัดสารพิษดังกล่าวมีหลายวิธีซึ่งมีประสิทธิภาพแตกต่างกันออกไป แต่วิธีที่ได้รับความสนใจและใช้กันมากคือวิธีการใช้สารดูดซับ (adsorbent) เช่น ผงถ่าน (activated carbon) และดินเหนียว (clay) ชนิดต่างๆ เนื่องจากวิธีดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูง ง่ายต่อการนำไปใช้และมีราคาถูกกว่าเมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ ในปัจจุบันแม้ประเทศไทยได้มีการใช้สารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในทางการค้า (commercial adsorbents) ในท้องตลาดมากกว่า 30 ชนิดและมีมูลค่ารวมถึง 3,000 ล้านบาท สารดูดซับแต่ละชนิดมีโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพแตกต่างกันไป ซึ่งประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินของสารดูดซับมีประสิทธิภาพมากน้อยแตกต่างกัน การใช้สารดูดซับที่ด้อยประสิทธิภาพ นอกจากจะทำให้เกิดการสิ้นเปลืองแล้ว สารดังกล่าวยังอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์หรือไปเพิ่มความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน ซึ่งผลที่ตามมาทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์เพื่อการส่งออกของประเทศ รวมทั้งจากการที่สารดูดซับส่วนมากต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้แต่ละปีประเทศไทยต้องสูญเสียเงินตราเป็นจำนวนมาก ดังนั้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของดินจากแหล่งแร่ดิน (clay mineral) ต่างๆ ในประเทศไทยที่ใช้เป็นสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน เพื่อใช้เป็นแนวทางในการแสวงหาสารดูดซับที่มีประสิทธิภาพสูงภายในประเทศ และเพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศ

การศึกษาประสิทธิภาพของการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในห้องปฏิบัติการ โดยใช้สารดูดซับจากแหล่งดินต่างๆ ในประเทศไทย 18 ตัวอย่าง เบนโทไนต์ทางการค้า 3 ตัวอย่างและสารดูดซับสารพิษทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศอีก 4 ตัวอย่าง สามารถสรุปได้ว่าอัตราการดูดซับของสารพิษอะฟลาท็อกซินบนสารดูดซับในน้ำจะแตกต่างกัน โดยทั่วไปอัตราการดูดซับจะลดลงอย่าง

มากหลัง 12 ชั่วโมง แต่มีสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1) ที่ดูดซับได้อย่างมากในเวลาอันสั้น สำหรับดินตัวอย่าง S1 จะดูดซับสารพิษได้ปริมาณมากและรวดเร็วกว่าดินตัวอย่างอื่น การศึกษาเกี่ยวกับไอโซเทอร์มการดูดซับได้ใช้เวลาในการทดลองการดูดซับที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่อัตราการดูดซับสารพิษบนสารดูดซับส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

การศึกษาไอโซเทอร์มการดูดซับพบว่าพฤติกรรมการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินในน้ำบนตัวดูดซับนั้นไม่สามารถอธิบายได้ด้วย Langmuir model ข้อมูลการดูดซับส่วนใหญ่ใช้ได้กับ modified Freundlich model ซึ่งอธิบายได้ดีกับการเกิดผิวเนื้อผสม (heterogeneous surface) เมื่อพิจารณาคุณลักษณะต่างๆของการดูดซับจากสมการที่ให้ correlation coefficient (R^2) สูงสุดสำหรับแต่ละสารดูดซับ จะพบว่าสารดูดซับที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับอะฟลาทอกซิน (Q_{max}) มากที่สุดคือดิน S1 รองลงมาคือ S8 และ S9 นอกจากนั้นยังพบว่า การดูดซับยังขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรดเบส รวมทั้งองค์ประกอบในสารละลายด้วย การดูดซับเกิดได้ดีในช่วง pH 5-7 และการแข่งขันจากบัพเฟอร์ที่เป็นองค์ประกอบในตัวกลางทำให้การดูดซับของสารพิษอะฟลาทอกซินลดลง การดูดซับของสารพิษอะฟลาทอกซินบนตัวดูดซับที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินสูง จะได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิน้อย ซึ่งพฤติกรรมการดูดซับอธิบายได้ด้วยการเกิดแรงกระทำแบบ chemisorption ซึ่งต่างจากการดูดซับบนสารอื่นที่อุณหภูมิมีผลกระทบอย่างมากถ้าการดูดซับเป็นแบบ physisorption โดยการดูดซับดีขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลง

เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพของสารดูดซับที่ดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินได้ดี ทั้งค่าความเป็นกรด-เบส ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความจุการแลกเปลี่ยนไอออนบวก และองค์ประกอบของแร่ในดิน เหล่านี้พบว่าดินบางชนิดที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับสารพิษสูงเช่น S1 S8 และ S9 จัดอยู่ในพวกเบนโทไนต์ โดยจะมีแร่มอนทอร์มิลโลไนต์เป็นองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับเบนโทไนต์ (BN1) และสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1) ที่เป็น hydrated sodium calcium aluminosilicate และสำหรับดินตัวอย่างจากชัยบาดาล ลพบุรี S1 จะเป็นตัวอย่างดินเบนโทไนต์ในไทยที่มีปริมาณแร่มอนทอร์มิลโลไนต์มากกว่า S9 และ S8

การศึกษาแบบ in vivo โดยเสริมสารดูดซับ S1 และ COM1 ในสูตรอาหารเปิดเนื้อ การเสริมสารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (S1) ให้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารดูดซับสารพิษที่นำเข้าจากต่างประเทศ (COM1) ซึ่งเป็นสารประเภท Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate) เมื่อเปรียบเทียบผลต่อสมรรถนะการผลิตทั้งด้านการเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อ ผลต่อค่าตรวจวิเคราะห์โลหิตวิทยา และความผิดปกติหรือรอยโรคจากสารพิษอะฟลาทอกซิน สารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (S1) ที่ระดับ 0.5% โดยน้ำหนักอาหารสามารถใช้ทดแทนสารดูดซับสารพิษจากบริษัทเอกชนที่นำเข้าจากต่างประเทศ สำหรับการป้องกันพิษที่เกิดจากอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารเปิดเนื้อ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 จากแหล่งดินต่างๆ ในประเทศไทยโดยวิธี ไอโซเทอร์ม เพื่อวัดความสามารถและสัมพรรคภาพในการดูดซับสารพิษ สารดูดซับจากแหล่งดินต่างๆ ในประเทศไทยจำนวน 18 ตัวอย่าง ถูกนำมาทดสอบการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ในหลอดทดลอง จากผลการศึกษาพบว่าดินเหล่านี้สามารถจับแยกอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ออกจากสารละลายได้แตกต่างกัน ข้อมูลการทดลองนำมาประยุกต์กับสมการไอโซเทอร์มการดูดซับแบบต่างๆ พบว่าดินตัวอย่างสามารถดูดซับอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ตั้งแต่ 7.95×10^{-4} โมล/กิโลกรัม ถึง 4.49×10^{-2} โมล/กิโลกรัม ซึ่งสารดูดซับสารพิษทางการค้า 4 ชนิดที่ศึกษา มีค่าความสามารถในการดูดซับ 1.09×10^{-3} โมล/กิโลกรัม ถึง 1.27×10^{-2} โมล/กิโลกรัม ส่วนเบนโทไนด์ที่ศึกษาอีก 3 ชนิดมีค่าความสามารถในการดูดซับ 2.80×10^{-3} โมล/กิโลกรัม ถึง 6.70×10^{-3} โมล/กิโลกรัม ส่วนค่าคงที่การกระจายตัวในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินของดินตัวอย่าง สารดูดซับสารพิษทางการค้า และเบนโทไนด์ อยู่ในช่วง 1.09×10^5 - 2.04×10^{11} , 2.38×10^5 - 4.26×10^5 และ 2.33×10^5 - 2.84×10^5 ตามลำดับ พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ที่ใช้ในการศึกษาการดูดซับไอโซเทอร์มของสารพิษอะฟลาท็อกซินเป็นแบบรูปตัวเอส นอกจากนั้นยังพบว่าอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-เบสมีผลกระทบต่อการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน สารดูดซับส่วนใหญ่มีการดูดซับเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลงซึ่งอธิบายถึงกลไกหลักที่เป็นการดูดซับแบบกายภาพ แต่กรณีสารดูดซับในกลุ่มที่ดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ดีกลับได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิน้อยกว่า การดูดซับบนสารดูดซับที่มีประสิทธิภาพเหล่านี้ กลไกที่เด่นอาจเป็นการดูดซับแบบเคมีซึ่งเป็นแรงยึดเหนี่ยวที่แข็งแรงกว่าการดูดซับแบบกายภาพ สภาวะความเป็นกรด-เบสที่เหมาะสมอยู่ที่ช่วง pH 5-7 นอกจากนั้นยังพบว่าองค์ประกอบของสารละลายมีผลกระทบอย่างเห็นชัดต่อการดูดซับ โดยในสภาวะที่เป็นบัฟเฟอร์การดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินจะลดลงเมื่อเทียบกับสภาวะที่ตัวกลางเป็นน้ำ ทั้งนี้ในการแข่งขันการดูดซับของสารบัฟเฟอร์ซึ่งมีสภาพขั้วสูงกว่าสารพิษอะฟลาท็อกซินจึงดูดซับได้ดีกว่าสารพิษอะฟลาท็อกซินที่มีสภาพขั้วน้อยมากบนผิวของตัวดูดซับที่มีขั้ว ทำให้ในการศึกษาสมบัติทางกายภาพและเคมีพบว่าสารที่ดูดซับได้ดีเป็นสารประเภทเบนโทไนด์ ซึ่งจะมีแรมอนท์มอริโดไลนด์เป็นองค์ประกอบหลัก แต่อย่างไรก็ตามความบริสุทธิ์ของแร่และปริมาณธาตุต่างๆ ต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม ดินตัวอย่าง S1 มีความสามารถดูดซับสูงสุดถูกนำไปทดสอบเทียบกับ COM1 ในการทดสอบในสัตว์

ผลศึกษาประสิทธิภาพของดินเบนโทไนด์ (S1) ในประเทศไทยในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ระดับ 60 และ 120 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร (พีพีบี) ในสูตรอาหารเปิดเนื้อในระดับ 0.5% โดยน้ำหนักอาหาร พบว่าดินเบนโทไนด์ให้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารดูดซับสารพิษมาตรฐานจาก

ต่างประเทศ (Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate) เมื่อเปรียบเทียบผลต่อสมรรถนะการผลิตทั้งด้านการเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อ ผลต่อค่าดัชนีโลหิตวิทยา และความผิดปกติหรือรอยโรคจากสารพิษอะฟลาท็อกซิน ดินเบนโทไนต์ S1 จากแหล่งดินในประเทศไทยสามารถใช้ทดแทนสารดูดซับสารพิษจากต่างประเทศ เพื่อลดพิษที่เกิดจากอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในอาหารเปิดเนื้อ

Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficacy of AfB₁ to binding clay mineral samples compared to commercial adsorbents by using isotherm studies to measure capacity and affinity of toxin adsorption. Eighteen clay minerals from different sources in Thailand were preliminary tested for AfB₁ adsorption capacities in vitro. Our results indicated that these clay minerals were differently capable of sequestering AfB₁ from aqueous solution. Compared to Langmuir model, the experimental data were fit better to other adsorption isotherm model for investigating adsorption capacities and affinity constant of adsorbents. From the isotherm studies, S-shaped isotherms were observed for these clay minerals and other adsorbents. The maximum capacity (Q_{max}) ranged from 7.95×10^{-4} mol/kg to 4.49×10^{-2} mol/kg whereas the commercial toxin binders had maximum capacity ranged from 1.09×10^{-3} mol/kg to 1.27×10^{-2} mol/kg. In addition, the three types of bentonites used had maximum capacity ranged from 2.80×10^{-3} mol/kg to 6.70×10^{-3} mol/kg. The distribution constant (K_d) for the clay mineral samples, commercial toxin binders and bentonites were in the ranges 1.09×10^5 - 2.04×10^{11} , 2.38×10^5 - 4.26×10^5 and 2.33×10^5 - 2.84×10^5 , respectively. From the studies of temperature and pH effects, it was observed that most selected adsorbents provided higher adsorption capacity at lower temperature. It was implied that the interaction as physisorption occurred. However, for the group of effective adsorbents, the temperature slightly affected the adsorption capacities. This could be explained for chemisorption interactions that are stronger than physisorption interaction. Most adsorbents could be effectively sequestering aflatoxin from the solutions having pH of 5-7. In addition, it was found that the solution composition also effected on the adsorption capacity for aflatoxin. Adsorption capacities for aflatoxin from aqueous solution was significantly higher than those from buffer solution. This is due to the competition that the polar buffer species could be preferred on the polar surface of adsorbents to the slight polar aflatoxin. From physical and chemical studies of these adsorbents, it was found that the effective adsorbents classified as bentonite which mostly contained monmorillonite as major component. However, mineral impurities and elemental compositions had to be considered as suitable levels for the efficacy of the clays used as toxin binder. The sample S1 having the highest

maximum adsorption capacity was selected as a representative compared with COM1 for testing the efficacy of adsorbents in vivo.

Efficacy of bentonite (S1) found in Thailand on detoxification of aflatoxin in diet of meat duck was evaluated. Bentonite, S1 at 0.5% by weight was mixed to 60 and 120 μg AF/kg (ppb) contaminated diets. After 4 weeks of experiment, supplementation of the bentonite to the AF diets could diminished the adverse effects of AF on duck weight gain, blood indexes and health signs. Supplementation of bentonite to duck feed could reduce AF toxicity comparable to those of imported commercial adsorbent (Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate) did. These results indicate that supplementation of bentonite S1 can replace the commercial HSCAS in AF contaminated feed of the duck feed.

สารบัญ

	หน้า
Executive summary	i
บทคัดย่อ	iii
Abstract	v
สารบัญ	vii
สารบัญรูป	ix
สารบัญตาราง	xi
1 บทนำ	1
2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	2
3 การดำเนินงานวิจัย	2
3.1 การเตรียมเชื้อรา	2
3.2 การตรวจหาระดับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	2
3.3 การเตรียมตัวอย่างดิน	3
3.4 การเตรียมระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-Vis spectrophotometry	3
3.5 การเตรียมระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC	3
3.6 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	4
3.7 การศึกษาประสิทธิภาพและกลไกการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	4
3.8 การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	4
3.9 การวิเคราะห์ข้อมูลการดูดซับ	5
3.10 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารดูดซับบางชนิด	5
3.11 การศึกษาประสิทธิภาพสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในเปิดเนื้อ	5
4 ผลงานวิจัยที่ได้รับ การสรุปผลงานวิจัยและเอกสารอ้างอิง	7
4.1 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	7
4.2 การศึกษาประสิทธิภาพและกลไกการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	7
4.3 การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	17
4.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของสารดูดซับบางชนิด	22
4.5 การศึกษาประสิทธิภาพสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในเปิดเนื้อ	29
4.6 สรุปผลงานวิจัย	37
4.7 เอกสารอ้างอิง	39

	หน้า
5 Output ที่ได้จากโครงการ	42
6 กิจกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง	42
7 ปัญหาและอุปสรรค	43
8 ความเห็นและข้อเสนอแนะ	43

สารบัญรูป

รูป	หน้า
1 ความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินที่เวลาต่างๆ	8
2 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย Langmuir model	11
3 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย Generalized Freundlich model	11
4 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย modified Freundlich model	12
5 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย Langmuir-Freundlich model	12
6 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย Langmuir model	13
7 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย Generalized Freundlich model	13
8 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย modified Freundlich model	14
9 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย modified Freundlich model	14
10 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย Langmuir model	15
11 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย Generalized Freundlich model	15
12 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย modified Freundlich model	16
13 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย Langmuir-Freundlich model	16
14 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB ₁ ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25 °C	18
15 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB ₁ ในสารละลายน้ำ (pH 6.5) ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25, 37 และ 45 °C	20
16 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB ₁ ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.0 ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25, 37 และ 45 °C	21
17 ความสามารถในการดูดซับสารพิษ AFB ₁ ในน้ำและในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ pH 6.5 ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25 °C	22
18 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S1	26
19 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S6	26
20 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S8	27
21 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S9	27
22 EDX spectrogram ของเบนโทไนต์ BN1	28
23 EDX spectrogram ของสารดูดซับทางการค้า COM1	28
24 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อปริมาณอาหารที่เปิดกิน	30

รูป	หน้า
25 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น	31
26 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่ออัตราแลกเนื้อ	32
27 ลักษณะปกติของการเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าของเป็ดเนื้อ (ระดับที่ 1)	34
28 ความผิดปกติของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าของเป็ดเนื้อที่ได้รับ สารพิษอะฟลาท็อกซินระดับต่างๆ	35
29 ความผิดปกติของข้อขาของเป็ดเนื้อที่ได้รับสารพิษอะฟลาท็อกซิน	36
30 ความผิดปกติโลหิตจางที่พบบริเวณหัว ปาก และขาเปิดที่ได้รับ สารพิษอะฟลาท็อกซิน	36

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	Fitting characteristics ที่ได้จากการใช้สมการไอโซเทอร์มการดูดซับแบบต่างๆ	9
2	Fitting characteristics จากสมการ empirical Freundlich model	17
3	ค่า pH, conductivity และ CEC ของสารดูดซับบางชนิด	23
4	ปริมาณธาตุบางชนิดในสารดูดซับบางชนิด	24
5	สูตรอาหารเปิดเนื้อและคุณค่าทางโภชนาการจากการคำนวณองค์ประกอบโดยประมาณ	29
6	การเปรียบเทียบปริมาณอาหารที่เปิดกินต่อวัน ในแต่ละกลุ่มทดลอง	30
7	การเปรียบเทียบน้ำหนักเปิดที่เพิ่มขึ้นต่อวันในแต่ละกลุ่มทดลอง	31
8	การเปรียบเทียบอัตราแลกเนื้อของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง	32
9	การเปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริตของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง	33
10	การเปรียบเทียบค่าโกลบูลินของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง	33
11	การเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ตับของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง	34

1. บทนำ

สารพิษจากเชื้อราประกอบด้วยสารพิษหลายชนิด แต่สารพิษจากเชื้อราที่มีพิษร้ายแรงและก่อความเสียหายอย่างมากแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และอาหารสัตว์คือ สารพิษอะฟลาท็อกซิน (aflatoxins) ความรุนแรงของสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยทั่วไปขึ้นอยู่กับจำนวนและช่วงระยะเวลาที่สัตว์ได้รับสารพิษ ในสัตว์ที่ได้รับพิษขนาดสูง อาจจะทำให้สัตว์ตายภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง ส่วนสัตว์ที่ได้รับสารพิษขนาดต่ำ จะทำให้สัตว์กินอาหารน้อยลง ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลง อัตราการเติบโตต่ำ น้ำหนักลด และภูมิคุ้มกันต่ำ สัตว์อ่อนแอเกิดโรคได้ง่าย มีอัตราการตายเพิ่มขึ้น (Smith and Hamilton, 1970; Jantrarotai et al., 1990; Smith and Ross, 1991; Harvey et al., 1991b; Ostrowski-Meissner et al., 1995) และที่สำคัญคือ สารพิษอะฟลาท็อกซิน สามารถตกค้างในผลิตภัณฑ์สัตว์ (เนื้อ นม ไข่) ทำให้เกิดพิษภัยต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะการก่อโรคมะเร็งในคน (IARC, 1993)

ในปี 2544 ปริมาณอาหารสัตว์ที่คาดว่าจะใช้ในการผลิตสัตว์มีประมาณมากถึง 9,734,000 ตัน (ที่มา: สมาคมผู้ผลิตอาหารสัตว์ไทย) ดังนั้นการปนเปื้อนอะฟลาท็อกซินแม้เพียง 1% ก็สามารถก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาล ในปัจจุบันวิธีกำจัดสารพิษดังกล่าวมีหลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ ซึ่งมีประสิทธิภาพแตกต่างกันออกไป แต่วิธีที่ได้รับความนิยมและใช้กันมาก คือ วิธีการใช้สารดูดซับ (adsorption) เช่น ผงถ่าน (activated carbon) และ ดินเหนียว (clay) ชนิดต่างๆ เนื่องจากวิธีดังกล่าวมีประสิทธิภาพสูง ง่ายต่อการนำไปใช้ และมีราคาถูกกว่าเมื่อเทียบกับวิธีการอื่นๆ (Masimango et al., 1978; Decker, 1980; Doyle et al., 1982; Davidson et al., 1987; Kubena et al., 1987, 1988, 1990a, b, 1991, 1993a, b; Phillips et al., 1987, 1988, 1989, 1990, 1991, 1994, 1995; Harvey et al., 1989, 1991a, b, 1993, 1994; Smith et al., 1994)

ในปัจจุบันแม้ประเทศไทยได้มีการใช้สารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในเชิงการค้า (commercial adsorbents) ในท้องตลาดมากกว่า 30 ชนิดและมีมูลค่ารวมถึง 3,000 ล้านบาท (เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา; สัตวแพทยศาสตร์ศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 2, 2544) สารดูดซับแต่ละชนิดมีโครงสร้างและคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพแตกต่างกันไป ซึ่งประสิทธิภาพในการกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินของสารดูดซับมีประสิทธิภาพมากน้อยแตกต่างกัน (Pimpukdee, 2000; Pimpukdee et al., 2000) แต่อย่างไรก็ตามก็ยังไม่มีการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยในการใช้สารดังกล่าวอย่างเข้มงวด ซึ่งการใช้สารดูดซับที่ด้อยประสิทธิภาพ นอกจากจะทำให้เกิดการสิ้นเปลืองโดยไม่จำเป็นแล้ว สารดังกล่าวยังอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อสัตว์หรือไปเพิ่มความเป็นพิษของอะฟลาท็อกซิน (Mayura et al, 1998) ซึ่งผลที่ตามมาทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่อ

อุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ อุตสาหกรรมอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์เพื่อการส่งออกของประเทศ รวมทั้งจากการที่สารดูดซับส่วนมากต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ทำให้แต่ละปีประเทศชาติต้องสูญเสียเงินตราเป็นจำนวนมาก จากข้อมูลและปัญหาดังกล่าวในช่วงต้นโครงการวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาทดสอบประสิทธิภาพสารดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินจากแหล่งแร่ดิน (clay mineral) ต่างๆ ในประเทศไทย ตามที่ได้เคยมีรายงานถึงองค์ประกอบและชนิดของดินในเขตพื้นที่ต่างๆ ของไทย (Yoothong et al., 1997) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการแสวงหาสารดูดซับที่มีประสิทธิภาพสูงภายในประเทศ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศ และเพื่อแก้ปัญหาการปนเปื้อนและตกค้างของสารพิษอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์สัตว์ รวมถึงในห่วงโซ่อาหาร

2. วัตถุประสงค์

- 2.1 เพื่อทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินจากแหล่งแร่ดินต่างๆ ในประเทศไทย
- 2.2 เพื่อศึกษาขอบเขตในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินของสารดูดซับประสิทธิภาพสูงที่ได้จากแหล่งแร่ดินต่างๆ ของไทย
- 2.3 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษประสิทธิภาพสูงที่ได้จากแหล่งแร่ดินในไทยกับสารดูดซับสารพิษที่นำเข้าจากต่างประเทศแบบ In vitro โดยวิธีไอโซเทอร์ม
- 2.4 เพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารดูดซับที่ศึกษาในข้อ 2.3 โดยนำมาทดสอบการปกป้องพิษอะฟลาทอกซินแบบ In vivo ในเป็ดเนื้อ (bioassay)

3. การดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมเชื้อรา

นำเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* strain NRRL 2999 มาเพาะในข้าวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อและบ่มเพาะที่อุณหภูมิ 21 และ 27 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน นำตัวอย่างเชื้อราที่ได้มาอบให้แห้ง เก็บในภาชนะปิดรอการตรวจหาระดับสารพิษ

3.2 การตรวจหาระดับสารพิษอะฟลาทอกซิน

เขย่าตัวอย่างเชื้อราที่เพาะได้ในสารผสมที่มีสัดส่วนคลอโรฟอร์ม 100 มิลลิลิตร ซีไลท์ 10 กรัม และน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นาน 30 นาที กรองเอาเฉพาะส่วนใสไปผ่านคอลัมน์ที่บรรจุด้วยโฟลรีซิล ชะล้างสิ่งปนเปื้อนที่เกาะในคอลัมน์ด้วยคลอโรฟอร์มและเมทานอล จากนั้นทำการชะเอาอะฟลาทอกซินออกด้วยสารละลายอะซิโตนในน้ำ (98:2) นำของเหลวจากการชะล้างครั้งสุดท้ายไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงจากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 362 นาโนเมตร และวัดหาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง (HPLC) ที่มีสารชะผ่านเป็นของผสมระหว่างน้ำ อะซีโตไนไตรล์ และเมทานอล ในอัตราส่วนปริมาตร 55.0:22.5:22.5 ใช้อัตราไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที ซึ่งทำการตรวจวัดด้วยเครื่องยูวีที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร หาความเข้มข้นในสารละลายโดยเทียบพื้นที่ใต้กราฟของสารตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน

3.3 การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินมาคัดขนาดขังดินแห้งก่อนแช่น้ำ และชั้นแรกใช้ตะแกรงขนาด 30 mesh เพื่อแยกกรวดและทรายออกก่อน จากนั้นใช้ตะแกรงเบอร์ 325 mesh ทำการร่อนแยกอนุภาคดินที่มีขนาด +325 mesh ส่วนดินกับน้ำที่ผ่าน 325 mesh ถูกอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 110 °C แล้วนำมาบดละเอียดด้วยเครื่อง และเก็บในภาชนะปิดรอการศึกษาทดลองต่อไป ตัวอย่างดินที่ใช้ศึกษามาจากแหล่งต่างๆ 14 ตัวอย่าง

3.4 การเตรียมระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค UV-Vis Spectrophotometry

1. เตรียมชุดสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซิน ปี 1 จากสารพิษอะฟลาทอกซินมาตรฐาน (Sigma, USA) ที่ความเข้มข้นต่างๆ จาก 0.00-8.00 พีพีเอ็ม
2. ตั้งค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 362 นาโนเมตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของชุดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง
3. เปรียบหาความเข้มข้นของสารละลายอะฟลาทอกซินจากกราฟมาตรฐาน ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืนแสง

3.5 การเตรียมระบบการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

1. เตรียมสารละลายอะฟลาทอกซินมาตรฐาน ในเมทานอล 4 ความเข้มข้น จากสารพิษอะฟลาทอกซินมาตรฐาน (Sigma, USA) ที่มีอะฟลาทอกซิน ปี1 0.989 +/- 0.007 พีพีเอ็ม อะฟลาทอกซิน ปี2 0.307 +/- 0.004 พีพีเอ็ม อะฟลาทอกซิน จี1 1.043 +/- 0.014 พีพีเอ็ม และ อะฟลาทอกซิน จี2 0.319 +/- 0.013 พีพีเอ็ม
2. เตรียมสารชะผ่านที่มีสัดส่วนน้ำ 55% เมทานอล 22.5% และอะซีโตไนไตรล์ 22.5%
3. ปรับให้สารชะผ่านมีอัตราไหล 0.80 มิลลิลิตรต่อนาที ผ่านคอลัมน์ C-18 phenomenex ขนาด 4.6 มิลลิเมตร x 15 มิลลิเมตร, 5ไมโครเมตร)
4. ตั้งค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร วัดพื้นที่ใต้พีคที่ปรากฏบนโครมาโทแกรมที่เวลาประมาณ 9 นาที

3.6 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

ใช้สารพิษอะฟลาท็อกซินปี 1 ความเข้มข้น 5.00 พีพีเอ็ม ปริมาณ 4.00 มิลลิลิตร ผสมกับสารดูดซับ 0.0100 กรัม เชย่า 200 รอบต่อนาที ที่ 25 °C เป็นระยะเวลา 0.5, 1, 2, 4, 8, 16, 24 และ 32 ชั่วโมง หลังจากนั้นปั่นแยกสารที่ 16,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำของเหลวส่วนที่ใสมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 362 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.7 การศึกษาประสิทธิภาพและกลไกการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

นำสารดูดซับจากแหล่งแร่ดินต่างๆ ในประเทศไทยจำนวน 18 ตัวอย่าง (S1-S18) และสารดูดซับที่จำหน่ายในเชิงพาณิชย์ 4 ชนิด (COM1-COM4) และเบนโทไนด์อีก 3 ชนิด (BN1-BN3) มาทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยแต่ละตัวอย่างนำมาจำนวน 0.0100 กรัม นำมาทดสอบการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินปี 1 ในสารละลายจำนวน 4.00 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0, 6.5 และ 8.0 มิลลิกรัม/ลิตร ที่เตรียมในน้ำ Milli-Q ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยผสมกันในหลอดทดลองแล้วนำไปเชย่าด้วยเครื่องเชย่าไฟฟ้าที่อัตรา 200 รอบต่อนาที ที่เวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้อยู่ในสภาพสมดุล จากนั้นนำไปปั่นแยกที่ 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นดูดเอาสารละลายใสออก นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ถูกดูดซับโดยสารดูดซับด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ในการทดลองมีการทำชุดควบคุมที่สภาวะเดียวกันกับตัวอย่างเพื่อหาปริมาณการดูดซับที่ถูกต้องของสารดูดซับแต่ละชนิด จากนั้นทำวิเคราะห์ข้อมูลหาปริมาณการดูดซับของสารแต่ละชนิด

การศึกษากลไกและกระบวนการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินโดยวิธีไอโซเทอร์ม โดยนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์โดยสมการไอโซเทอร์ม (isotherm equations) กับโปรแกรม 2D Table curve V3 เพื่อคาดคะเนปริมาณการดูดซับสูงสุดที่สารดูดซับแต่ละชนิดจับกับสารพิษอะฟลาท็อกซิน (maximum capacity) และการจับกับสารดังกล่าวมีความแข็งแรงมากน้อยเพียงใด (affinity) ในงานวิจัยนี้ได้เปรียบเทียบกับสารดูดซับทางการค้า 4 ชนิด และเบนโทไนด์ อีก 3 ตัวอย่าง ในส่วนของการศึกษาไอโซเทอร์มนี้อาจรวมเป็นทั้งหมด 25 ตัวอย่าง ผลที่ได้จะถูกนำไปคาดคะเนถึงประสิทธิภาพของสารดูดซับว่าจะมีประสิทธิภาพเพียงใด อันจะนำไปสู่การยืนยันถึงประสิทธิภาพของสารดูดซับในการกำจัดสารพิษอะฟลาท็อกซินในเบ็ดเนื้อ

3.8 การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลปัจจัยต่างๆเช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส (pH) และองค์ประกอบของสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีต่อความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน โดยใช้อัตราส่วนของสารดูดซับต่อปริมาตรสารละลาย สภาวะของการเชย่าและการแยก

สารละลายไลออกจากสารดูดซับเช่นเดียวกับที่ใช้ในการศึกษาไอโซเทอร์มของการดูดซับ ในการศึกษาผลของอุณหภูมิ ทำการทดลองที่ 25, 37 และ 45 °C ส่วนการศึกษาผลของความเป็นกรด-เบส ในช่วง pH 3.0-7.0 ได้ทำการเตรียมสารละลายที่ออกซินในฟอสเฟตหรืออะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 M นอกจากนั้นได้ทำการศึกษาผลขององค์ประกอบของสารละลายโดยการเปรียบเทียบคุณลักษณะของการดูดซับที่ pH 6.5 เมื่อสารละลายอยู่ในน้ำและอยู่ในบัฟเฟอร์

3.9 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลผลการทดลองจากห้องปฏิบัติการมาวิเคราะห์โดยโปรแกรม Microsoft Excel และ 2D Table curve V3 เพื่อหาคุณลักษณะการดูดซับสารพิษของสารแต่ละชนิดโดยพิจารณาค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อทำการ fit curves โดยใช้สมการไอโซเทอร์มการดูดซับแบบต่างๆ

3.10 การศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารดูดซับบางชนิด

ทำการตรวจวัดสมบัติความเป็นกรด-เบสและค่าการนำไฟฟ้าในน้ำของสารดูดซับชนิดต่างๆ และทำการวิเคราะห์หาค่าความจุในการแลกเปลี่ยนไอออนบวก รวมทั้งปริมาณของธาตุหลักที่มีในสารดูดซับที่สนใจโดยเทคนิค Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) ประกอบกับการวิเคราะห์องค์ประกอบของแร่ในสารดูดซับโดยเทคนิค X-ray diffraction spectrometry (XRD)

3.11 การศึกษาประสิทธิภาพสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินในเปิดเนื้อ

3.11.1 สัตว์ทดลอง

เปิดเนื้อพันธุ์เซอวีวัลเลย์คละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 315 ตัว

3.11.2 แผนการทดลอง

ศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ที่มีจำนวน 7 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว ลูกเปิดแต่ละกลุ่มได้รับปัจจัยการทดลอง ดังนี้

กลุ่มที่ 1 อาหารพื้นฐานไม่เสริมสารดูดซับสารพิษ (กลุ่มควบคุมลบ, Negative control)

กลุ่มที่ 2 อาหารพื้นฐานผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน 60 พีพีเอ็ม

กลุ่มที่ 3 อาหารพื้นฐานผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน 120 พีพีเอ็ม

กลุ่มที่ 4 อาหารพื้นฐานผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน 60 พีพีเอ็มและเสริมสารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (ดิน S1) 0.25% โดยน้ำหนัก

กลุ่มที่ 5 อาหารพื้นฐานผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน 120 พีพีเอ็มและเสริมสารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (ดิน S1) 0.50% โดยน้ำหนัก

กลุ่มที่ 6 อาหารพื้นฐานผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน 60 พีพีเอ็มและเสริมสารดูดซับสารพิษจากบริษัทเอกชน (NovasilPlus[®], Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate) 0.25% โดยน้ำหนัก

กลุ่มที่ 7 อาหารพื้นฐานผสมอะฟลาท็อกซิน 120 พีพีเอ็มและเสริมสารดูดซับสารพิษจากบริษัทเอกชน COM1 (NovasilPlus[®], Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate) 0.50% โดยน้ำหนัก

3.11.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.11.3.1 ชั่งน้ำหนักลูกเปิด สุ่มเปิดเข้ากับกลุ่มทดลอง รวม 7 กลุ่มๆ ละ 3 ซ้ำๆ ละ 15 ตัว เลี้ยงเปิดบนพื้นคอกปูด้วยแกลบ กกลูกเปิดโดยใช้หลอดไฟเพื่อให้ความอบอุ่น ในแต่ละกลุ่มจะได้รับอาหารที่มีระดับโปรตีน 23% พลังงาน 3,000 kcal/kg แคลเซียม 1.01% และโปแตสเซียม 0.42% นาน 1 เดือน เปิดได้รับอาหารแบบกินเต็มที่ (ad libitum) และมีน้ำสะอาดให้กินตลอดเวลา อาหารทุกสูตรปรับให้มีคุณค่าทางอาหารให้เท่ากัน

3.11.3.2 เมื่อเปิดอายุ 1 เดือน ทำการอดอาหารเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 6 ชั่วโมง ทำการสุ่มเปิดเนื้อคอกละ 6 ตัว มาชั่งน้ำหนักและเจาะเก็บเลือด

3.11.4 การเก็บข้อมูล

บันทึกน้ำหนักเริ่มต้นของสัตว์ทดลอง น้ำหนักทุกสัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำน้ำหนักตัวที่เพิ่ม อัตราการแลกเนื้อ ดังสมการ

$$\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่ม} = \text{น้ำหนักตัวที่ชั่ง} - \text{น้ำหนักตัวเริ่มต้น} \quad (\text{กรัม/ตัว/วัน})$$

$$\text{ปริมาณการกินได้ (FI)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กินในแต่ละคอก}}{\text{จำนวนตัวเปิดที่มีชีวิต}} \quad (\text{กรัม/ตัว})$$

$$\text{อัตราการแลกเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น}}$$

บันทึกผลการตรวจค่าเอนไซม์ของฮีมาโตคริต โกลบูลินและเอนไซม์ดับ (alanine amino transferase, ALT) โดยเทคนิคชีวเคมี (Biochemical techniques) ซึ่งตรวจวัดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

บันทึกความผิดปกติที่ตรวจพบในตัวเปิดจากสารพิษอะฟลาท็อกซิน โดยเฉพาะการเจริญของขนปีก (feather growth) การโค้งงอของข้อขา (cowboy joint) โลหิตจาง (anemia) ตามผิวหนังเยื่อเมือก รวมทั้งการตกเลือด (hemorrhage) และการเกิดแผลหลุม (ulcer) ที่พังผืดฝ่าเท้า

3.11.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variances, ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบ CRD และวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยในแต่ละปัจจัยการทดลองด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยโปรแกรม Statistical Analysis System (SAS, 1985)

4. ผลงานวิจัยที่ได้รับ การสรุปผลงานวิจัยและเอกสารอ้างอิง

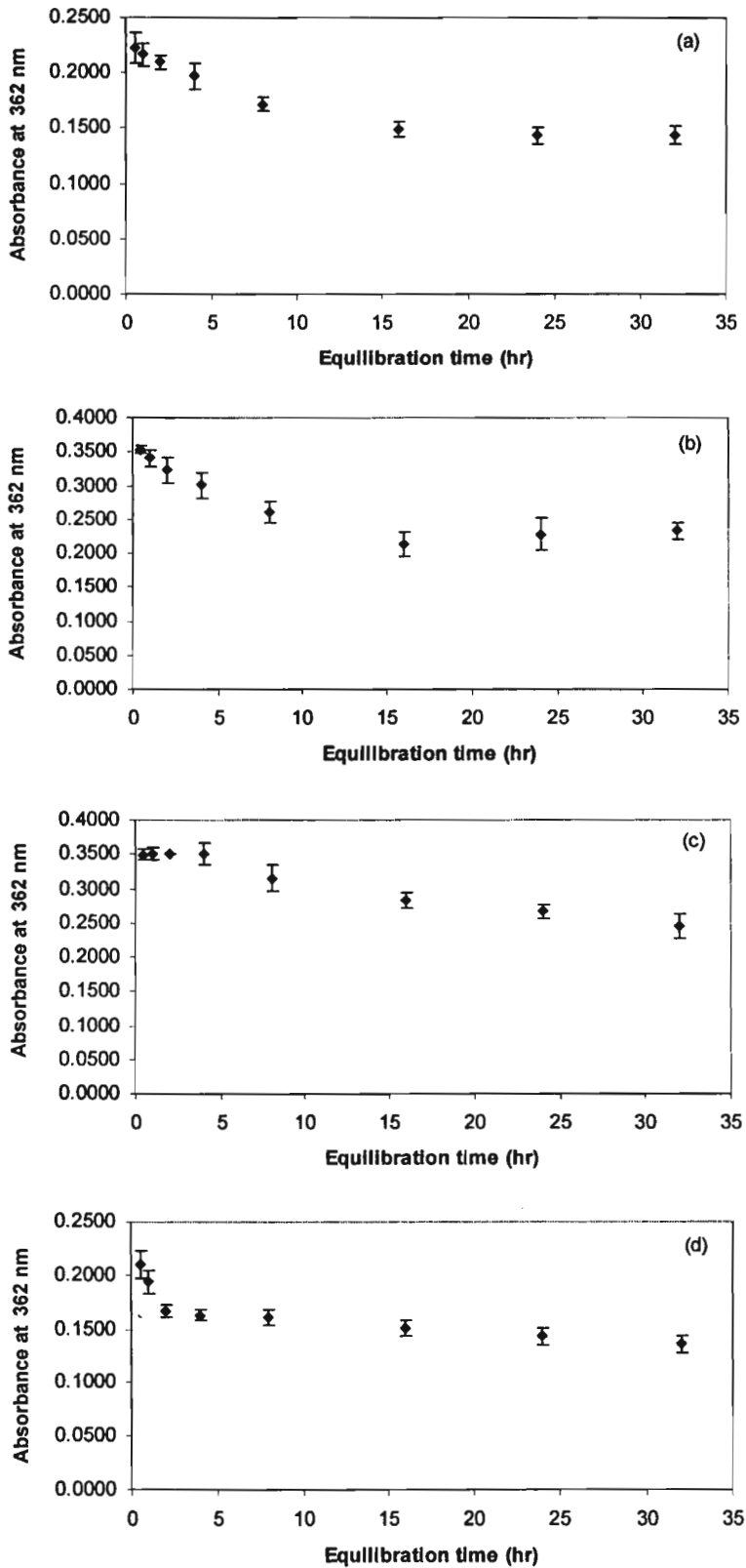
4.1 การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

จากการศึกษาที่ใช้ตัวอย่างดินบางชนิดและสารดูดซับสารพิษทางการค้าบางชนิดพบว่า เมื่อเวลาการดูดซับมากขึ้น จาก 0.5 ถึง 32 ชั่วโมง อัตราการดูดซับสารพิษซึ่งพิจารณาจากอัตราการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงและความสามารถในการดูดซับซึ่งพิจารณาจากปริมาณที่ลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารดูดซับที่เลือกมาศึกษาจะแตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 1 (a)-(d) อัตราการดูดซับจะลดลงอย่างมากหลัง 12 ชั่วโมง แต่มีสารดูดซับสารพิษทางการค้าบางชนิด (COM1) ที่ดูดซับได้อย่างมากในเวลาอันสั้น สำหรับดินตัวอย่าง S1 จะดูดซับสารพิษได้ปริมาณมากและรวดเร็วกว่าดินตัวอย่างอื่น (S3 และ S5) ดังนั้นในการศึกษาเกี่ยวกับคุณลักษณะของไอโซเทอร์มการดูดซับจึงทำการทดลองโดยใช้เวลาในการดูดซับที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่สารดูดซับส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยในค่าความสามารถในการดูดซับสารพิษ

๕

4.2 การศึกษาประสิทธิภาพและกลไกการดูดซับอะฟลาท็อกซิน

สารดูดซับเหล่านี้สามารถจับแยกสารพิษอะฟลาท็อกซิน บี 1 ออกจากสารละลายได้ โดยไอโซเทอร์มการดูดซับส่วนใหญ่เป็นแบบรูปตัวเอส ข้อมูลการทดลองนำมาประยุกต์กับสมการการดูดซับโดยใช้โปรแกรม 2D Table curve V3 เพื่อหาคุณลักษณะการดูดซับสารพิษของสารแต่ละชนิดโดยพิจารณาค่าความแตกต่างทางสถิติเมื่อทำการ fit ข้อมูลการดูดซับโดยใช้สมการ Langmuir model, LM ($q = Q_{\max}[(K_d C_e)/(1 + K_d C_e)]$), generalized Freundlich model, GFM ($q = Q_{\max}[(K_d C_e)/(1 + K_d C_e)]^n$) และ เทียบกับของ modified Freundlich model, MFM ($q = Q_{\max} [K_d C_e]^n$) และ Langmuir-Freundlich model, LFM ($q = Q_{\max}[(K_d C_e)/(1 + K_d C_e)]^n$)



รูป 1 ความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินที่เวลาต่างๆ ของดินตัวอย่าง (a) S1, (b) S3, (c) S5 และของสารดูดซับทางการค้า (d) COM1

ตารางที่ 1 Fitting characteristics ที่ได้จากการใช้สมการไอโซเทอรั่มการดูดซับแบบแบบต่างๆ

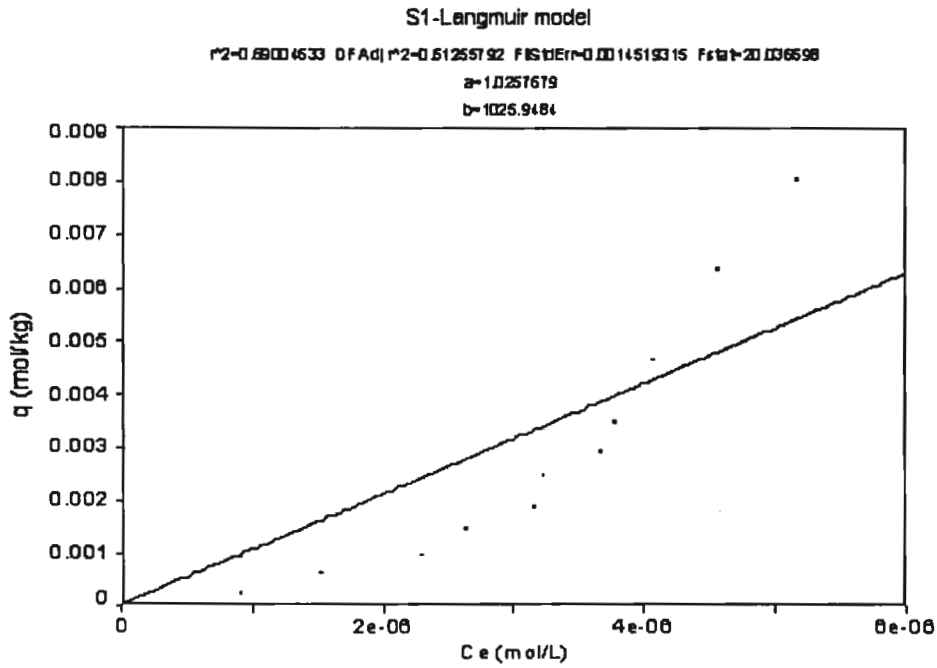
Adsorbent	R ² ของ Fitting Model				Fitting Characteristics ^a		
	LM	GFM	MFM	LFM	Q _{max}	K _d	n
BN1	0.69209	0.97696	0.97903	0.97857	4.52E-03	2.52E+05	2.82
BN2	0.60207	0.93012	0.93621	0.93548	2.80E-03	2.84E+05	3.95
BN3	0.84760	0.96401	0.88581	0.98288	6.70E-03	2.33E+05	3.74
COM1	0.58865	0.98475	0.96648	0.98654	1.27E-02	2.81E+05	4.55
COM2	0.58123	0.93249	0.93575	NA ^b	1.09E-03	4.26E+05	3.34
COM3	0.61409	0.98722	0.98803	0.98785	1.11E-03	3.04E+05	3.15
COM4	0.69948	0.90944	0.89760	0.94387	8.56E-03	2.38E+05	7.27
S1	0.69005	0.98892	0.98905	0.98939	4.49E-02	1.17E+05	3.00
S2	0.63963	0.98832	0.98864	0.98857	4.68E-03	2.31E+05	2.97
S3	0.93847	0.98246	0.98369	0.98293	1.64E-03	2.90E+05	1.32
S4	0.87867	0.97142	0.97249	0.97235	1.66E-03	2.15E+05	1.56
S5	0.96311	0.99022	0.96626	0.98757	1.04E-02	1.27E+06	8.46
S6	0.89882	0.96878	0.97004	0.96977	3.18E-03	2.54E+05	1.47
S7	0.91695	0.96869	0.96719	0.96780	2.91E-02	1.20E+05	2.07
S8	0.67158	0.98983	0.98963	0.99065	2.59E-02	1.51E+05	3.45
S9	0.55549	0.90655	0.86450	0.99069	9.00E-03	4.08E+05	9.55
S10	0.77967	0.97021	0.97383	0.97303	9.61E-04	2.98E+05	2.09
S11	0.74603	0.84297	0.84637	0.84506	1.34E-03	4.79E+05	1.82
S12	0.84396	0.95193	0.95424	0.95331	1.15E-03	6.70E+07	1.66
S13	0.94328	0.95163	0.94789	0.95146	1.42E-02	6.64E+04	1.64
S14	0.66661	0.80130	0.80178	0.87860	5.52E-03	1.31E+05	10.09
S15	0.78066	0.97719	0.94873	0.98004	7.79E-03	1.31E+05	3.44
S16	0.87667	0.94835	0.89407	0.98137	3.44E-03	1.20E+05	4.16
S17	0.86248	0.99501	0.96662	0.99281	1.95E-02	2.04E+11	1.12E+06
S18	0.90774	0.95893	0.90057	0.98089	7.95E-04	1.09E+05	3.69

^a Fitting characteristics จากสมการที่มีค่า r² สูงสุด: Q_{max} = the maximum adsorption capacity (mol/kg), K_d = the distribution coefficient, และ n = the heterogeneity factor

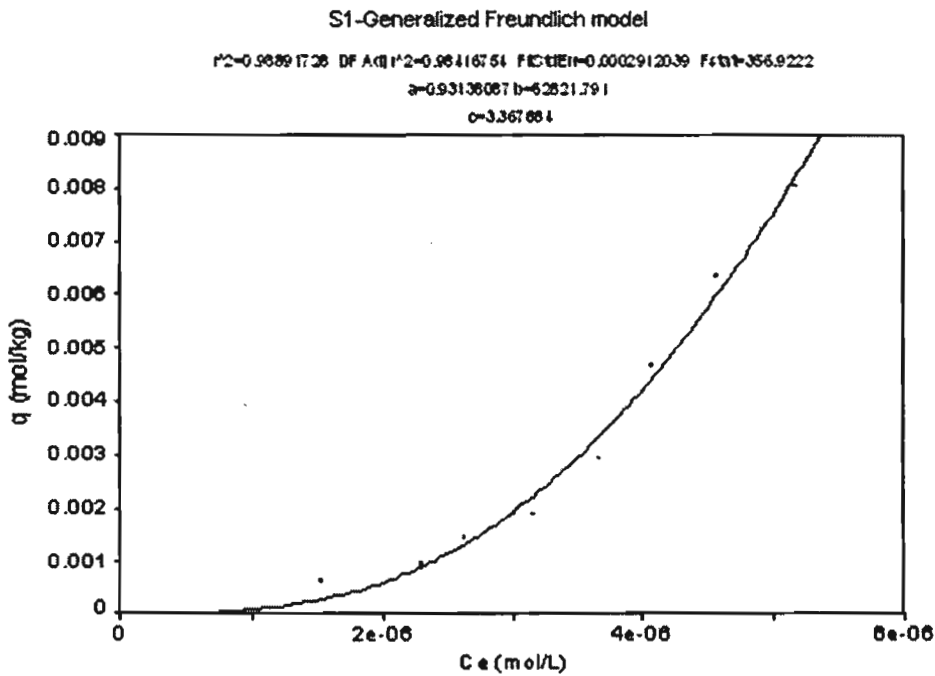
^b Not fit at all

จากตารางที่ 1 ตัวอย่าง BN1-BN3 คือ สารเบนโทไนต์ ตัวอย่าง COM1-COM4 คือ สารดูดซับสารพิษทางการค้า ส่วน S1-S18 คือตัวอย่างดินจากแหล่งต่างๆในประเทศไทยที่เลือกมาศึกษาพบว่าคุณสมบัติในการดูดซับที่ 25 °C นั้น fit ได้ไม่ดีกับสมการของ Langmuir ที่ใช้อธิบายการดูดซับแบบเต็มผิวชั้นเดียวบนตัวดูดซับ (monolayer adsorption) โดยพิจารณาจากค่า correlation coefficient (R^2) ของแต่ละสมการไอโซเทอรัม พบว่าค่า R^2 ของ Langmuir model มีค่าต่ำสุดสำหรับแต่ละสารดูดซับ โดยอยู่ในช่วง 0.55549-0.96311

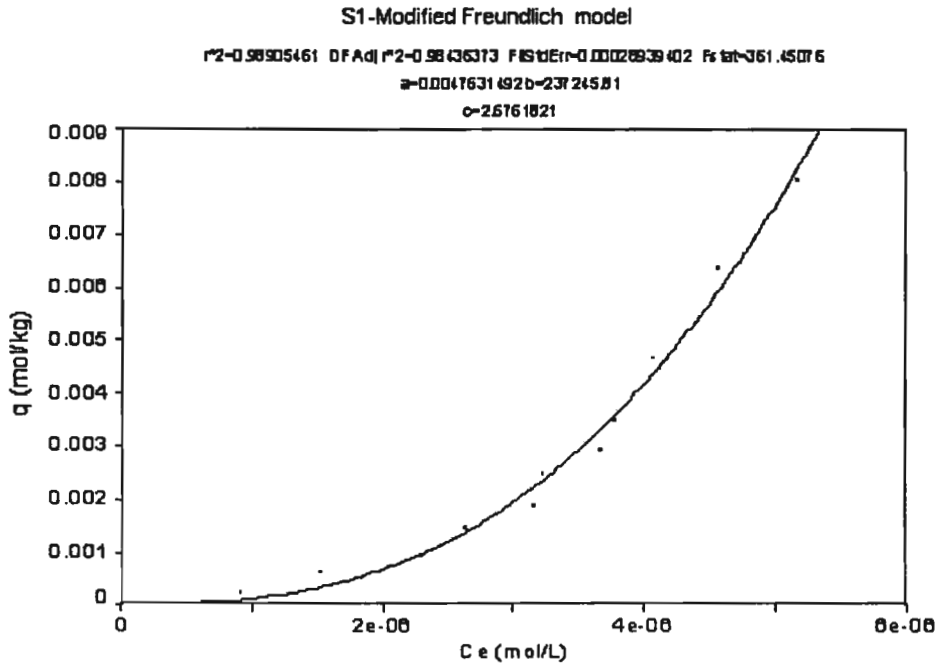
สำหรับสมการที่ใช้ได้กับตัวดูดซับของแข็งผิวผสม คือ GFM, LFM และ MFM พบว่าการดูดซับของสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 นั้น fit ได้ดีกับสมการ MFM เป็นส่วนใหญ่ โดยค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.80178-0.98905 และมีสารอีกหลายชนิดที่ข้อมูลการดูดซับ fit ได้ดีกับสมการ LFM ดังนั้นเมื่อพิจารณาคุณลักษณะของการดูดซับจากสมการที่ให้ R^2 สูงสุดสำหรับแต่ละสารดูดซับ ความสามารถในการดูดซับ (Q_{max}) อะฟลาทอกซิน บี 1 มีค่าตั้งแต่ 7.95×10^{-4} โมล/กิโลกรัม ถึง 4.49×10^{-2} โมล/กิโลกรัม ซึ่งตัวอย่างดินที่นำมาศึกษาในชุดนี้พบว่า ดินจากชัยบาดาล ลพบุรี (S1) ที่ข้อมูลการดูดซับ fit ได้ดีกับสมการ LFM ให้ค่าความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินดีที่สุด ($Q_{max} = 4.49 \times 10^{-2}$ โมล/กิโลกรัม) ส่วนค่าคงที่การแยกแ่ง (K_d) จะแตกต่างกันโดยมีค่าตั้งแต่ 6.64×10^4 ถึง 2.04×10^{11} และค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสม (n) มีค่าตั้งแต่ 1.32 ถึง 1.12×10^6 แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากการดูดซับไม่สามารถอธิบายได้ว่าเป็นการดูดซับแบบชั้นเดียว การพิจารณาสมบัติการดูดซับต้องคำนึงถึงค่าคงที่การแยกแ่งและค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสมด้วย เมื่อพิจารณาสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1-COM4) พบว่าไอโซเทอรัมการดูดซับของสารส่วนใหญ่มีค่า R^2 ต่ำกว่าดินตัวอย่าง S1 และมีค่าความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินต่ำกว่า S1 แต่จะมีค่าคงที่การแยกแ่งและค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสมสูงกว่า เมื่อพิจารณาจากสมการไอโซเทอรัมค่าการดูดซับ (q) จะเพิ่มอย่างรวดเร็วเมื่อ K_d และ n มีค่ามาก ส่วนกลุ่มของเบนโทไนต์ (BN1-BN3) ที่ได้จากแหล่งต่างกันจะมีค่าความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินต่ำกว่า S1 มีค่าคงที่การแยกแ่งและค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสมสูงกว่า S1 ยกเว้น BN1 ที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสมต่ำกว่า S1 เล็กน้อย ตัวอย่างของกราฟจากการใช้โปรแกรม 2D Table Curve กับข้อมูลของตัวอย่างดินจากอำเภอชัยบาดาล จังหวัดลพบุรี (S1) เป็นดังรูป 2-5 ของสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1)เป็นดังรูป 6-9 และของ BN1 เป็นดังรูป 10-13 ตามลำดับ



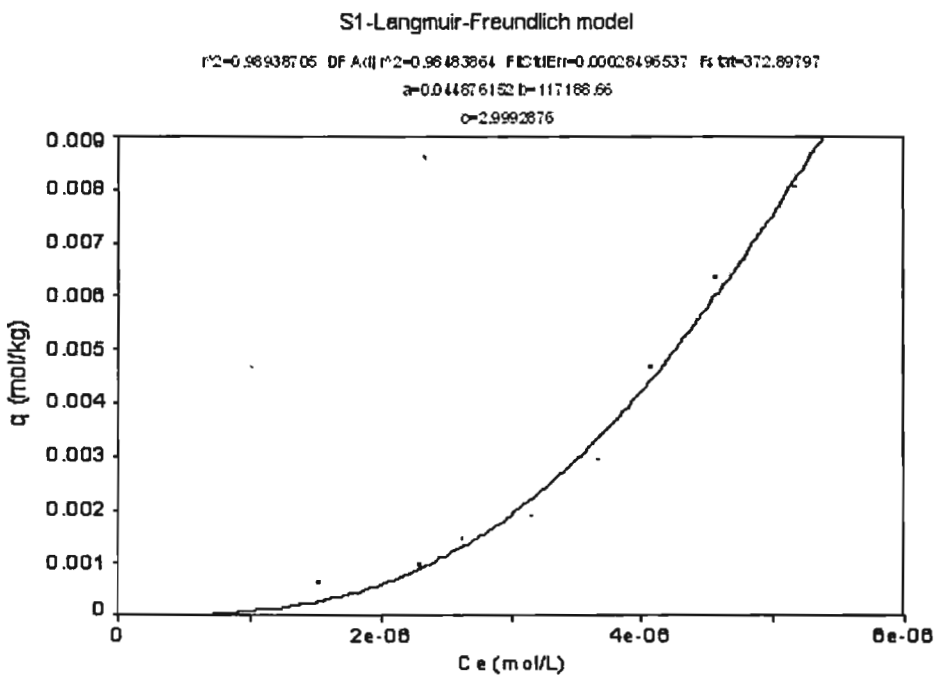
รูป 2 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย Langmuir model



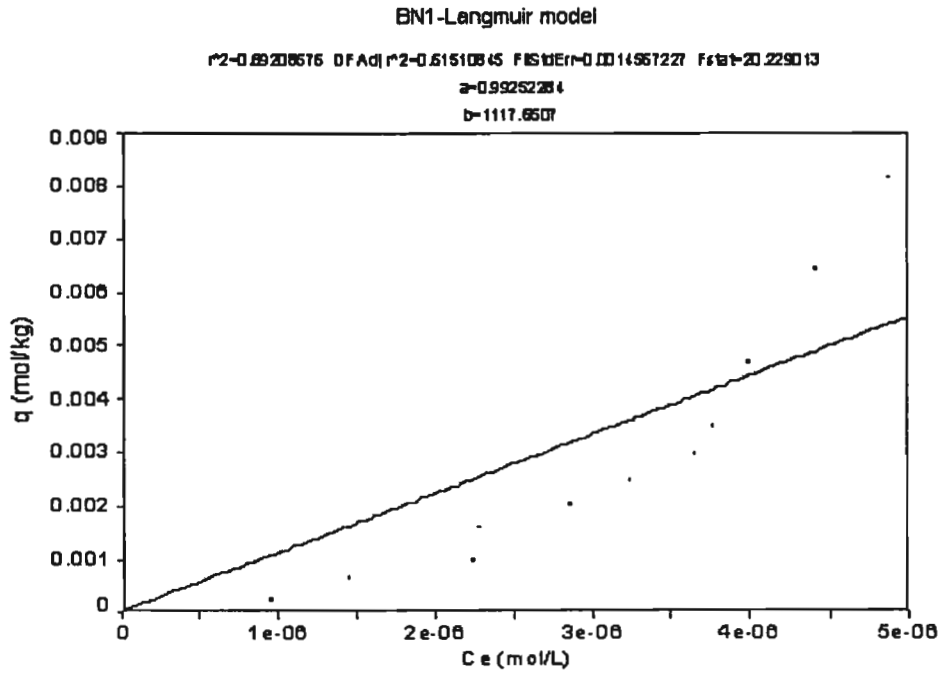
รูป 3 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย generalized Freundlich model



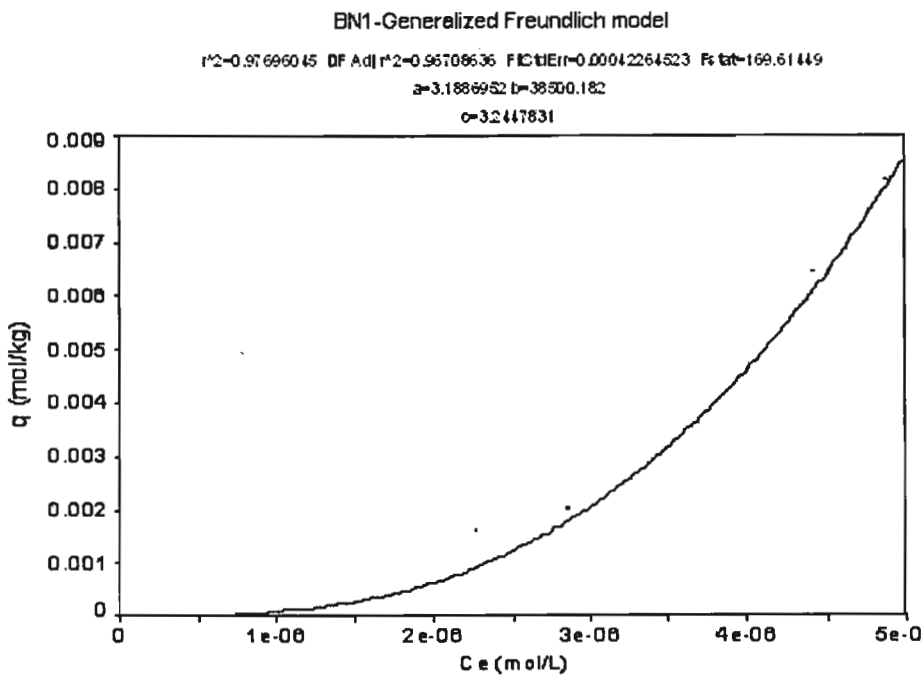
รูป 4 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย modified Freundlich model



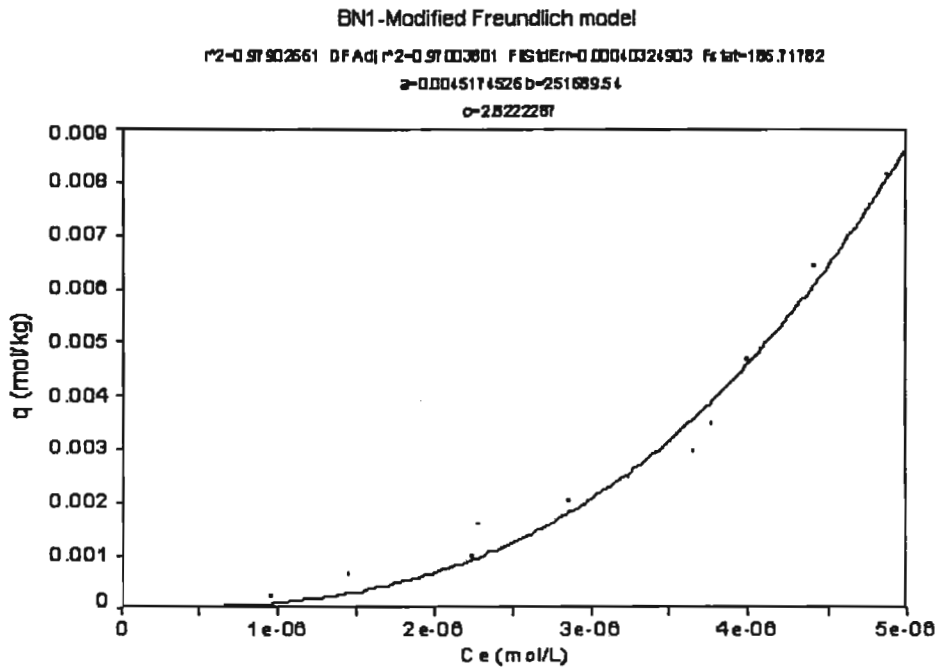
รูป 5 การพล็อตข้อมูลของ S1 โดย Langmuir-Freundlich model



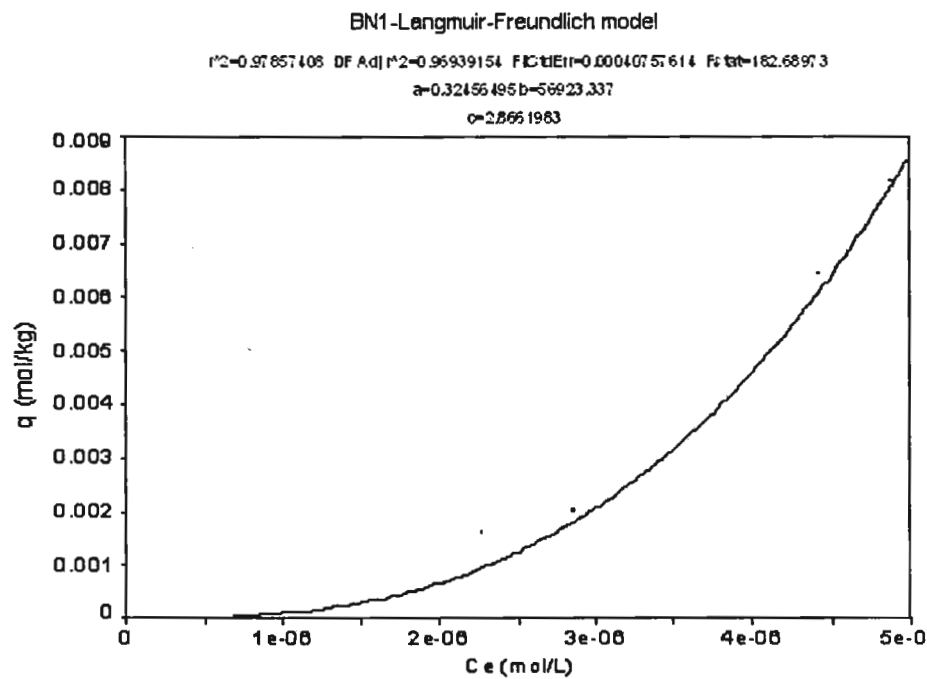
รูป 6 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย Langmuir model



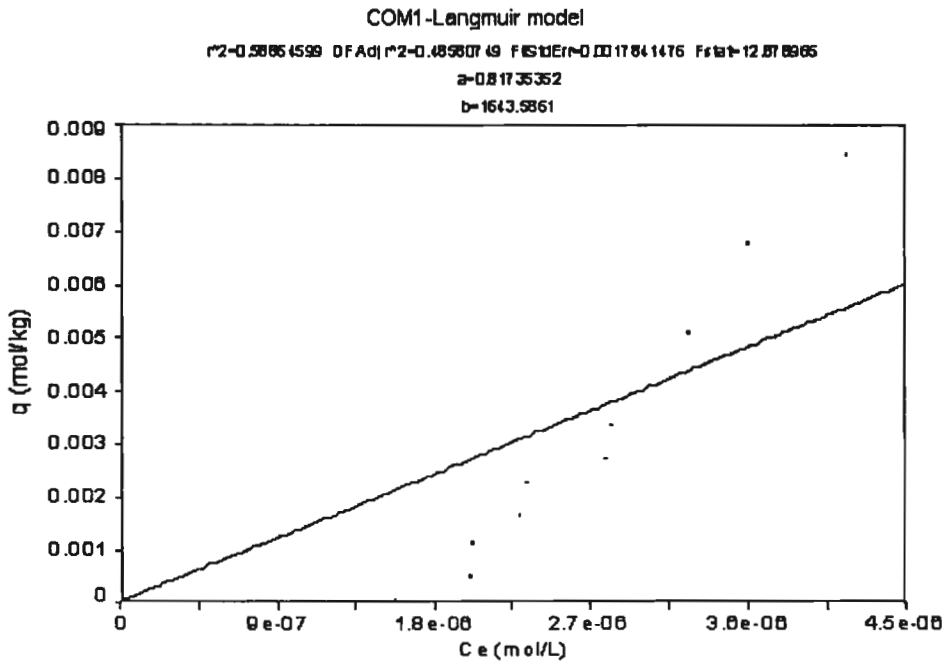
รูป 7 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย generalized Freundlich model



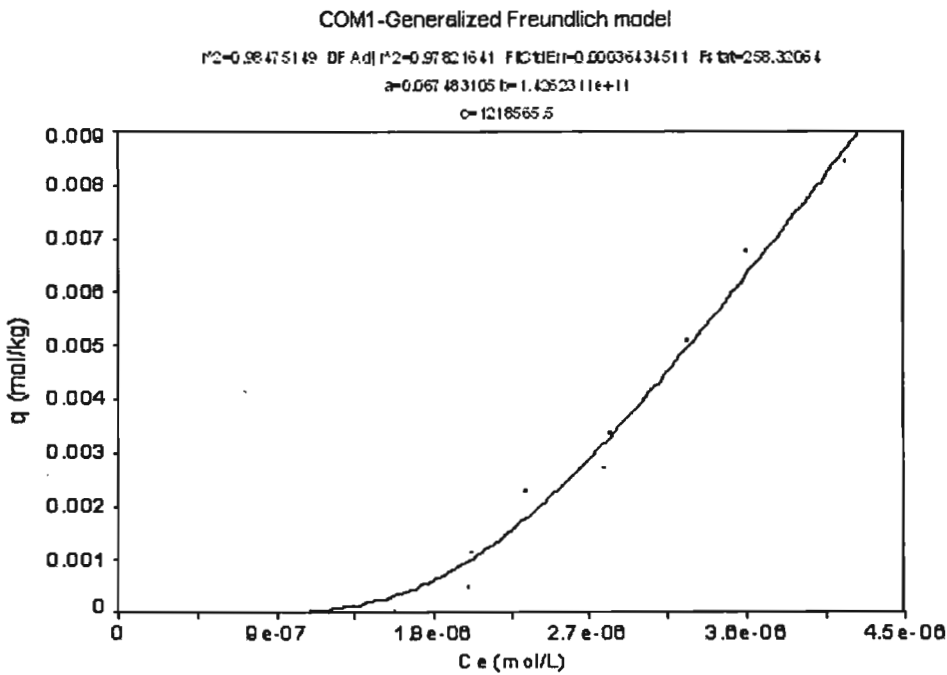
รูป 8 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย modified Freundlich model



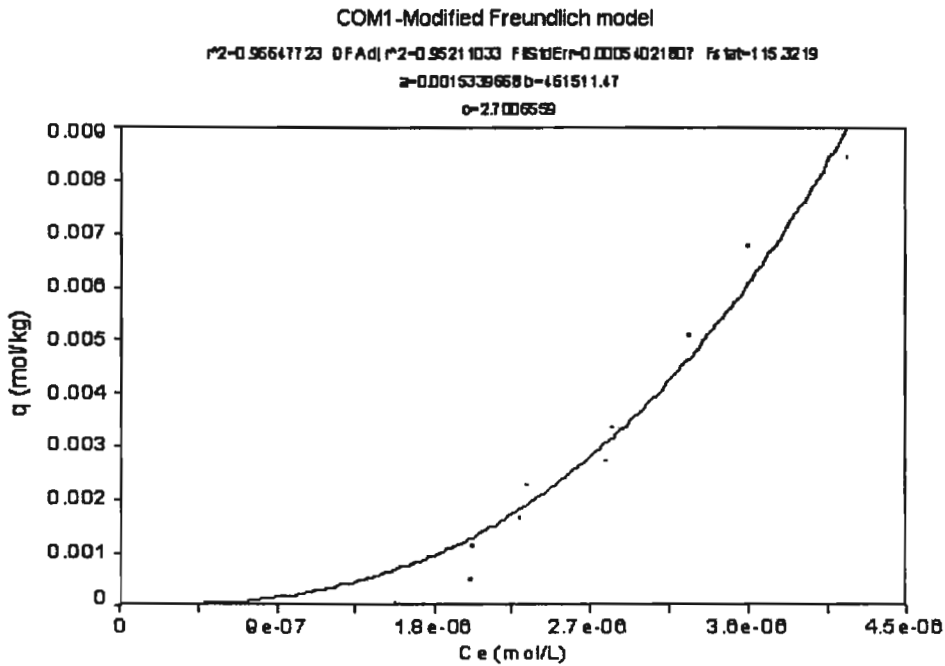
รูป 9 การพล็อตข้อมูลของ BN1 โดย modified Freundlich model



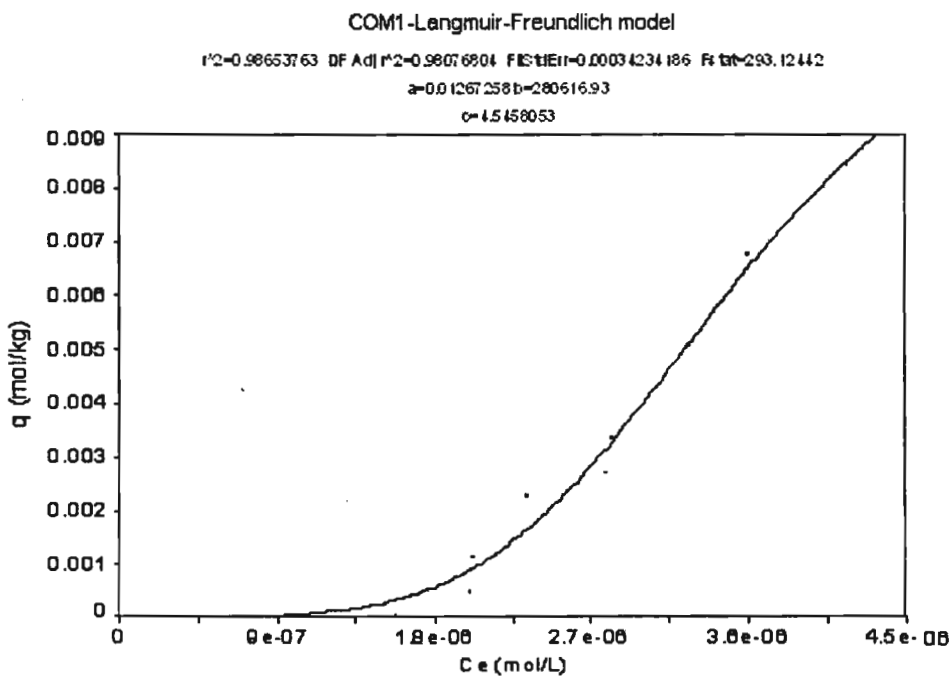
รูป 10 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย Langmuir model



รูป 11 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย generalized Freundlich model



รูป 12 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย modified Freundlich model



รูป 13 การพล็อตข้อมูลของ COM1 โดย Langmuir-Freundlich model

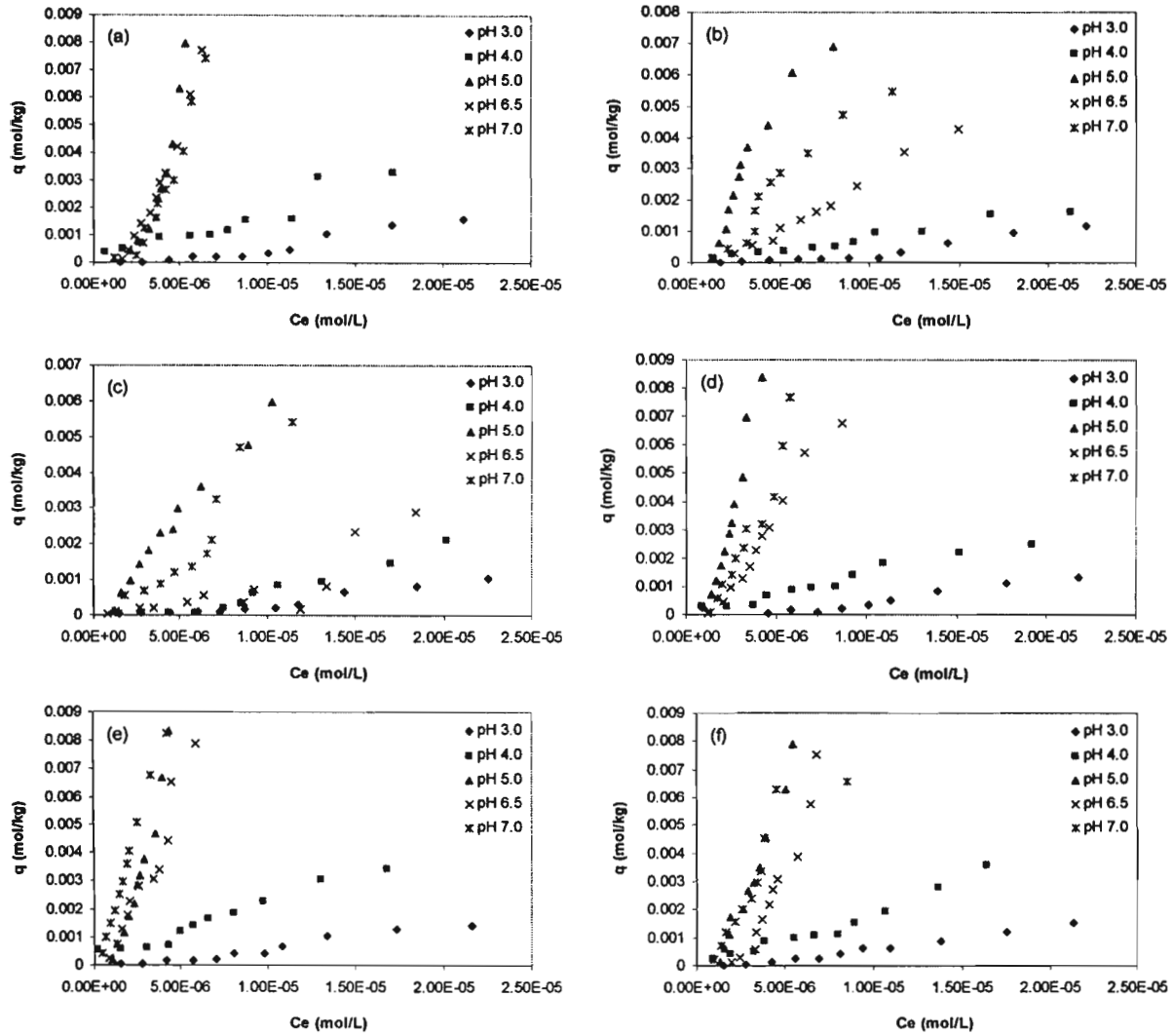
ในการพิจารณาผลรวมของค่าคงที่การแจกแจง (K_d) และค่าสัมประสิทธิ์ของเนื้อผสม (n) ที่มีต่อความสามารถในการดูดซับจึงได้นำสมการ empirical Freundlich model ($q = K_f C_e^{N_f}$) มาจัดให้อยู่ในรูป Linerized model ($\log q = \log K_f + N_f \log C_e$) และทำการ fit เข้ากับข้อมูลการดูดซับของตัวอย่าง S1, BN1-BN3 และ COM1-COM4 เพื่อหาค่า Freundlich constant (K_f) ได้ผลดังตารางที่ 2 ซึ่งค่า K_f เปรียบเสมือนผลลัพธ์ของ $Q_{\max}$ และ $K_d^{1/n}$ จากตารางที่ 1 ถ้าสารใดมีค่า K_d น้อยกว่าเล็กน้อยแต่ n มากกว่า อาจทำให้ค่า K_f มากกว่าได้ดังเช่นผลของ BN3 ที่มากกว่า BN1 ในตารางที่ 2 แต่จะเห็นได้ว่า R^2 ของ BN3 ต่ำกว่า BN1 มาก ส่วน COM1 มีค่า K_f และ N_f สูงกว่าสารดูดซับอื่นๆแต่จะเห็นได้ว่า R^2 ต่ำสุด เมื่อดูค่าจากตารางที่ 1 พบว่าสารดูดซับสารพิษทางการค้า COM1 มีค่า $Q_{\max}$, K_d และ n สูง ซึ่งช่วยอธิบายแนวโน้มของค่า K_f และ N_f ที่สูงกว่าสารดูดซับอื่นๆจากสมการพื้นฐานของ Freundlich

ตารางที่ 2 Fitting characteristics จากสมการ empirical Freundlich model

Adsorbent	R^2	K_f	N_f
BN1	0.9731	1.39E+09	2.1290
BN2	0.9590	2.43E+09	2.1790
BN3	0.6419	1.07E+19	4.0505
COM1	0.5882	2.25E+44	8.4791
COM2	0.7740	1.07E+21	4.2857
COM3	0.9484	1.54E+17	3.6888
COM4	0.7948	1.11E+03	1.0258
S1	0.9741	7.62E+08	2.0913

4.3 การศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

ในการเปรียบเทียบผลกระทบของ pH ของสารละลายที่มีต่อความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 โดยเลือกดินบางตัวอย่าง (S1, S3, S5, S6, S8 และ S9) มาทำการศึกษาไอโซเทอร์มการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินที่ 25 °C ในสารละลาย pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.5 และ 7.0 จากผลการทดลองในรูป 15 พบว่าดินตัวอย่างที่เลือกมาศึกษานั้นเกิดการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ดีเป็นส่วนใหญ่ที่สภาวะ pH 5 โดยดินตัวอย่าง S1, S8 และ S9 มีลักษณะของไอโซเทอร์มที่คล้ายกันในช่วง pH 5-7 คือผลกระทบของบัฟเฟอร์มีน้อย ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าความสามารถในการดูดซับในการศึกษาไอโซเทอร์ม ผลจากตารางที่ 1 ได้แสดงให้เห็นว่าในกลุ่มดินตัวอย่าง ดินทั้งสามชนิดมีค่า $Q_{\max}$ สูงอยู่ในอันดับที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ที่ดินทั้งสามชนิดนี้จะมีองค์ประกอบของแร่ที่คล้ายคลึงกัน



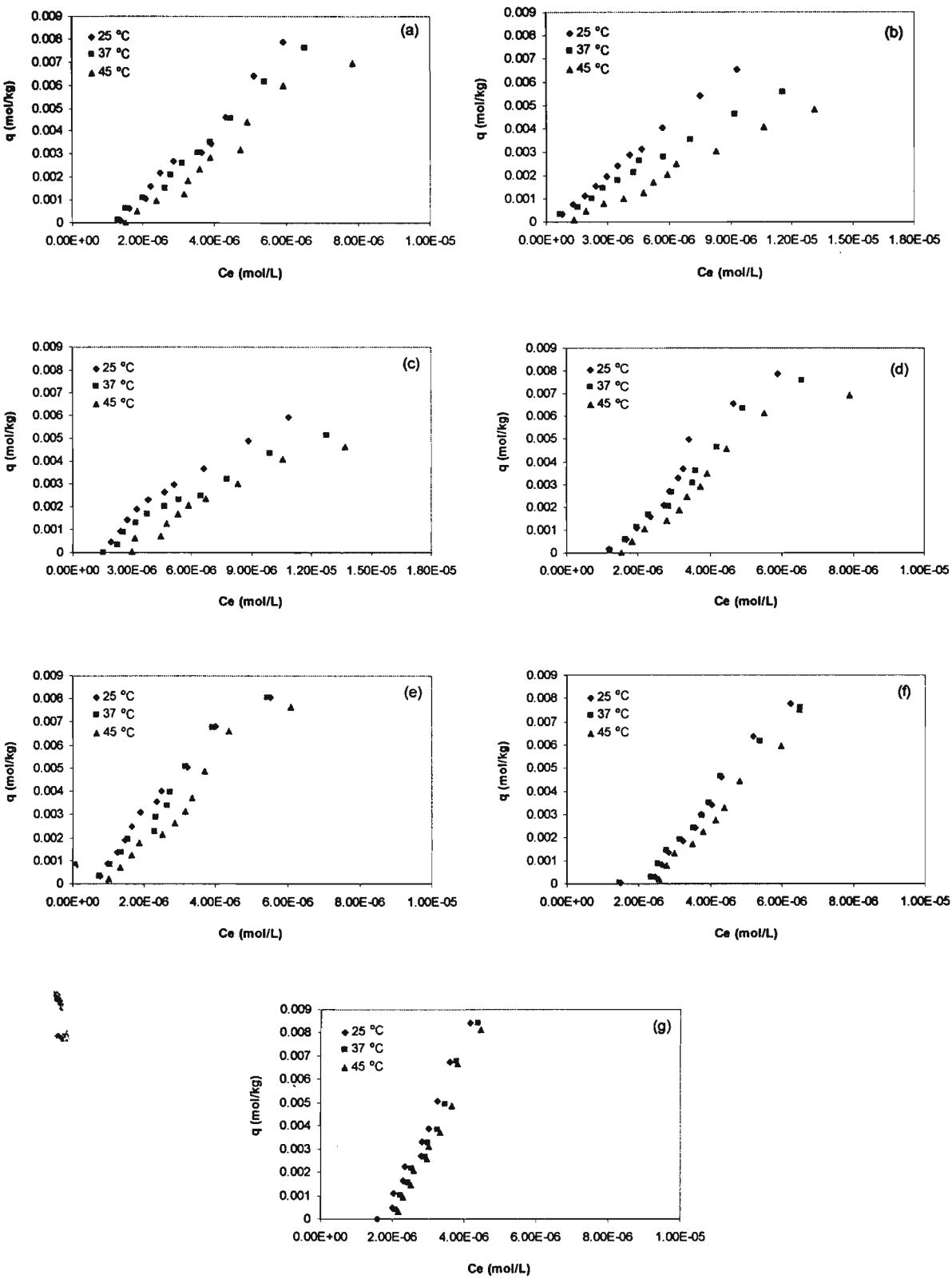
รูป 14 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB₁ ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่างๆ ของสารดูดซับต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25 °C: (a) S1, (b) S3, (c) S5, (d) S6, (e) S8 และ (f) S9

ในการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 โดยทำการศึกษาที่ 25, 37 และ 45 °C ในตัวกลางที่เป็นน้ำ MilliQ และในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.0 (รูป 14 (a)-(f)) พบว่าในการทดลองทั้งสองสถานะของสารละลาย ที่อุณหภูมิต่ำความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 จะมากกว่าที่อุณหภูมิสูงๆ ซึ่งความสัมพันธ์ลักษณะนี้แสดงถึงการดูดซับที่เป็นแบบ physical adsorption ซึ่งพลังงานการดูดซับจะค่อนข้างอ่อน โดยอาจเป็นผลมาจากดินที่เป็นตัวดูดซับเป็นสารที่มีสภาพขี้มากแต่ในขณะที่สารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 เป็นสารอินทรีย์โมเลกุลใหญ่มีสภาพขี้่น้อย ในตัวกลางที่เป็นน้ำ MilliQ (รูป 15 (a)-(g)) จะมีสารดูดซับบางชนิดเท่านั้นเช่น S1, S8, S9 และ COM1 ที่อุณหภูมิมีผลกระทบน้อยมากต่อความสามารถใน

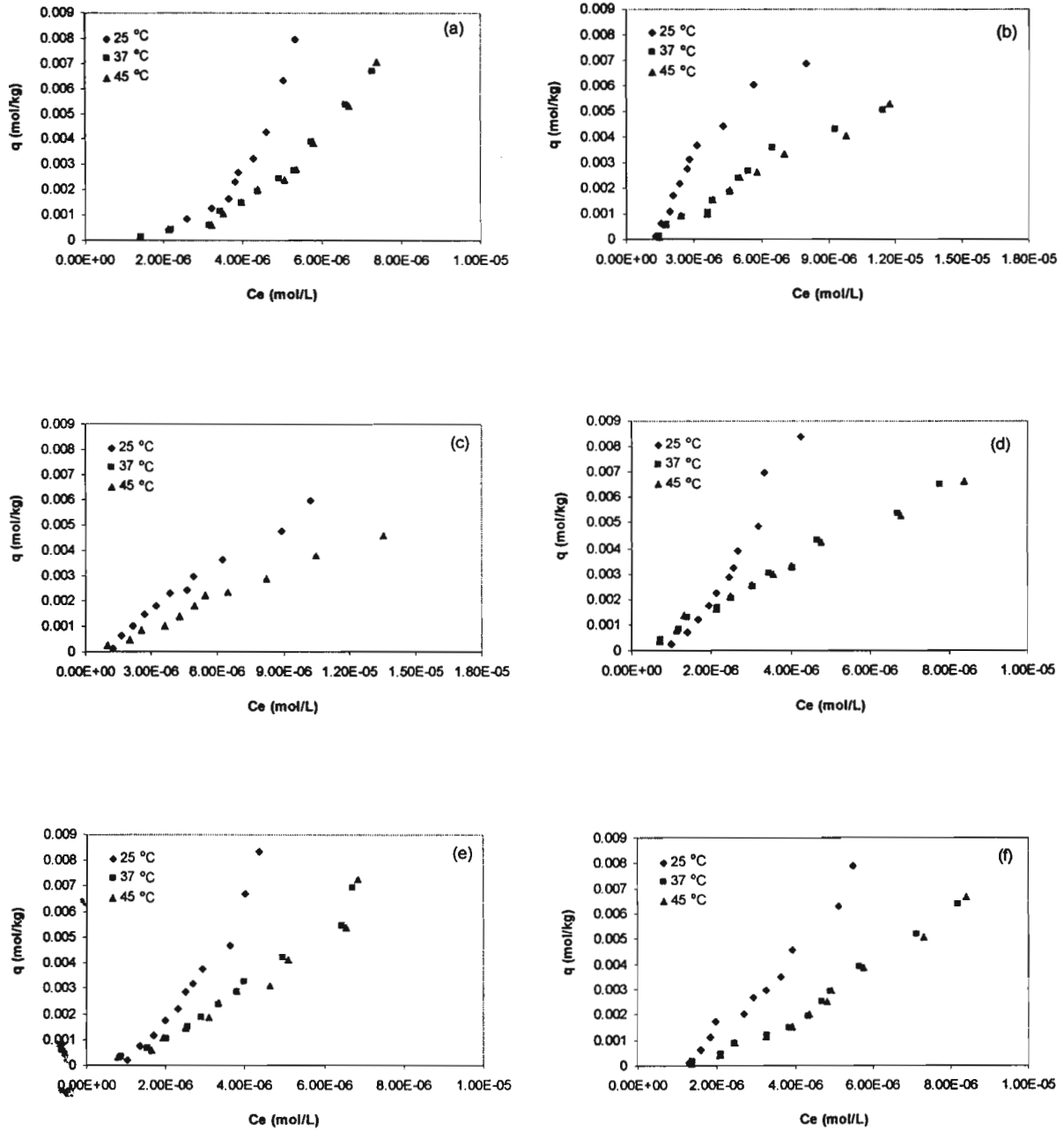
การดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ซึ่งเป็นไปได้ที่กลไกการดูดซับจะแตกต่างไปจากแบบ physisorption โดยทั่วไปการดูดซับที่เป็นแบบ chemisorption จะเกิดได้กับตัวดูดซับที่มีไอออนบวก ช่วยในการจับระหว่างดินที่มีประจุลบกับบริเวณออกซิเจนของ diethoxy group ของโมเลกุลของ สารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 การดูดซับลักษณะนี้ผลกระทบของอุณหภูมิมีน้อยมาก ซึ่งแตกต่างจาก การดูดซับที่เป็นแบบ physisorption ที่อุณหภูมิมีผลค่อนข้างชัดเจนต่อพฤติกรรมดูดซับโดยการ ดูดซับจะเป็นการสร้างแรงยึดเหนี่ยวที่อ่อน มีการคายพลังงานบางส่วนออกมาทำให้การศึกษาที่ อุณหภูมิต่ำลงค่าความสามารถในการดูดซับจะมากขึ้นโดยเปรียบเทียบความชันที่สูงขึ้นของกราฟไอโซเทอรั่มการดูดซับที่อุณหภูมิต่ำลง ผลที่ทำให้กลไกการดูดซับที่แตกต่างนี้ชี้ให้เห็นว่าสารดูดซับทั้ง 4 นี้อาจมีองค์ประกอบบางส่วนที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงได้นำสารทั้ง 4 นี้ ไปศึกษา หาองค์ประกอบของแร่ที่มีอยู่ใน S1, S8, S9 และ COM1 โดยเทคนิค X-ray diffraction spectrometry (XRD) ประกอบกับการศึกษาสมบัติทางกายภาพอื่นเช่น pH, conductivity, cation exchange capacity และ ปริมาณธาตุสำคัญที่เป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในดินต่างๆและสารดูดซับอื่น ที่นำมาศึกษา

ส่วนในตัวอย่างที่เป็นบัฟเฟอร์ที่ pH 5.0 ซึ่งเป็น pH ที่สารส่วนใหญ่เกิดการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ได้ดี ผลการทดลองในรูป 16 แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลอย่างมากในตัวอย่างที่เป็น บัฟเฟอร์เมื่อเทียบกับในตัวอย่างที่เป็นน้ำ โดยที่ความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ที่ 25 °C มากกว่าเมื่อเทียบกับการดูดซับที่ 37 และ 45 °C

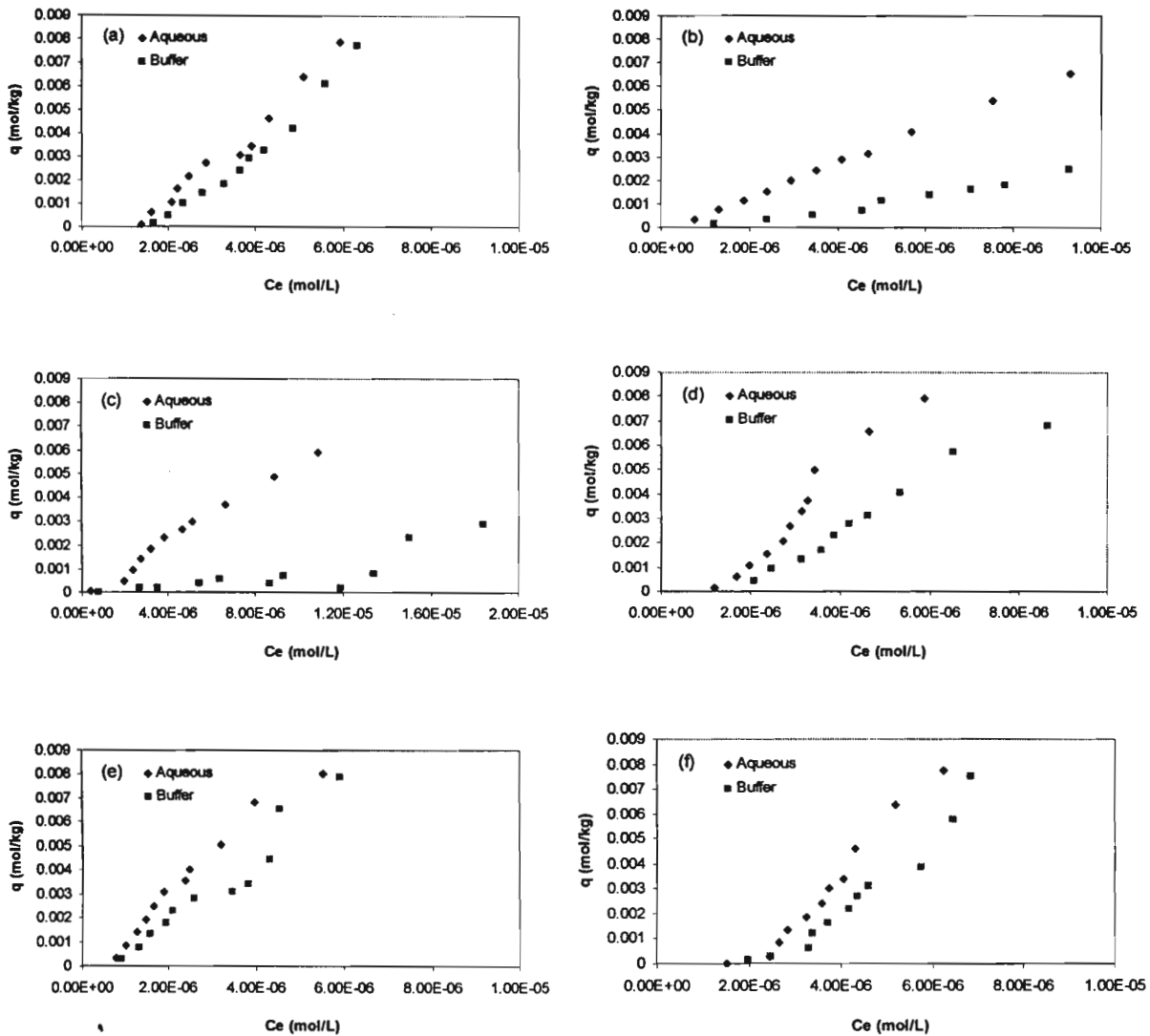
เพื่อเปรียบเทียบผลกระทบขององค์ประกอบในสารละลายที่ออกซินที่มีต่อความสามารถในการ ดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน พบว่าในตัวอย่างที่เป็นน้ำที่ pH 6.5 และในตัวอย่างที่เป็นบัฟเฟอร์ pH 6.5 ผลในรูปที่ 17 แสดง ให้เห็นว่าในตัวอย่างที่เป็นน้ำความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 จะมากกว่า อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) สำหรับทุกตัวอย่างที่นำมาศึกษา แสดงให้เห็นว่าสารที่ใช้ปรับสภาวะ ความเป็นกรด-เบส ของสารละลายมีผลกระทบต่อกระบวนการดูดซับของสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 การแข่งขันการดูดซับบนผิวของดินที่เป็นตัวดูดซับที่มีประจุ ทำให้สารที่ใช้ปรับสภาวะความเป็น กรด-เบส ที่มีสภาพขั้วมากกว่าสารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 ถูกดูดซับได้ดีกว่าทำให้การดูดซับของ สารพิษอะฟลาท็อกซิน ปี 1 บนผิวของตัวดูดซับมีปริมาณลดลงเห็นได้ค่อนข้างชัดเจน



รูป 15 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB₁ ในสารละลายน้ำ (pH 6.5) ของสารดูดซับต่างๆ ที่อุณหภูมิ 25, 37 และ 45 °C: (a) S1, (b) S3, (c) S5, (d) S6, (e) S8, (f) S9 และ (g) COM1



รูป 16 ความสามารถในการดูดซับสาร AFB₁ ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 5.0 ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25, 37 และ 45 °C: (a) S1, (b) S3, (c) S5, (d) S6, (e) S8 และ (f) S9



รูป 17 ความสามารถในการดูดซับสารพิษ AFB₁ ในน้ำและในสารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 6.5 ของสารดูดซับต่างๆที่อุณหภูมิ 25 °C: (a) S1, (b) S3, (c) S5, (d) S6, (e) S8 และ (f) S9

๙:

4.4 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพต่างๆของดินตัวอย่างและสารดูดซับต่างๆ

ได้ทำการทดลองเพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพของสารดูดซับชนิดต่างๆเพื่อนำข้อมูลที่ได้มาอธิบายคุณลักษณะการดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี 1 ของตัวดูดซับที่ศึกษาในส่วนก่อนหน้านี้อย่างไร โดยทำการวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ค่าการนำไฟฟ้า (conductivity) ของสารละลายในน้ำและหาค่าความจุการแลกเปลี่ยนไอออนบวก (cation-exchange capacity, CEC) โดยเทคนิคเฟลมโฟโตเมทรี (Flame Photometry) ได้ผลดังตารางที่ 3 นอกจากนั้นได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณธาตุบางชนิดในตัวอย่างสารดูดซับบางชนิดโดยเทคนิค Inductively-couple plasma –optical emission spectrophotometry (ICP-OES) ได้ผลดังตารางที่ 4

ตารางที่ 3 ค่า pH, conductivity และ CEC ของสารดูดซับบางชนิด

ตัวอย่าง	pH	Conductivity ($\mu\text{S/cm}$)	CEC (meq/100 g)
S1	7.67	1185	44
S2	6.08	399	19
S3	6.79	189	2
S4	7.49	224	20
S5	7.18	290	7
S6	6.98	448	13
S7	7.21	296	4
S8	6.74	304	19
S9	7.92	1559	59
S10	4.51	1980	21
S11	6.02	1030	18
S12	5.50	1879	33
S13	5.38	111	28
S14	4.29	246	31
S15	6.98	195	26
S16	5.18	840	27
S17	5.70	152	27
S18	5.85	76	13
BN1	6.89	1153	63
COM1	7.04	3947	75

จากตารางที่ 3 จะพบว่าดินส่วนใหญ่ที่เป็นดินสีขาวเหลือง (S1-S8) จากที่ต่างๆจะมีค่า pH มากกว่า 6 และดินที่มีลักษณะแดงดำ (S9-S18) จะมีค่า pH ที่ต่ำกว่า ในกลุ่มที่มีค่าความสามารถในการดูดซับสูง (S1, S8 และ S9) ดิน S1 และ S9 มาจากแหล่งใกล้เคียงกันของอำเภอชัยบาดาล ลพบุรี ส่วน S8 มาจากอำเภอแม่ทะ ลำปาง พบว่า S9 มีค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดซึ่งสัมพันธ์กับค่า CEC ที่สูงสุดด้วย S9 อาจประกอบด้วยเหล็กออกไซด์ในปริมาณที่มากกว่าจึงทำให้สีออกแดงต่างจาก S1 และมีค่าการนำไฟฟ้าที่สูงกว่า สารในกลุ่มเบนโทไนต์และสารดูดซับสารพิษทางการค้า BN1 และ COM1 ได้ถูกนำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบ พบว่าค่า pH และ CEC ของ COM1 สูงกว่า S9 เล็กน้อย แต่ค่าการนำไฟฟ้าของ COM1 สูงกว่ามาก COM1 เป็น clay-based sorbent ที่ผ่านกระบวนการปรับปรุงสภาพ ซึ่งมีรายงานว่าใช้ดูดซับสารพิษอะฟลาทอกซินได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่วน BN1 เป็น

สารเบนโทไนต์ที่ใช้เป็นสารดูดซับทั่วไป ทั้ง BN1 และ COM1 มีสีออกขาวนวลและถูกใช้ในการทดลองตามสภาพที่ได้รับมา

ตารางที่ 4 ปริมาณธาตุบางชนิดในสารดูดซับบางชนิด

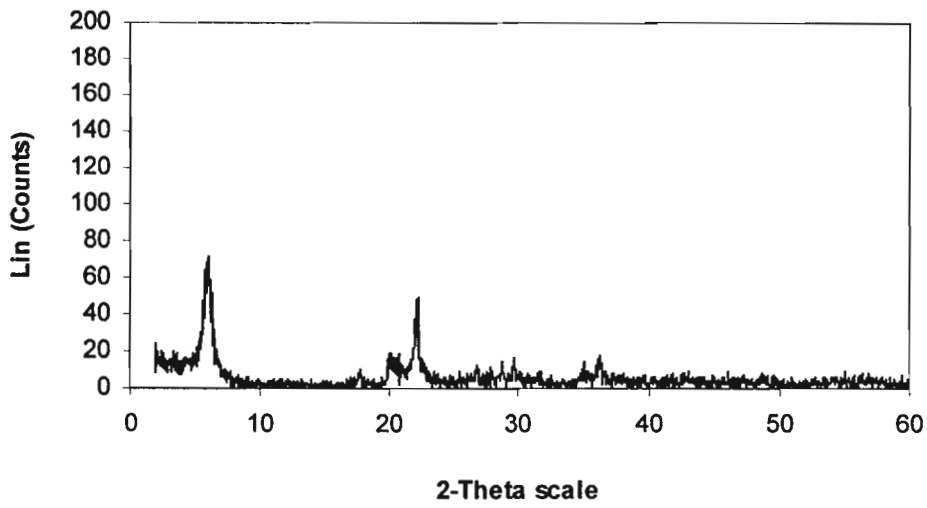
adsorbent	ความเข้มข้น (g/kg) ^a						
	Al	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Na
S1	8.87	4.61	1.51	1.11	2.65	0.10	0.11
S2	7.09	0.48	22.13	7.52	0.10	0.02	0.01
S3	0.86	134.20	0.45	0.03	0.95	0.23	0.01
S4	0.96	134.33	0.61	0.02	1.31	0.28	0.01
S5	1.80	133.56	0.87	0.16	4.87	0.15	0.01
S6	3.01	120.51	2.22	0.28	1.18	0.10	0.01
S7	1.20	143.20	0.78	0.11	0.63	0.06	0.01
S8	9.11	1.69	6.45	0.84	1.09	0.04	0.01
S9	11.52	5.15	21.04	0.63	3.62	0.25	0.15
S10	23.30	1.14	9.55	1.01	0.69	0.03	0.02
S11	16.06	1.39	20.86	0.27	1.47	0.41	0.01
S12	23.79	1.87	13.20	1.55	2.25	0.18	0.02
S13	14.68	0.55	37.15	0.09	0.20	0.66	0.01
S14	16.33	0.18	14.83	0.46	3.54	0.08	0.01
S15	15.84	1.31	10.21	1.20	1.14	0.09	0.02
S16	25.14	1.32	10.85	0.97	0.62	0.05	0.02
S17	7.53	0.58	10.70	1.73	2.66	0.09	0.01
S18	8.09	0.42	13.19	0.13	0.08	0.06	0.01
BN1	15.58	8.97	13.34	0.85	4.07	0.19	0.41
COM1	10.06	8.98	3.72	0.35	2.82	0.08	0.05

^a ค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ (n = 3)

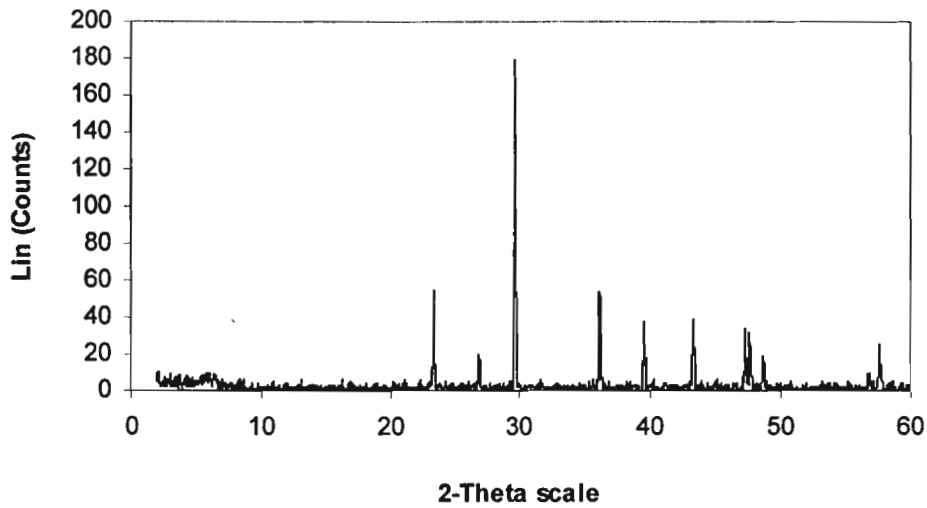
จากตารางที่ 4 จะเห็นได้ว่าในกลุ่มดินขาวเหลืองตัวอย่างที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ดีคือ S1 และ S8 จะมีปริมาณของ Al ที่ไม่แตกต่างกัน แต่ S1 ที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินสูงสุดมีค่าการนำไฟฟ้าสูงสุดในกลุ่มนี้มีปริมาณ Ca เทียบได้กับที่มีใน BN1 และ COM1 นอกจากนั้นยังมีปริมาณของ Na สูงกว่าตัวอย่างในกลุ่มนี้ประมาณ 10 เท่า เมื่อ

พิจารณาดินตัวอย่างในกลุ่มดินแดงคำพบว่า S9 ที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้สูงมีปริมาณของธาตุต่างๆเทียบได้กับดินตัวอย่าง S1 ในกลุ่มดินขาวเหลืองแต่ S9 มีปริมาณธาตุที่มากกว่าอย่างเห็นได้ชัดคือ Fe และ Mn ซึ่งโดยทั่วไปถ้าสารประกอบของธาตุทั้งสองมีปริมาณมากจะทำให้ดินมีสีออกแดงดำอย่างเห็นได้ชัด

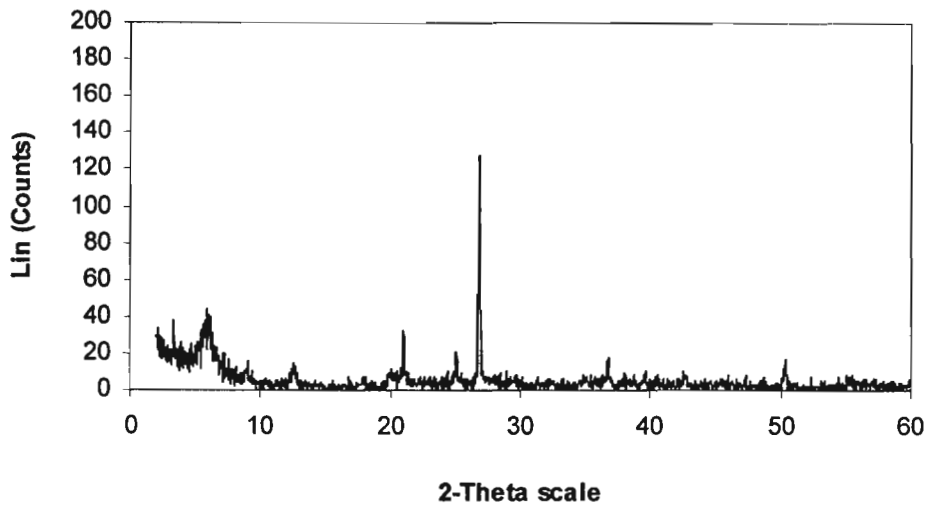
ได้ใช้เทคนิค X-ray diffraction spectrometry (XRD) ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของแร่ในดินตัวอย่างที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินปริมาณสูงสุด 3 อันดับแรกคือ S1, S8, และ S9 เทียบกับ S6, BN1 และ COM1 จาก XRD spectrograms (รูป 18-23) พบว่าสารที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ดีจะมีแร่มอนท์มอริลโลไนต์ (montmorillonite) เป็นองค์ประกอบ ซึ่งจะเห็นพีคการเลี้ยวเบนแสงปรากฏที่ค่ามุม 2θ มีค่าประมาณ 6.4 โดยเปอร์เซ็นต์ของแร่มอนท์มอริลโลไนต์จะมีสูงสุดในสารดูดซับสารพิษทางการค้า COM1 (รูป 23) สำหรับดินตัวอย่าง S1 และ S9 (รูป 18 และ รูป 21) มาจากแหล่งที่ใกล้เคียงกันของอำเภอยะบะดี ลพบุรี แต่พบว่า S1 จะมีเปอร์เซ็นต์ของแร่มอนท์มอริลโลไนต์สูงกว่า จากรูป 18 ยังเห็นได้ว่ายังมีแร่อื่นเด่นชัดใน S1 ด้วยคือแร่คริสโตบาไลต์ (cristobalite) ปรากฏการเลี้ยวเบนที่มุม 2θ มีค่าประมาณ 22.2 สำหรับ S8 (รูป 20) ที่มีความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้รองจาก S1 เป็นตัวอย่างจากอำเภอแม่ทะ ลำปาง จะมีปริมาณของควอตซ์ (quartz) ผสมอยู่มากกว่า S1 โดยเกิดเป็นพีคที่มุม 2θ มีค่าอื่นๆนอกเหนือที่มุม 6.4 อีกตัวอย่างที่นำมาเปรียบเทียบกับ S6 (รูป 19) ที่มีค่าความสามารถในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้น้อย ผลแสดงให้เห็นว่าดินตัวอย่างนี้ นอกจากจะมีควอตซ์แล้วยังมีเฟลด์สปาร์ (feldspars) ปริมาณมากโดยเกิดเป็นพีคที่มุม 2θ มีค่าประมาณ 6.0 และ 29.6 นอกจากนั้นได้เปรียบเทียบกับ BN1 (รูป 22) ที่เป็นเบนโทไนต์ทางการค้าพบว่า BN1 มีแร่มอนท์มอริลโลไนต์เป็นองค์ประกอบหลักแต่จะมีควอตซ์ผสมอยู่มากด้วย



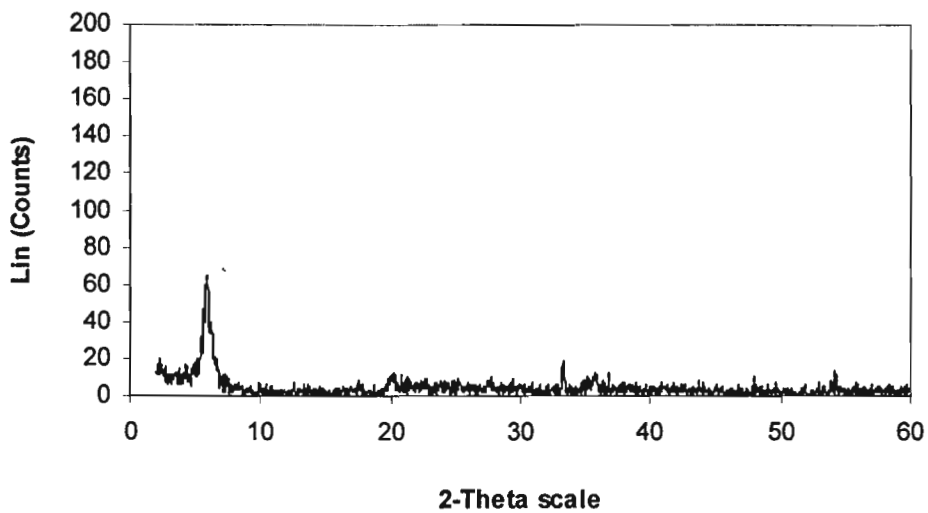
รูป 18 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S1



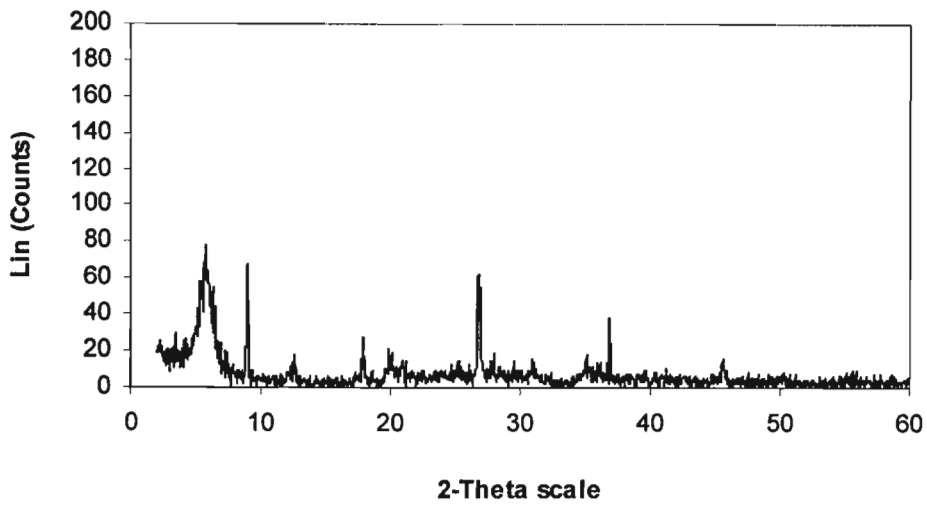
รูป 19 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S6



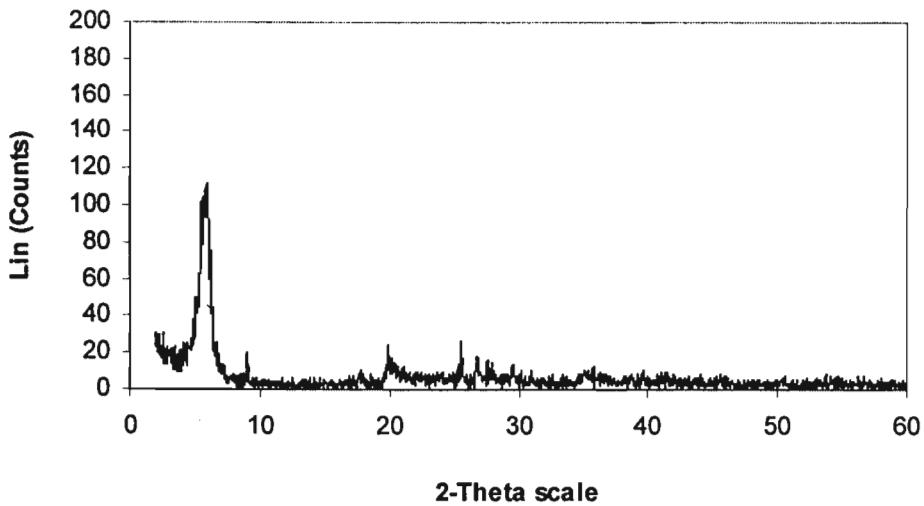
รูป 20 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S8



รูป 21 EDX spectrogram ของดินตัวอย่าง S9



รูป 22 EDX spectrogram ของเบนโทไทต์ BN1



รูป 23 EDX spectrogram ของสารดูดซับทางการค้า COM1

4.5.2 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อสมรรถนะการผลิตเปิดเนื้อ

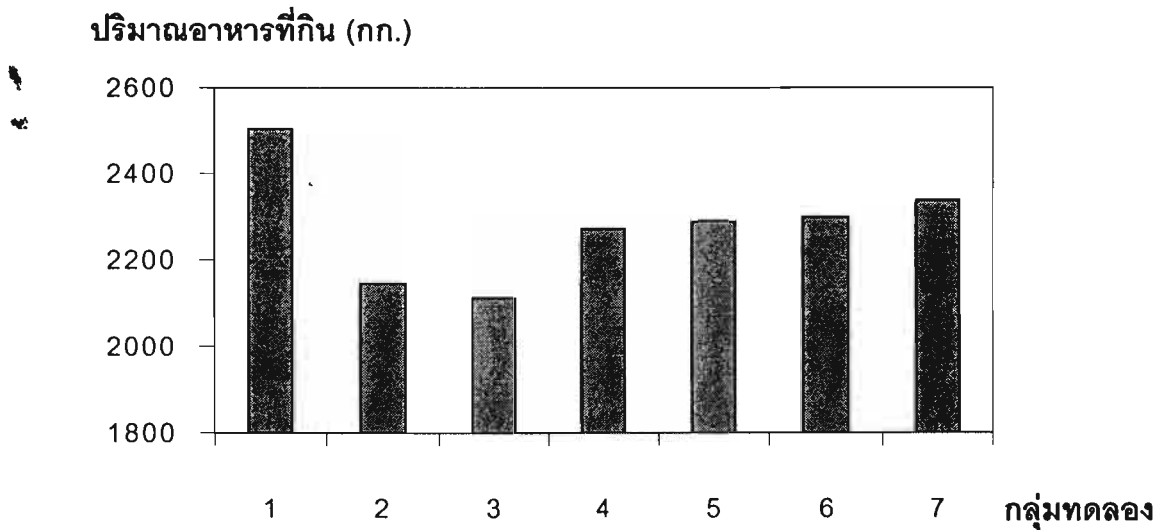
4.5.2.1 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อปริมาณอาหารที่เปิดกิน

ในเปิดเนื้อช่วงอายุ 0-4 สัปดาห์ (ตารางที่ 6 และ รูป 24) พบว่าเปิดทดลองกลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีปริมาณอาหารที่กินมากที่สุดคือ 2,502.91 กรัม/ตัว และแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 2-7 กินอาหารในปริมาณอาหารที่ใกล้เคียงกัน คือ 2,147.89 2,110.89 2,273.73 2,289.56 2,300.89 และ 2,340 กรัม/ตัว ตามลำดับ ทั้งนี้เปิดเนื้อกลุ่มที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb มีแนวโน้มกินอาหารน้อยที่สุดคือ 2,110.89 กรัม/ตัว

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบปริมาณอาหารที่เปิดกินต่อวัน ในแต่ละกลุ่มทดลอง

สัปดาห์	ปริมาณอาหารที่เปิดกินต่อวัน (กรัม/วัน)						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	24.13	25.44	22.87	25.08	24.76	24.13	26.03
2	64.16	64.51	64.03	72.09	65.65	68.13	69.46
3	128.25	102.60	102.24	112.33	113.65	109.78	116.67
4	141.02	114.29	112.41	125.32	123.02	126.67	122.13
รวม (กรัม/วัน)	357.56	306.84	301.56	324.82	327.08	328.70	334.29
รวม (กรัม)	2,502.91 ^a	2,147.89 ^b	2,110.89 ^b	2,273.73 ^b	2,289.56 ^b	2,300.89 ^b	2,340 ^b

^{a, b} ค่าเฉลี่ยในแถวบนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูป 24 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อปริมาณอาหารที่เปิดกิน

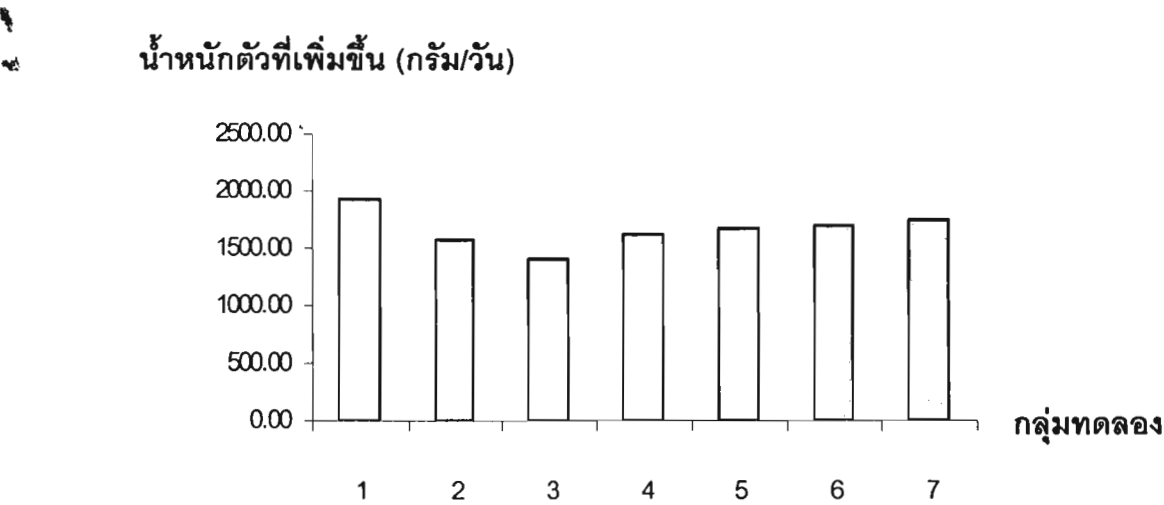
4.5.2.2 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวัน

ในเปิดเนื้อช่วงอายุ 0-4 สัปดาห์ (ตารางที่ 7 และ รูป 25) พบว่าเปิดทดลอง กลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวันมากที่สุดคือ 1,927.77 กรัม/ตัวและแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 3 (T3) ที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวันน้อยที่สุดคือ 1,404.30 กรัม/ตัว และแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 4-7 มีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นต่อวันที่ใกล้เคียงกัน คือ 1,623.03 1,658.84 1,688.52 และ 1,739.48 กรัม/ตัวตามลำดับ

ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบน้ำหนักเปิดที่เพิ่มขึ้นต่อวันในแต่ละกลุ่มทดลอง

สัปดาห์	น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (กรัม/วัน)						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	200.98	183.07	167.97	187.23	195.62	192.38	191.15
2	478.21	450.18	411.82	468.69	463.57	477.89	470.64
3	909.44	660.39	619.85	690.35	701.94	706.48	775.18
4	339.14	277.34	204.67	276.76	297.72	311.78	302.51
รวม (กรัม)	1,927.77 ^a	1,570.99 ^{cd}	1,404.30 ^d	1,623.03 ^{cd}	1,658.84 ^{bc}	1,688.52 ^b	1,739.48 ^b

^{a-d}ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



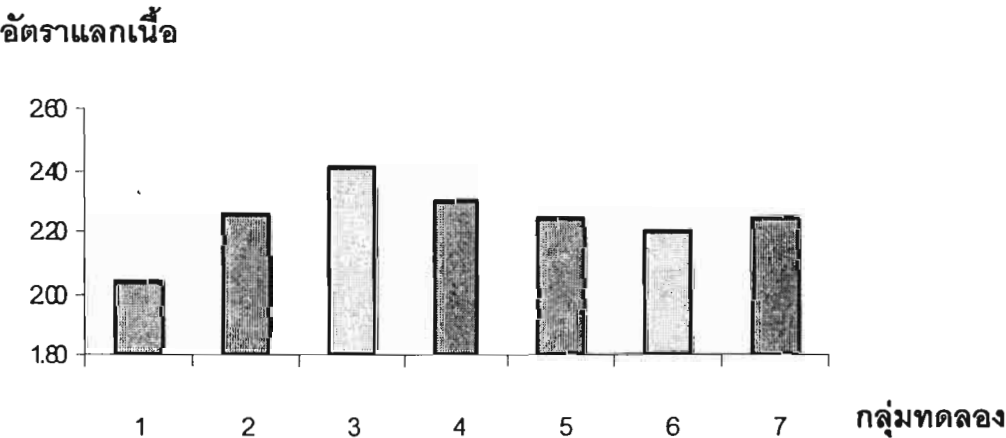
รูป 25 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น

4.5.2.3 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่ออัตราแลกเนื้อ

ในเปิดเนื้อช่วงอายุ 0-4 สัปดาห์ (ตารางที่ 8 และ รูป 26) พบว่าเปิดทดลอง กลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีอัตราแลกเนื้อเฉลี่ยต่ำที่สุดคือ 2.04 เปิดเนื้อกลุ่มที่ 3 (T3) ที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb มีอัตราแลกเนื้อเฉลี่ยสูงสุดคือ 2.40 เปิดเนื้อกลุ่มที่ 2 และ 4-7 มีอัตราแลกเนื้อที่ใกล้เคียงกัน คือ 2.25 2.23 2.30 2.24 และ 2.20 ตามลำดับ

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบอัตราแลกเนื้อของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง

สัปดาห์	อัตราแลกเนื้อ						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
1	1.80	2.08	2.04	2.02	1.90	1.88	2.06
2	2.01	2.17	2.34	2.24	2.13	2.14	2.22
3	2.12	2.28	2.48	2.39	2.43	2.33	2.26
4	2.23	2.48	2.76	2.53	2.48	2.43	2.42
เฉลี่ย	2.04	2.25	2.40	2.30	2.23	2.20	2.24



รูป 26 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่ออัตราแลกเนื้อ

4.5.3 ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อค่าโลหิตวิทยาของเปิด

ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อค่าฮีมาโตคริต (ตารางที่ 9) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 พบว่าเปิดทดลองกลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีค่าสูงที่สุดคือ 47.33 และแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 2-7 มีค่าฮีมาโตคริตที่ใกล้เคียงกัน คือ 42.33, 42.33, 39.00, 43.33, 39.33 และ 41.00 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบค่าฮีมาโตคริตของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง

ค่าฮีมาโตคริต						
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
47.33 ^a	42.33 ^b	42.33 ^b	39.00 ^b	43.33 ^b	39.33 ^b	41.00 ^b

^{a, b} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อค่าโกลบูลิน (ตารางที่ 10) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 พบว่าเปิดทดลองกลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีค่าสูงที่สุดคือ 3.5 และแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 4-7 มีค่าโกลบูลินที่ใกล้เคียงกัน คือ 2.25, 2.01, 2.27 และ 2.10 ตามลำดับ เปิดเนื้อกลุ่มที่ 3 (T3) ที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb มีค่าโกลบูลินต่ำที่สุดคือ 1.27

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบค่าโกลบูลินของเปิดในแต่ละกลุ่มทดลอง

ค่าโกลบูลิน (U/L)						
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
2.50 ^a	1.73 ^d	1.27 ^e	2.25 ^b	2.01 ^c	2.27 ^b	2.10 ^{bc}

^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลของสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อค่าเอนไซม์ตับ (ตารางที่ 11) เมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 พบว่าเปิดทดลองกลุ่มควบคุมลบ (negative control หรือ T1) มีค่าต่ำที่สุดคือ 32.0 และแตกต่างจากกลุ่มทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เปิดเนื้อกลุ่มที่ 2-3 มีค่าเอนไซม์ที่สูงและแตกต่างจากกลุ่มอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) คือ 77.0 และ 101.0 ตามลำดับ เปิดเนื้อกลุ่มที่ 4-7 มีค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 11 การเปรียบเทียบค่าเอนไซม์ตับของเป็ดในแต่ละกลุ่มทดลอง

ค่าเอนไซม์ ALT* (U/L)						
T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
32.00 ^a	77.00 ^d	101.00 ^e	45.00 ^b	52.33 ^c	47.00 ^b	56.67 ^c

*ALT: Alanine Amino Transferase

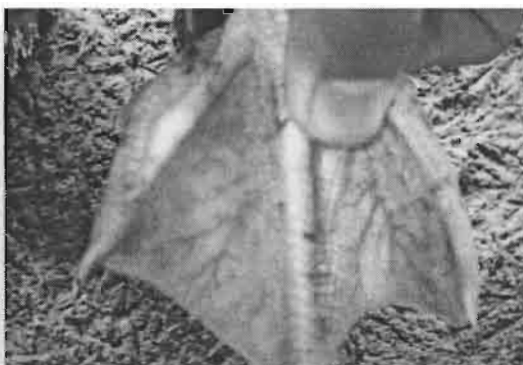
^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.5.4 ผลการเสริมสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินต่อความผิดปกติของเป็ด

การเสริมสารดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินสามารถลดความผิดปกติที่พบโดยเฉพาะ การเจริญของขนปีก (feather growth) การโค้งงอของข้อขา (cowboy joint) โลหิตจาง (anemia) ตามผิวหนังเยื่อเมือก รวมทั้งการตกเลือด (hemorrhage) และการเกิดแผลหลุม (ulcer) ที่พังผืดฝ่าเท้า (web toe) (รูป 27-30) การเสริมสารดูดซับอะฟลาท็อกซินเบนโทไนด์ที่พบในประเทศไทย (BN) พบว่าสารดูดซับสามารถลดความผิดปกติที่พบในเป็ดได้โดยเฉพาะ การเจริญของขนปีก การโค้งงอของข้อขา และการตกเลือดการเกิดแผลหลุมบริเวณพังผืดฝ่าเท้า นอกจากนี้ผลการทดลองไม่พบความแตกต่างระหว่างการใช้สารดูดซับอะฟลาท็อกซินที่พบในประเทศไทยและของบริษัทเอกชนที่นำเข้าจากต่างประเทศ เป็ดที่ไม่ได้รับอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซิน การเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าไม่แสดงลักษณะและลักษณะปกติจะจัดในระดับที่ 1 (รูป 27) ส่วนเป็ดเนื้อกลุ่มที่ 3 (T3) ที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb และไม่ใช้สารดูดซับสารพิษจะพบความผิดปกติที่เด่นชัดด้านการเจริญของขนปีกในระดับที่ 2 พบประมาณ 24.67% การตกเลือดที่พังผืดฝ่าเท้าระดับที่ 2 พบประมาณ 13.34% และการโค้งงอข้อขาพบ 6.67% ส่วนเป็ดเนื้อกลุ่มที่ 3 (T3) ที่กินอาหารผสมสารพิษอะฟลาท็อกซินระดับ 120 ppb และไม่ใช้สารดูดซับสารพิษจะพบความผิดปกติที่เด่นชัดเฉพาะด้านการเจริญของขนปีกในระดับที่ 2 พบประมาณ 13.34%



รูป 27 ลักษณะปกติของการเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าของเป็ดเนื้อ (ระดับที่ 1)



ความผิดปกติของการเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าระดับที่ 2

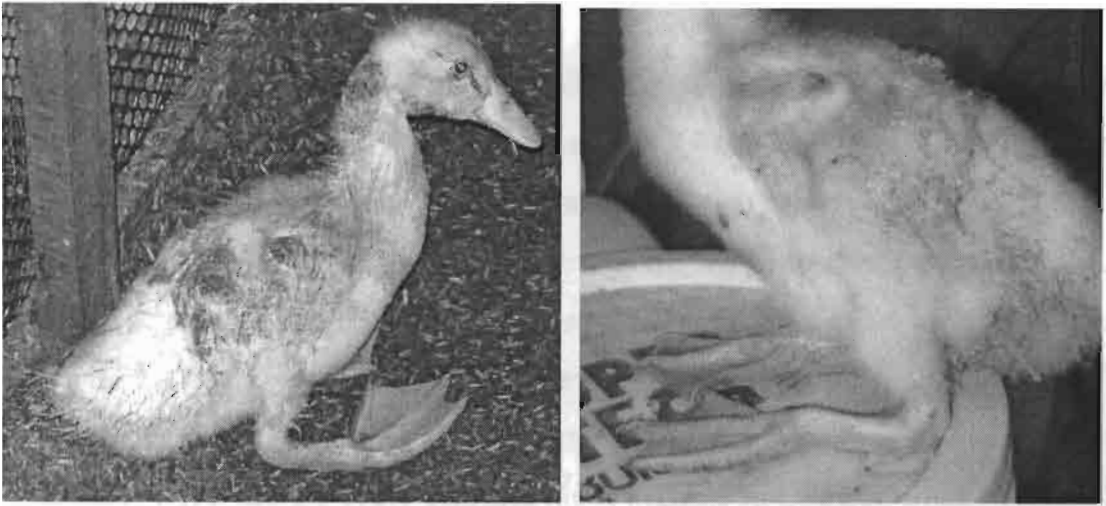


ความผิดปกติของการเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าระดับที่ 3

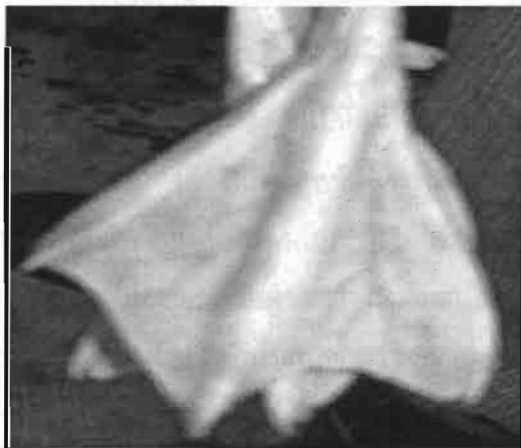
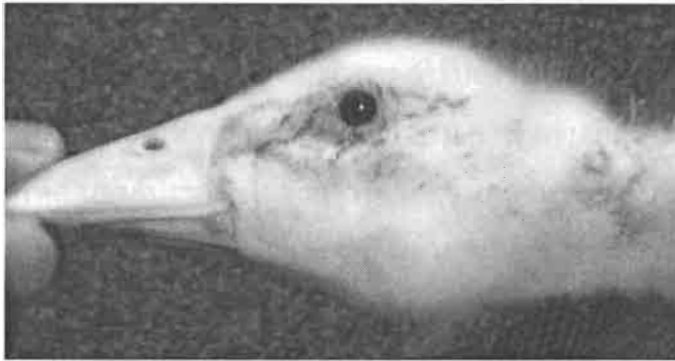


ความผิดปกติของการเจริญของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าระดับที่ 4

รูป 28 ความผิดปกติของขนปีกและพังผืดฝ่าเท้าของเปิดเนื้อที่ได้รับสารพิษอะฟลาทอกซินระดับต่างๆ



รูป 29 ความผิดปกติของข้อขาของเป็ดเนื้อที่ได้รับสารพิษอะฟลาท็อกซิน



รูป 30 ความผิดปกติโลหิตจางที่พบบริเวณหัว ปาก และขาเป็ดที่ได้รับสารพิษอะฟลาท็อกซิน

4.6 สรุปผลงานวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพของการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซิน โดยใช้สารดูดซับจากแหล่งดินต่างๆ ในประเทศไทย 18 ตัวอย่าง เบนโทไนต์ทางการค้า 3 ตัวอย่างและสารดูดซับสารพิษทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศอีก 4 ตัวอย่าง สามารถสรุปได้ว่า

การศึกษาในห้องปฏิบัติการพบว่า อัตราการดูดซับของสารพิษอะฟลาท็อกซินบนสารดูดซับในน้ำจะแตกต่างกัน โดยทั่วไปอัตราการดูดซับจะลดลงอย่างมากหลัง 12 ชั่วโมง แต่มีสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1) ที่ดูดซับได้อย่างมากในเวลาอันสั้น สำหรับดินตัวอย่าง S1 จะดูดซับสารพิษได้ปริมาณมากและรวดเร็วกว่าดินตัวอย่างอื่น การศึกษาเกี่ยวกับไอโซเทอร์มการดูดซับจึงใช้เวลาในการทดลองการดูดซับที่ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นเวลาที่อัตราการดูดซับสารพิษบนสารดูดซับส่วนใหญ่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

การศึกษาไอโซเทอร์มการดูดซับพบว่าพฤติกรรมดูดซับที่เกิดขึ้นนั้นไม่สามารถอธิบายได้ด้วย Langmuir model ข้อมูลการดูดซับส่วนใหญ่ให้ได้ดีกับ modified Freundlich model ซึ่งอธิบายได้ดีกับการดูดซับบนผิวเนื้อผสม (heterogeneous surface) เมื่อพิจารณาลักษณะต่างๆของการดูดซับจากสมการที่ให้ correlation coefficient (R^2) สูงสุด สำหรับแต่ละสารดูดซับ จะพบว่าสารดูดซับที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับอะฟลาท็อกซิน (Q_{max}) มากที่สุดคือดิน S1 รองลงมาคือ S8 และ S9 นอกจากนั้นยังพบว่า การดูดซับยังขึ้นกับปัจจัยต่างๆเช่น อุณหภูมิ สภาพความเป็นกรดเบส รวมทั้งองค์ประกอบในสารละลายด้วย การดูดซับเกิดได้ดีในช่วง pH 5-7 และการแข่งขันจากบัฟเฟอร์ที่เป็นองค์ประกอบในตัวกลางทำให้การดูดซับของสารพิษอะฟลาท็อกซินลดลง

- การดูดซับของสารพิษอะฟลาท็อกซินบนตัวดูดซับที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินสูง จะได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิน้อย ซึ่งพฤติกรรมดูดซับอธิบายได้ด้วยการเกิดแรงกระทำแบบ chemisorption ซึ่งต่างจากการดูดซับบนสารอื่นที่อุณหภูมิมีผลกระทบอย่างมาก
- ถ้าการดูดซับเป็นแบบ physisorption โดยการดูดซับที่ขึ้นที่อุณหภูมิต่ำลง

เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพของสารดูดซับที่ดูดซับสารพิษอะฟลาท็อกซินได้ดี ทั้งค่าความเป็นกรด-เบส ค่าการนำไฟฟ้า ค่าความจุการแลกเปลี่ยนไอออนบวก และองค์ประกอบของแร่ในดิน เหล่านี้พบว่าดินที่มีค่าความสามารถสูงสุดในการดูดซับสารพิษสูงเช่น S1 S8 และ S9 จัดอยู่ในพวก เบนโทไนต์ โดยจะมีแร่มอนทอร์มอริลโลไนต์เป็นองค์ประกอบหลักเช่นเดียวกับเบนโทไนต์ (BN1) และสารดูดซับสารพิษทางการค้า (COM1)และดินตัวอย่าง S1 จะเป็นตัวอย่างดินเบนโทไนต์ในไทยจากชัยบาดาล ลพบุรีที่มีปริมาณแร่มอนทอร์มอริลโลไนต์มากกว่า S9 และ S8

การศึกษาแบบ in vivo โดยเสริมสารดูดซับ S1 และ COM1 ในสูตรอาหารเปิดเนื้อ การเสริมสารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (S1) ให้ผลดีใกล้เคียงกับการใช้สารดูดซับสารพิษที่นำเข้าจากต่างประเทศ (COM1) ซึ่งเป็นสารประเภท Hydrated Sodium Calcium Alumino-Silicate)

เมื่อเปรียบเทียบผลต่อสมรรถนะการผลิตทั้งด้านการเจริญเติบโตและอัตราแลกเนื้อ ผลต่อค่าดัชนีโลหิตวิทยา และความผิดปกติหรือรอยโรคจากสารพิษอะฟลาท็อกซิน สารดูดซับสารพิษจากแหล่งดินในประเทศไทย (S1) ที่ระดับ 0.5% โดยน้ำหนักอาหารสามารถใช้ทดแทนสารดูดซับสารพิษจากบริษัทเอกชนที่นำเข้าจากต่างประเทศ สำหรับการป้องกันพิษที่เกิดจากอะฟลาท็อกซินที่ปนเปื้อนในอาหารเปิดเนื้อ

4.7 เอกสารอ้างอิง (References)

- เอกสารประกอบการประชุมสัมมนา สัตวแพทยศาสตรศึกษาแห่งชาติครั้งที่ 2, สมาคมผู้ค้าเวชภัณฑ์ และเคมีภัณฑ์สำหรับสัตว์. 2544. 29-31 กรกฎาคม 2544.
- Davidson, J. N., Babish, J. G., Delaney, K. A., Tayler, D. R., and Phillips, T. D. 1987. Hydrated sodium calcium aluminosilicate decreases the bioavailability of aflatoxin in the chicken. *Poultry Sci.* 66, 89.
- Decker, W. J. (1980), Activated charcoal adsorbs Aflatoxin B₁. *Vet. Human Toxicol.* 22, 388-389.
- Doyle, M. P., Applebaum, R. S., Brackett, R. E., and Marth, E. H. 1982. Physical, chemical and biological degradation of mycotoxins in foods and agricultural commodities. *J. Food Prot.* 45, 964-971.
- Harvey, R. B., Kubena, L. F., Phillips, T.D., Huff, W. E., and Corrier, D. E. 1989. Prevention of aflatoxicosis by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to the diet of growing barrows. *Am. J. Vet. Res.* 50, 416-420.
- Harvey, R. B., Kubena, L. F., Phillips, T.D., Corrier, D. E., Elissalde, M. H., and Huff, W. E. 1991a. Diminution of aflatoxin toxicity to growing lambs by dietary supplementation with hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Am. J. Vet. Res.* 52, 152-156.
- Harvey, R. B., Phillips, T.D., Ellis, J. A., Kubena, L. F., Huff, W. E., and Peterson, H. D. 1991b. Effects of aflatoxin M₁ residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 52, 1556-1559.
- Harvey, R. B., Kubena, L. F., Elissalde, M. H., and Phillips, T.D. 1993. Efficacy of zeolitic ore compounds on the toxicity of aflatoxin to growing broiler chickens. *Avian Dis.* 37, 67-73.
- Harvey, R. B., Kubena, L. F., Elissalde, M. H., Corrier, D. E., and Phillips, T.D. 1994. Comparison of two hydrated sodium calcium aluminosilicate compounds to experimentally protect growing barrows from aflatoxicosis. *J. Vet. Diagn. Invest.* 6, 88-92.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). 1993.

- Jantrarat, W., Lovell, R.T., Grizzle, J.M. 1990. Subchronic toxicity of aflatoxin B₁ to Channel catfish. *J. Aqua. Anim. Health* 2: 248-254.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Phillips, T. D., and Heidelbaugh, N. D. 1987. Novel approach to the preventive management of aflatoxicosis in poultry. *Proceedings of the U.S. Animal Health Association*, pp. 302-304. Richmond, VA.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Phillips, T. D., and Huff, W. E. 1988. Modulation of aflatoxicosis in growing chickens by dietary addition of a hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Poultry Sci.* 67, 106.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Corrier, D. E., Phillips, T. D., and Huff, W. E. 1990a. Diminution of aflatoxicosis in growing chickens by the dietary addition of a hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Poultry Sci.* 69, 727-735.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Huff, W. E., Corrier, D. E., Phillips, T. D., and Rottinghaus, G. E. 1990b. Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and T-2 toxin. *Poultry Sci.* 69, 1078-1086.
- Kubena, L. F., Huff, W. E., Harvey, R. B., Yersin, G. A., Elissalde, M. H., Witzel, D. A., Giroir, L. E., and Phillips, T. D. 1991. Effects of a hydrated sodium calcium aluminosilicate on growing turkey poult during aflatoxicosis. *Poultry Sci.* 70, 1823-1830.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Huff, W. E., Elissalde, M. H., Yersin, G. A., Phillips, T. D., and Rottinghaus, G. E. 1993a. Efficacy of a hydrated sodium calcium aluminosilicate to reduce the toxicity of aflatoxin and diacetoxyscirpenol. *Poultry Sci.* 72, 51-59.
- Kubena, L. F., Harvey, R. B., Phillips, T. D., and Clement, B. A. 1993b. Effects of hydrated sodium calcium aluminosilicates on aflatoxicosis in broiler chicks. *Poultry Sci.* 72, 651-657.
- Masimango, N., Remacle, J., and Ramaut, J. L. 1978. The role of adsorption in the contamination of aflatoxin B₁ from contaminated media. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 6, 101-105.
- Mayura, K., Abdel-Wahab, M. A., Mckenzi, K. S., Sarr, B. A., Edwards, J. F., Naguib, K., and Phillips, T. D. 1998. Prevention of maternal and developmental toxicity via dietary inclusion of common aflatoxin sorbents: potential for hidden risks. *Toxicol. Sci.* 41, 175-182.

- Ostrowski-Meissner, H.T., LeaMaster, B.R., Duerr, E.O., Walsh, W.A. 1995. Sensitivity of the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* to aflatoxin B1. *Aquaculture* 131, 155-164.
- Phillips, T. D., Kubena, L. F., Harvey, R. B., Tayler, D. R., and Heidelbaugh, N. D. 1987. Mycotoxin hazard in agriculture: new approach to control. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 190 (12), 1617.
- Phillips, T. D., Kubena, L. F., Harvey, R. B., Tayler, D. R., and Heidelbaugh, N. D. 1988. Hydrated sodium calcium aluminosilicate: a high affinity sorbent for aflatoxin. *Poultry Sci.* 67, 243-247.
- Phillips, T. D., Clement, B. A., Kubena, L. F., and Harvey, R. B. 1989. Prevention of aflatoxicosis in animals and aflatoxins residues in food of animal origin with hydrated sodium calcium aluminosilicates. *Proceedings of the World Association of Veterinary Food Hygienists, Stockholm, Sweden.*
- Phillips, T. D., Clement, B. A., Kubena, L. F., and Harvey, R. B. 1990. Detection and detoxification of aflatoxins: Prevention of aflatoxicosis and aflatoxin residues with hydrated sodium calcium aluminosilicate. *Vet. Hum. Toxicol.* 32, 15-19.
- Phillips, T. D., Sarr, A. B., Clement, B. A., Kubena, L. F., and Harvey, R. B. 1991. Prevention of aflatoxicosis in farm animals via selective chemisorption of aflatoxin. In *Mycotoxins, Cancer and Health* (G. Bray, and D. Ryan, Eds.), pp. 223-237. Louisiana State University Press, Baton Rouge, LA.
- Phillips, T. D., Clement, B. A., and Park, D. L. 1994. Approaches to reduction of aflatoxins in foods and feeds. In *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance* (D. L. Eaton, and J. D. Groopman, Eds.), pp. 383-406. Academic Press, New York, NY.
- Phillips, T. D., Sarr, A. B., and Grant, P. G. 1995. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. *Natural Toxins* 3, 204-213.
- Phillips, T. D. 1999. Dietary clay in the chemoprevention of aflatoxin-induced disease. *Toxicol. Sci.* 52, 118-126.
- Pimpukdee, k. 2000. In vitro and in vivo characterization of potential enterosorbents for aflatoxin B1. Ph.D. Dissertation, pp. 1-152. Texas A&M University, College Station, TX.

- Pimpukdee, K., Ake, C., Lemke, S. L., Mayura, K., and Phillips, T. D. 2000. High affinity sorption of aflatoxin B₁ by hectorite clay. *Toxicological Sciences*. 54 (1), 143.
- Smith, J. E., and Ross, J. E. 1991. The toxigenic *Aspergilli*. In *Mycotoxins and Animal Food* (J. E. Smith, and R. S. Handerson, Eds.), pp. 101-118. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Smith, J. W., and Hamilton, P. B. 1970. Aflatoxicosis in the broiler chicken. *Poultry Sci.* 49, 207-215.
- Yoothong, K., Moncharoen, L., Vijarnson, P, and Eswaran, H. 1997. Clay mineralogy of Thai soils. *Appli. Clay Sci.* 11: 357-371.

5. Output ที่ได้จากโครงการ

ผลงานวิจัยคาดว่าจะตีพิมพ์ในวารสารต่างๆ ดังนี้ ในปี พ.ศ. 2550

- 1) *Mycotoxins*
- 2) *Animal Feed Science and Technology*

6. กิจกรรมอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

6.1 การเสนอผลงานอื่นๆ

- 1) Tengjaroenkul, U. and Tengjaroenkul, B. 2006. Adsorption characteristics of aflatoxin B₁ on commercial bentonite, The 32th Annual Conference of the Science and Technology of Thailand, October 2006. Bangkok, Thailand.
- 2) Tengjaroenkul, U., Pimpukdee K. and Tengjaroenkul, B. 2006. Adsorption study for the detoxification of aflatoxin B₁ by using different mineral clays in Thailand, The 2nd International Symposium on Mycotoxicology, December 2006, Bangkok, Thailand. (Full paper submitted to *Mycotoxins*)

6.2 การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ

ได้พบปะและแลกเปลี่ยนข้อมูล เทคนิคการวิจัยกับนักวิจัยอาวุโสในสาขาที่เกี่ยวข้องกับการใช้สารดูดซับสารพิษทั้งจากมหาวิทยาลัย หน่วยงานของรัฐและบริษัทเอกชนที่เกี่ยวข้อง

7. ปัญหาและอุปสรรค

การหาแหล่งสารดูดซับตามเหมืองดินต่างๆ มีข้อมูลน้อยมาก หลายแหล่งเป็นเขตสัมปทาน ทำให้การได้ตัวอย่างมาศึกษาค่อนข้างลำบาก และการเตรียมดินเพื่อศึกษาต้องใช้เทคนิคและอุปกรณ์ทางธรณีวิทยาที่มีความละเอียด ทำให้การศึกษาเชิงสำรวจต้องใช้เวลามาก การศึกษาทาง in vivo มีหลายปัจจัยเกี่ยวข้องทำให้ใช้เวลามาก

8. ความเห็นและข้อเสนอแนะ

การสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยเป็นสิ่งที่จำเป็นต่อโครงการวิจัยของประเทศ เป็นการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่ เพื่อการใช้ประโยชน์สูงสุดจากทรัพยากรภายในประเทศและทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศ