บทที่ 2

วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แมลง

แมลงจัดอยู่ในอาณาจักรสัตว์ อยู่ในไฟลัม (phylum) อาโทรโปดา (Arthropoda) และคลาส (class) อินเซ็คตา (insecta) มีลักษณะสำคัญ คือ ลำตัวเป็นข้อปล้อง แบ่งเป็น 2 ส่วน หรือ 3 ส่วน อย่างเห็นได้ชัดเจน ลำตัวซีกซ้ายและซีกขวาเหมือนและเท่ากัน มีเปลือกหุ้มลำตัวประกอบด้วยสารไคติน อวัยวะภายในมีทางเดินอาหารเป็นท่อยาวจากปากไปถึงทวารหนัก ระบบเลือดเป็นแบบเปิดมีท่อเลือดอยู่ทางด้านหลังเหนือระบบทางเดินอาหาร ระบบประสาทประกอบด้วยสมองซึ่งอยู่เหนือท่ออาหาร มีเส้นประสาทใหญ่หนึ่งคู่ต่อมาจากสมอง ซึ่งรวมตัวเป็นระยะๆ เกิดเป็นปมประสาท เส้นประสาทนี้วางทอดนอนอยู่ด้านล่างของลำตัวใต้ท่ออาหาร กล้ามเนื้อตามลำตัวเป็นกล้ามเนื้อเรียบ ระบบขับถ่ายหรือท่อขับถ่ายของเสียอยู่ติดกับท่ออาหาร ทำหน้าที่ดูดซึมของเสียจากภายในลำตัวเข้ามาแล้วออกไปทางทวารหนัก ระบบหายใจเป็นแบบใช้เหงือก ใช้ท่ออาหารหรือใช้รูหายใจ (กัณฑ์วีร์ วิวัฒน์พาณิชย์, 2542) ชื่อสามัญ ชื่อวิทยาศาสตร์ และระยะเวลาที่บริโภคของแมลงที่นิยมบริโภคบางชนิดแสดงในตารางที่ 1

การบริโภคแมลงอาจบริโภคโดยทำให้สุกก่อน หรือบริโภคสดๆ ในการทำให้สุกนั้นแมลงจะผ่านกระบวนการให้ความร้อน เช่น การนำแมลงไปย่างไฟ คั่ว ทอด นึ่ง เป็นต้น ทำให้อัตราเสี่ยงที่เกิดจากสารพิษหรือเชื้อโรคลดน้อยลง ดังตารางที่ 2 (อุษา กลิ่นหอม, ชูศรี ราศรีรัตนะ และศุภรัตน์ จิตต์จำนง, 2528) และส่วนของแมลงที่บริโภคจะแตกต่างกัน เนื่องจากความแข็งของปีก หัว และขา แตกต่างกัน อวัยวะส่วนที่แข็งเกินไปทำให้บริโภคไม่สะดวก เช่น ส่วนของหัวที่แข็งแหลม ปีกที่แข็งเกินไป หรือส่วนขาที่มีหนาม จะเด็ดทิ้ง และบริโภคเฉพาะลำตัวที่มีแต่เนื้อ สำหรับแมลงขนาดเล็ก ซึ่งปีกและขาไม่แข็งเกินไปก็สามารถบริโภคได้ทั้งตัว เช่น ตั๊กแตน แมลงกระชอน จิโปม กุดจี่ จิ้งหรีด เป็นต้น ปีกและขาของแมลงมีความกรอบและมันทำให้รสชาติน่ารับประทาน (กัณฑ์วีร์ วิวัฒน์พาณิชย์, 2542)

ตารางที่ 1 แมลงที่นิยมบริโภคบางชนิด และช่วงเวลาที่บริโภค (พงศ์ธร สังข์เผือก และประภาศรี ภูวเสถียร, 1983)

ชื่อแมลง	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ช่วงเวลาที่บริโภค
แมลงกระชอน	Mole cricket	*Gryllotalpa africana*	พฤษภาคม – มิถุนายน
แมลงกินูน	Scarab beetle	*Holotrichia* sp.	เมษายน – พฤษภาคม
แมลงกุดจี่	Buffalo Dung beetle	*Onitis* sp. & *Copris* sp.	มีนาคม – พฤษภาคม
จิโปม	Short tailed cricket	*Brachytrupes* sp.	พฤษภาคม – ตุลาคม
จิ้งหรีด	Cricket, House cricket	*Acheta testacea* Walker	เมษายน – มิถุนายน
แมลงดานา	Giant water-bug	*Lethocerus indicus* Lep.-Serv.	เมษายน – สิงหาคม
ดักแด้ไหม	Silk worm pupae	*Bombyx mori*	พฤษภาคม – สิงหาคม
ตั๊กแตนเล็ก	Small Locust	*Oxya japonica* (Thunb.)	เมษายน – มิถุนายน
ตั๊กแตนใหญ่	Locust	*Cyrtacanthacris tatarica*	เมษายน – สิงหาคม
แมลงตับเต่า	True water beetle	*Cybister Limbatus* F.	เมษายน – สิงหาคม
มดแดง	Red ant	*Oecophylla smaragdina* Fabr.	เมษายน – กรกฎาคม
ตัวเป้ง	Red ant : young female	*Oecophylla smaragdina* Fabr.	มิถุนายน – กรกฎาคม
ไข่มดแดง	Red ant's egg	*Oecophylla smaragdina* Fabr.	มีนาคม – พฤษภาคม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 2 ปริมาณไฮโดรไซยาไนด์ และเซฟวิน (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัวอย่าง 100 กรัม) ในแมลงบางชนิดที่ชาวอีสานนิยมบริโภค (อุษา กลิ่นหอม และคณะ, 2528)

ชื่อแมลง	ไฮโดรไซยาไนด์		เซฟวิน	
	สด	ปรุงเป็นอาหาร	สด	ปรุงเป็นอาหาร
จิ้งหรีด	0	0	0	0
จิหล่อ	0	0	0	0
แมลงกระชอน	0.541	0.190	Trace	Trace
แมลงตับเต่า	0	0	0	0
แมลงเหนี่ยง	0.211	0.124	Trace	Trace
แมลงกินูนเขียว	0.317	0.124	Trace	Trace
แมลงกินูนขาว	0	0	0	0
แมลงกินูนดำ	0.075	0.032	0	0
แมลงกินูนเล็ก	0	0	0	0
กุดจี่ใหญ่	0.302	0.174	0	0
กุดจี่	0.361	0.196	0	0
กุดจี่เบ้า	0	0	0	0
แม่เป้ง	0	0	0	0
จิโปม	0	0	0	0
แมลงมัน	0	0	0	0
แมลงดานา	0	0	0	0
แมลงระงำ	0	0	0	0
แมลงกอก	0.571	0.041	0	0

0 = วัดค่าไม่ได้ Trace = น้อยกว่า 0.3 ppm.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

แมลงเป็นแหล่งอาหารโปรตีน ไขมัน และธาตุอาหารอื่นๆ เช่นเดียวกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์ (อุดมพร แพ่งนคร, 2534) แต่เป็นแหล่งโปรตีนที่มีคุณภาพต่ำ เนื่องจากผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนทริพโตเฟน และคำนวณเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตรฐานของ FAO ในแมลง 8 ชนิด ที่ศึกษา พบว่าแมลงทุกชนิดมีค่าต่ำกว่า 100 ดังนี้ 65.7 ในมดเป้ง 75.0 ในแมลงดานา 75.7 ในแมลงตับเต่า 85.7 ในแมลงกุดจี่เล็ก 85.7 ในแมลงกระชอน 88.6 ในแมลงกุดจี่กลาง 92.8 ในแมลงจิโปม และ 95.7 ในแมลงกินูนเล็ก และค่าร้อยละของการย่อยโปรตีน (% protein digestibility) ในแมลงทุกชนิดพบว่า มีค่าต่ำกว่า 100 ดังนี้คือ 77.2 ในมดเป้ง 82.1 ในแมลงดานา 84.4 ในแมลงกุดจี่เล็ก 86.2 ในแมลงตับเต่า 87.9 ในแมลงกระชอน 88.4 ในแมลงกินูนเล็ก 88.5 ในแมลงกุดจี่กลาง และ 90.6 ในแมลงจิโปม (สุทธิ ภมรสมิต, 2528) ซึ่งคุณค่าอาหารของแมลงชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 3 และ 4 ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดในแมลงจิโปม และแมลงกระชอน แสดงดังตารางที่ 5 (สุเทพ อุสาหะ และคณะ, 2537)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารอาหารในแมลงชนิดต่างๆ (กรัมต่อน้ำหนักแมลงสด 100 กรัม)
(พงศ์ธร สังข์เผือก และประภาศรี ภูวเสถียร, 1983)

ชื่อแมลง	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	สารประกอบจำพวกแป้งและน้ำตาล	กากใย	เถ้า	พลังงาน (กิโลแคลอรี่)
แมลงกระชอน	71.2	15.4	6.3	1.7	2.7	2.7	125.1
แมลงกินูน	74.1	13.4	1.4	2.9	5.0	3.2	77.8
แมลงกุดจี่	68.4	17.2	4.3	0.2	7.0	2.9	108.3
จิโปม	73.3	12.8	5.7	2.6	3.1	2.5	112.9
จิ้งหรีด	71.4	12.9	5.5	5.1	3.0	2.1	121.5
แมลงดานา	63.2	19.8	8.3	2.1	5.0	1.6	162.3
ดักแด้ไหม	80.6	9.6	5.6	2.3	1.0	0.9	98.0
ตั๊กแตนเล็ก	61.1	20.6	6.1	3.9	4.0	4.3	152.9
ตั๊กแตนใหญ่	76.7	14.3	3.3	2.2	2.4	1.1	95.7
แมลงตับเต่า	61.2	21.0	7.1	0.3	7.6	2.8	149.1
มดแดง	74.0	13.9	3.5	2.9	4.0	1.7	98.7
ตัวเป้ง	66.1	12.7	12.5	4.9	2.8	1.0	182.9
ไข่มดแดง	81.9	7.0	3.2	6.5	0.8	0.6	82.8

ตารางที่ 4 ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ในแมลงชนิดต่างๆ (มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแมลงสด 100 กรัม) (**พงศ์ธร สังข์เผือก และประภาศรี ภูวเสถียร**, 1983)

ชื่อแมลง	เกลือแร่					วิตามิน		
	แคลเซียม	ฟอสฟอรัส	เหล็ก	โซเดียม	โพแทสเซียม	บี 1	บี 2	ไนอะซีน
แมลงกระชอน	75.7	254.1	41.7	97.0	267.8	0.20	1.89	4.81
แมลงกินูน	22.6	207.0	6.0	464.8	462.7	0.29	1.19	3.99
แมลงกุดจี่	30.9	157.9	7.7	292.6	287.6	0.19	1.09	3.44
จิโปม	88.2	163.4	14.4	56.5	276.6	0.26	1.78	2.31
จิ้งหรีด	75.8	185.3	9.5	86.7	305.5	0.36	1.91	3.10
แมลงดานา	43.5	225.5	13.6	83.5	191.7	0.09	1.50	3.90
ดักแด้ไหม	41.7	155.4	1.8	13.6	138.7	0.12	1.05	0.86
ตั๊กแตนเล็ก	35.2	238.4	5.0	266.8	237.4	0.23	1.86	4.64
ตั๊กแตนใหญ่	27.5	150.2	3.0	32.0	217.4	0.19	0.57	6.67
แมลงตับเต่า	36.7	204.8	6.5	61.5	197.9	0.31	3.51	6.85
มดแดง	47.8	206.0	5.7	56.2	221.8	0.24	0.88	3.38
ตัวเป้ง	23.1	172.7	3.0	50.0	168.1	0.33	0.71	3.32
ไข่มดแดง	8.4	113.4	4.1	28.0	96.3	0.15	0.17	0.92

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ในแมลงจิโปม และแมลงกระซอน (กรัมต่อน้ำหนักแมลงอบแห้ง 100 กรัม) (**สุเทพ อุสาหะ และคณะ**, 2537)

กรดอะมิโน	แมลงจิโปม	แมลงกระซอน
1. กรดกลูตามิก (glutamic acid)	5.310	7.534
2. อะลานีน (alanine)	4.804	6.134
3. กรดแอสพาติก (aspartic acid)	3.443	5.055
4. ลูซีน (leucine)	3.172	4.401
5. ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine)	3.001	3.916
6. ไกลซีน (glycine)	2.647	2.964
7. อาร์จินีน (arginine)	2.605	3.311
8. โพรลีน (proline)	2.600	3.125
9. วาลีน (valine)	2.590	3.166
10. ไลซีน (lysine)	2.384	3.154
11. ไทโรซีน (tyrosine)	2.231	2.537
12. ไอโซลูซีน (isoleucine)	1.700	2.400
13. เซอร์รีน (serine)	1.682	2.408
14. ทรีโอนีน (treonine)	1.642	2.259
15. ฮิสทิดีน (histidine)	1.129	1.636
16. เมไทโอนีน (methionine)	0.574	0.852
17. ซิสตีน (cystine)	ตรวจไม่พบ	ตรวจไม่พบ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มะเร็งกระเพาะอาหาร

อุบัติการณ์การเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารยังคงเป็นสาเหตุการตายที่สำคัญ ซึ่งสาเหตุของการเกิดยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกิดจากปัจจัยทางพันธุกรรม สิ่งแวดล้อม การติดเชื้อ และปัจจัยเสริมอื่นๆ ร่วมกันในการเกิดมะเร็ง โดยอุบัติการณ์นี้พบมากที่สุดในประเทศญี่ปุ่น คือ 64.3 คนต่อแสนคน และประเทศที่อยู่ในกลุ่มที่มีอัตราการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารสูง ได้แก่ ประเทศเกาหลี เวียดนาม ยุโรปตะวันออก บางส่วนของละตินอเมริกา อัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารต่ำสุดในประเทศอินเดีย คือพบเพียง 0.8 คนต่อแสนคน สำหรับประเทศไทยในปี 2535 – 2537 มะเร็งกระเพาะอาหารเป็นมะเร็งที่พบบ่อยอันดับ 6 ในชายไทย ซึ่งมีอุบัติการณ์การเป็นมะเร็ง 4.9 คนต่อแสนคน และเป็นอันดับ 9 ในหญิงไทย ซึ่งมีอุบัติการณ์การเป็นมะเร็ง 3.0 คนต่อแสนคน พบสูงสุดที่จังหวัดเชียงใหม่ 6.5 คนต่อแสนคนของทั้งสองเพศ 7.9 คนในเพศชาย และ 5.2 คนในเพศหญิง พบต่ำสุดในภาคใต้ที่จังหวัดสงขลา คือ 1.7 คนต่อแสนคนของทั้งสองเพศ 2.2 ในเพศชาย และ 1.3 ในเพศหญิง ซึ่งจะเห็นได้ว่าพบในเพศชายมากกว่าหญิง (Khuhaprema, Chindavijak และ Martin, 1994)

ปัจจัยเสี่ยงของโรคมะเร็งกระเพาะอาหาร

1. อายุ ในประเทศไทยอุบัติการณ์ของมะเร็งกระเพาะอาหารเริ่มต้นมากที่อายุ 35 ปี ขึ้นไป อัตรา 2 – 44.6 คนต่อแสนคนในเพศชายอายุ 75 ปีขึ้นไป และ 1.8 – 16.5 คนต่อแสนคนในเพศหญิงอายุ 75 ปีขึ้นไป (Khuhaprema และคณะ, 1994)

2. เพศ เพศชายเป็นมากกว่าเพศหญิง (Charnley, Tannenbaum และ Correa, 1982)

3. เชื้อชาติ พบว่าคนผิวดำมีโอกาสเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมากกว่าคนผิวขาว (ภาษิต พาณิชยานนท์ และ ณรงค์ ไวท์ยางกูร, 2523; Harington, 1981)

4. กรรมพันธุ์ เนื่องจากพบว่าหากบิดาหรือมารดาเป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร รุ่นลูกจะมีความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น 2 – 3 เท่า นอกจากนี้ยังสัมพันธ์กับหมู่เลือด โดยการศึกษามุ่งให้ความสนใจไปยังคนที่มีเลือดหมู่เอที่มีปัญหาแผลในกระเพาะอาหาร พบว่าคนที่มีเลือดหมู่เอจะเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมากกว่าคนทั่วไปถึงร้อยละ 20 ซึ่งพบมากในคนญี่ปุ่น และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีการตัดกระเพาะอาหารเนื่องจากแผลในกระเพาะอาหาร (American Cancer Society, 1982)

5. อาหาร โดยสารเคมีและสารพิษในอาหารจัดเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร เนื่องจากกระเพาะอาหารเป็นที่เก็บพักอาหาร ดังนั้นอาหารจึงมีเวลาสัมผัสกระเพาะอาหารเป็นเวลานานพอที่สารเคมี หรือสารพิษในอาหารสามารถทำอันตรายต่อเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารได้ แต่อันตรายต่อเซลล์จากสารก่อมะเร็งจะแตกต่างกันในแต่ละกลุ่มประชากร จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าอัตราการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารมีสูงในประเทศแถบเอเชีย และอเมริกาใต้ โดย

เฉพาะประเทศญี่ปุ่น เนื่องมาจากการปรุงอาหารมักใช้วิธีปิ้ง ย่าง รมควัน หรือหมักดอง อาหารรสเค็มจัด เผ็ดจัด (Weisburger Wynder และ Horn, 1982) รวมถึงการรับประทานอาหารเนื้อสัตว์ที่มีไนไตรท อาหารทอดต่างๆ (Higginson, 1966) ดังจะเห็นได้จากการศึกษาผลของอาหารต่อการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารในคนที่มีประวัติการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร 246 คน พบว่า การรับประทานอาหารที่มีไนเตรตหรือไนไตรทมากขึ้น เพิ่มความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร (Risch และคณะ, 1985) และการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่าบริเวณที่มีปริมาณไนเตรตในน้ำดื่มสูงจะมีอัตราการตายจากมะเร็งกระเพาะอาหารสูงด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ที่มีปริมาณไนเตรตในน้ำดื่มต่ำกว่า (Hill, Hawksworth และ Tattersall, 1973) ดังนั้น การลดไนไตรทในผลิตภัณฑ์เนื้อและเนื้อหมัก เป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้ลดปริมาณสารประกอบไนโตรโซในอาหารลงได้ และทำให้การเกิดสารประกอบไนโตรโซในกระเพาะอาหารลดลงด้วย ดังนั้น จะเห็นได้ว่ามะเร็งกระเพาะอาหารมีความสัมพันธ์อย่างมากกับชนิดของอาหารที่บริโภค (Gonzalez, 1994; Lopez-Carrillo และคณะ, 1999)

6. การสูบบุหรี่ เนื่องจากในควันบุหรี่อุดมไปด้วยสารพิษนานาชนิด และที่สำคัญคือ สารพีเอเอช ไนโตรโซ นอร์นิโคติน หรือสารประกอบที่สามารถเกิดปฏิกิริยาไนโตรเซชันได้ในกระเพาะอาหาร และเมื่อทำปฏิกิริยากับกรดไนตรัสจะทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ที่มีฤทธิ์โดยตรง โดยทำให้เกิดการกลายพันธุ์จากการเลื่อนของเบสในสายดีเอ็นเอ ซึ่งสารนี้อาจเป็นสารประกอบไนโตรอะโรมาติก (nitro-aromatic compounds) (Pelroy และ Stewart, 1981) ทำให้เกิดมะเร็งที่อวัยวะต่างๆ

7. การติดเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งกลไกที่ทำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหารคาดว่าเกิดจากการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร (gastric atrophy) จากการติดเชื้อและตามมาด้วยการเจริญที่ผิดปกติของเซลล์กระเพาะอาหาร (intestinal metaplasia และ dysplasia) และเกิดเป็นมะเร็งในที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่ามีการอักเสบเรื้อรังของกระเพาะอาหารก่อนที่จะมีการเจริญที่ผิดปกติของเซลล์กระเพาะอาหาร ซึ่งพบได้บ่อยในผู้ติดเชื้อรวมทั้งผู้ป่วยมะเร็งกระเพาะอาหารด้วย (กิติ จินดาวิจักษณ์, 2543)

8. โรคที่เกี่ยวข้องกับกระเพาะอาหาร ได้แก่ การมีภาวะโลหิตจางชนิดเพอร์นิเชียส (pernicious anemia) การขาดเหล็ก เนื่องจากการขาดเหล็กจะพบอาการที่มีกรดเกลือต่ำ หรือไม่มีกรดเกลือในกระเพาะอาหาร และสภาวะนี้ทำให้แบคทีเรียเจริญเติบโตได้ดีในกระเพาะอาหาร ทำให้มีการเปลี่ยนเกลือไนเตรตไปเป็นไนไตรทซึ่งเป็นสารตั้งต้นหนึ่งของไนโตรซามีนเกิดขึ้นได้ ซึ่งส่งผลให้เพิ่มโอกาสที่สารก่อมะเร็งจะเกิดขึ้นได้ (Wynder และคณะ, 1963; Bjelke, 1974; Correa และคณะ, 1976) นอกจากนี้การมีแผลในกระเพาะอาหารเรื้อรัง (chronic gastric ulcer) คนที่เคยผ่าตัดกระเพาะอาหาร หรือกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรัง (chronic gastritis) ก็อาจเปลี่ยนไปเป็น

เซลล์มะเร็งได้เช่นกัน ทั้งนี้เนื่องจากกระเพาะอาหารอักเสบเรื้อรังและการแบ่งตัวมากผิดปกติของเซลล์เยื่อบุกระเพาะอาหารและลำไส้ อาจเป็นสาเหตุเบื้องต้นของการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร หรือมีแนวโน้มที่จะเกิดเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารได้ เนื่องจากมะเร็งกระเพาะอาหารเริ่มจากเซลล์เริ่มต้นที่ผิดปกติซึ่งเกิดจากเซลล์ปกติทั่วไป (Charnley และคณะ, 1982) อย่างไรก็ตามจุดกำเนิดของเซลล์มะเร็งที่สำคัญอีกประการคือ การสัมผัสสารที่สามารถทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรังจนเกิดการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร (chronic atrophic gastritis หรือ CAG) และการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์บุผนังลำไส้ (intestinal metaplasia หรือ IM) ทำให้เกิดเป็นรอยโรคขึ้นก่อนเป็นมะเร็ง (precancerous lesions) และการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหารสามารถเปลี่ยนไปเป็นเซลล์ที่ผิดปกติได้ (Correa, 1980) ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมกับการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร และการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์บุผนังลำไส้มีมากกว่า ความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งแวดล้อมกับการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร เพราะอุบัติการณ์การฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร และการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์บุผนังลำไส้ในประชากรมีสูงกว่า การเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร และระยะเวลาตั้งแต่สัมผัสสารเคมีจนเกิดเป็นรอยโรคของการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร และการแบ่งตัวที่ผิดปกติของเซลล์บุผนังลำไส้สั้นกว่าการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร และพบว่าการแบ่งตัวของเซลล์ลำไส้ที่ผิดปกติจนกระทั่งเกิดเป็นมะเร็งกระเพาะอาหาร สามารถพบได้ทั่วไปในพื้นที่ที่มีความเสี่ยงสูงในการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร (Munoz และ Connelly, 1971) นอกจากนี้พบว่า คนที่มีสุขภาพช่องปากไม่ดี และสูญเสียฟันจะสัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร เช่นในประเทศฮอลแลนด์ อังกฤษ และสหรัฐอเมริกา แต่ความสัมพันธ์นี้ไม่พบในญี่ปุ่นและฮาวาย (Hirayama, 1971; Haenszel และคณะ, 1972) ปัจจัยนี้สะท้อนให้เห็นว่าอาจเกิดจากการขาดวิตามิน เศรษฐานะทางสังคมต่ำ ซึ่งมีผลต่อการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหาร (Wynder และคณะ, 1963) หรือเหนี่ยวนำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหารจากการเพิ่มการเปลี่ยนไนเตรตไปเป็นไนไตรทในช่องปาก และพบว่าการตายจากมะเร็งกระเพาะอาหารไม่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งที่ลำไส้เล็ก ทวารหนัก และเต้านม แต่สัมพันธ์กับการเกิดมะเร็งที่ไต (Jansson, Seibert และ Speer, 1975) และกระเพาะปัสสาวะ (Winkelstein และคณะ, 1977)

9. การได้รับสารเคมีจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น ในแคนาดา (Harris, Stavraky และ Fowler, 1979) อังกฤษ (Rushton และ Alderson, 1981) และสหรัฐอเมริกา (Thomas และคณะ, 1982) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของโซเวียต พบว่า คนงานชายในโรงงานกลั่นน้ำมัน และคนงานในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตยางป่วยเป็นโรคมะเร็งกระเพาะอาหารอย่างมาก เนื่องจากสารพีเอเอช คนงานญี่ปุ่นในโรงงานผลิตโลหะ (Hass และ Schottenfeld, 1978) ขุดแร่หรือขุดหินล้วนมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารซึ่งอาจเนื่องมาจากความยากจนด้วย การสัมผัส

แอสเบสทอส (asbestos) จะเพิ่มอุบัติการณ์การเป็นมะเร็ง 3 เท่า (Viadana, Bross และ Houten, 1976)

10. คนที่มีเศรษฐานะทางสังคมต่ำ (ภาษิต พาณิชยานนท์ และณรงค์ ไวท์ยางกูร, 2523) จากสถิติพบว่ามะเร็งกระเพาะอาหารจะพบในคนเมืองหลวงมากกว่าคนชนบท และในเมืองหลวงนั้นพบมากในคนที่มีฐานะยากจน หรือคนงานมากกว่าคนที่มีฐานะดี เช่น ในอังกฤษและเวลส์ (Doll, 1956) สหรัฐอเมริกา (Wynder และคณะ, 1963) และญี่ปุ่น (American Cancer Society, 1982) เนื่องมาจากรูปแบบของพฤติกรรมการรับประทานอาหารกำลังประสบปัญหาในกลุ่มชนบางกลุ่มของไทย ทำให้ขาดโปรตีนและพลังงาน รวมถึงการขาดวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งจะมีผลต่อการทำงานของระบบภูมิต้านทานและการกำจัดสารพิษออกจากร่างกาย (แก้ว กังสดาลอำไพ, 2529)

เกลือไนเตรตและเกลือไนไตรท

สารเคมีทั้งสองชนิดนี้นิยมใส่ลงในอาหารเนื้อสัตว์หมัก เช่น ไส้กรอก แฮม แหนม เบคอน ปลาร้า ปลาส้ม ปลาเจ่า โดยใช้ในรูปของเกลือโพแตสเซียมไนเตรต (ดินประสิว) โซเดียมไนเตรต โพแทสเซียมไนไตรท และโซเดียมไนไตรท (สุนทรี สิงหบุตรา, 2541) เพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ ดังนี้

1) ช่วยรักษาสีของเนื้อสัตว์ให้มีสีแดงน่ารับประทาน

สีแดงเกิดขึ้นเนื่องจากสารไนโตรซิลไมโอโกลบิน (nitrosylmyoglobin) และไนโตรซิลฮีโมโกลบิน (nitrosylhaemoglobin) สารทั้งสองเกิดขึ้นเมื่อไนไตรทถูกรีดิวส์ไปเป็นไนตริกออกไซด์ แล้วไปทำปฏิกิริยากับไมโอโกลบิน (myoglobin) และฮีโมโกลบิน (haemoglobin)

2) ให้กลิ่นเฉพาะกับผลิตภัณฑ์เนื้อ เช่น ไส้กรอก แหนม เบคอน และแฮม เป็นต้น

3) เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium botulinum* ซึ่งจะสร้างสารพิษที่ร้ายแรงมากชื่อ บอททูลิน (botulin) โดยเกลือไนไตรทมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีกว่าเกลือไนเตรต ซึ่งข้อกำหนดในการเติมไนไตรทและไนเตรตลงในอาหารคือ อนุญาตให้ใช้เกลือไนไตรทได้ไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน เกลือไนเตรตไม่เกิน 500 ส่วนในล้านส่วน หรือถ้าใช้ผสมกันต้องรวมกันแล้วไม่เกิน 125 ส่วนในล้านส่วน (นิธิยา รัตนาปนนท์ และวิบูลย์ รัตนาปนนท์, 2543)

ปริมาณไนเตรตและไนไตรทในอาหาร

ปริมาณไนเตรตพบปริมาณสูงสุดในแฮม คืออยู่ระหว่าง 370 ถึง 511 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และพบว่าเนื้อสัตว์จะมีไนเตรตอยู่ระหว่าง 0 ถึง 3,467 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และไนไตรท 0 ถึง 252 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับปริมาณไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์เนื้อ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ทำการวิเคราะห์ไนโตรซามีนในผลิตภัณฑ์เนื้อที่มีการเติมดินประสิว และใช้เครื่องเทศในการปรุงรสจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ แหนม หมูยอ ไส้กรอก แฮม เนื้อสวรรค์ เนื้อเค็ม กุนเชียง หมูหยอง หมูแผ่น และเนื้อเปื่อย รวม 103 ตัวอย่าง พบไนโตรซามีนร้อยละ 92.2 พบปริมาณสูงสุดในเนื้อแดดเดียว 440.49 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และผลิตภัณฑ์ที่ตรวจพบทุกอย่าง ได้แก่ ไส้กรอก หมูยอ และแหนม มีค่าเฉลี่ยของไนโตรซามีนทั้งหมดที่พบเท่ากับ 49.22 28.39 และ 24.71 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม, กรมควบคุมมลพิษ, 2541)

นอกจากเนื้อสัตว์แปรรูปต่างๆ ที่พบไนเตรตและไนไตรทสูง พบว่าผักหลายชนิดมีไนเตรตสูง เช่น ผักคะน้า ผักกาดขาว ผักกาดหอม และผักบุ้งจีน ซึ่งมาจากการใช้ปุ๋ยเคมี เช่น ปุ๋ยไนเตรต ปุ๋ยยูเรีย ในปริมาณมาก (สุนทรี สิงหบุตรา, 2541) ปริมาณไนเตรตจะแตกต่างกันระหว่างชนิดของผัก และปัจจัยอื่นๆ เช่น อุณหภูมิ แสงแดด ความชื้นในดิน ระดับไนเตรตในดิน ซึ่งพบว่าไนเตรตในผักจะอยู่ในช่วง 0.9 ถึง 2,165 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ไนไตรทพบน้อยกว่า 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในระยะที่พืชผักเหล่านี้ถูกเก็บไว้เพื่อรอการบริโภค ไนเตรตจะถูกเปลี่ยนเป็นไนไตรทโดยเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่อยู่บนใบผัก แหล่งที่มนุษย์ได้รับไนเตรตที่สำคัญอีกแหล่งคือ น้ำ โดยไนเตรตในน้ำมีตั้งแต่ไม่พบเลย จนถึงสูงกว่า 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ในแหล่งน้ำของชุมชนหรือน้ำประปามักพบไนเตรตต่ำกว่า 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งถ้าประมาณว่าคนแต่ละคนดื่มน้ำวันละ 2 ลิตร จะได้รับไนเตรตในแต่ละวันประมาณ น้อยกว่า 20 มิลลิกรัม (กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม, กรมควบคุมมลพิษ, 2541) การได้รับไนเตรตมีความสำคัญมากกว่าการได้รับไนไตรท เนื่องจากไนไตรทไม่คงตัวในสภาวะแวดล้อมทั่วไป ดังนั้นการได้รับไนเตรตจึงมีบทบาทสำคัญต่อปริมาณไนไตรทที่เกิดขึ้นในทางเดินอาหาร (National Academy of science, 1981)

ปฏิกิริยาการเปลี่ยนไนเตรตเป็นไนไตรทของแบคทีเรีย (ไมตรี สุทธจิตต์, 2529) มีดังนี้

$$NO_3^- + NADPH,H^+ \xrightarrow{\text{Nitrate Reductase}} NO_2^- + NADP^+ + H_2O$$

ปัญหาสำคัญของเกลือไนไตรทและไนเตรตที่มีผลต่อการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ คือ เกลือทั้งสองสามารถรวมตัวกับองค์ประกอบของอาหารที่มีเอมีน (amine) หรือเอไมด์ (amide) ในสภาวะที่พอเหมาะด้วยปฏิกิริยาไนโตรเซชัน เกิดเป็นสารประกอบไนโตรโซ (nitroso compound) อยู่ในรูปของไนโตรซามีน (nitrosamine) หรือไนโตรซาไมด์ (nitrosamide) ซึ่งสารประกอบไนโตรโซ

ที่เกิดขึ้นจัดว่าเป็นสารก่อกลายพันธุ์ และก่อให้เกิดมะเร็งได้ในที่สุด โดยเกลือไนไตรทที่มากเกินพอที่ใช้ในการป้องกันเชื้อ *Clostridium botulinum* สามารถรวมตัวกับเอมีน เกิดเป็นไนโตรซามีนได้โดยตรง สำหรับเกลือไนเตรตที่รู้จักกันดีในรูปของปุ๋ยเคมีจะไม่รวมกับเอมีนเกิดเป็นสารพิษโดยตรง แต่สารนี้ในปริมาณที่ไม่ก่อพิษเฉียบพลัน เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมเข้าระบบเลือดและเข้าสู่ระบบการขับน้ำลายในปาก ซึ่งแบคทีเรียที่อยู่ในปากคนสามารถเปลี่ยนเกลือไนเตรตไปเป็นเกลือไนไตรทในน้ำลาย เมื่อถูกกลืนลงกระเพาะอาหารสามารถรวมตัวกับเอมีนเกิดเป็นสารพิษได้ (Mirvish, 1975)

นอกจากนี้ ปัญหาสำคัญที่พบจากการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในยาและอาหารคือ โดยทั่วไปยาและอาหาร ได้แก่ ยาไทยบำรุงเลือด สมุนไพรไทย ยาตำรับไทย เต้าเจี้ยวและซีอิ๊ว สีผสมอาหารที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาที่เป็นสีสังเคราะห์ กลิ่นรสเลียนแบบธรรมชาติ เป็นต้น จะไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในตัวเอง แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับเกลือไนไตรทมักจะเกิดสารก่อกลายพันธุ์ขึ้น (แก้ว กังสดาลอำไพ, 2537) และเนื่องจากอาหารที่มีไนไตรท ได้แก่ หมูแหนม แฮม ไส้กรอก เป็นอาหารโปรตีนถูกย่อยที่กระเพาะอาหาร นอกเหนือไปจากเหตุผลที่ว่ากระเพาะอาหารเป็นที่แรกในการเก็บอาหารก่อนถูกย่อย ดังนั้นจึงอธิบายการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารจากไนไตรทและไนเตรตได้ 2 กระบวนการ (Mirvish, 1983) คือ

1) เริ่มจากมีการฝ่อลีบของเซลล์กระเพาะอาหาร ทำให้การสร้างกรดในกระเพาะอาหารลดลง ทำให้ความเป็นกรดในกระเพาะอาหารลดลง แบคทีเรียจึงสามารถเจริญเติบโตได้มากขึ้น และรีดิวส์ไนเตรตที่คนได้รับจากน้ำดื่ม ผักหรือเนื้อสัตว์ที่รับประทานเข้าไปเกิดเป็นไนไตรทได้

2) ไนไตรทที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับสารอาหารโปรตีน ได้แก่ เอมีน (amines) เอไมด์ (amides) และยูเรีย (ureas) เกิดเป็นสารประกอบไนโตรโซ (Correa และคณะ, 1985; Souhami และ Tobias, 1995) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง และอาจทำให้เกิดมะเร็งในคนได้ (Souhami และ Tobias, 1995)

ระดับไนไตรท และไนเตรตในปากและกระเพาะอาหาร

น้ำลายมนุษย์มีไนเตรต และบางส่วนจะถูกรีดิวส์ไปเป็นไนไตรทโดยแบคทีเรียในช่องปาก ซึ่งโดยทั่วไปในช่องปากมนุษย์จะมีไนไตรท 6 – 10 มิลลิกรัมต่อน้ำลาย 1 ลิตร ไนเตรต 15 – 35 มิลลิกรัมต่อน้ำลาย 1 ลิตร (Tannenbaum และคณะ, 1974) โดยพบว่าระดับไนเตรตและไนไตรทจะสูงในเด็กอายุต่ำกว่า 15 ปี และในเพศชายจะมีระดับไนเตรตและไนไตรทสูงกว่าเพศหญิง (Cuello และคณะ, 1976) และในกระเพาะปกติขณะที่กระเพาะอาหารว่างจะพบไนไตรท 0.12 มิลลิกรัมต่อสารคัดหลั่งในกระเพาะอาหาร 1 ลิตร และจะพบมากขึ้นเมื่อค่าพีเอชในกระเพาะ

อาหารเพิ่มขึ้น คือมีค่ามากกว่า 5 เนื่องจากที่ค่านี้ แบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้มากขึ้น ดังนั้น จึงรีดิวส์ไนเตรตไปเป็นไนไตรท (Ruddell และคณะ, 1978) ซึ่งระดับไนไตรทจะพบได้สูงถึง 200 มิลลิกรัมต่อสารคัดหลั่งในกระเพาะอาหาร 1 ลิตร ในบริเวณที่มีอุบัติการณ์ของการเกิดมะเร็งสูงในประเทศโคลัมเบีย (Mirvish, 1983)

สารต้นกำเนิดในการเกิดสารก่อกลายพันธุ์หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท

สารต้นกำเนิดในการเกิดสารก่อกลายพันธุ์สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. สารต้นกำเนิดของสารประกอบไนโตรโซ (nitroso compounds)

สารต้นกำเนิดในการเกิดสารประกอบไนโตรโซ ได้แก่ ไดอัลคิลลามีน (dialkylamines) และไตรอัลคิลลามีน (trialkylamines) ซึ่งรู้จักกันดีว่าเป็นสารต้นกำเนิดในการเกิดไนโตรซามีนในอาหาร พบได้โดยทั่วไปในเนื้อปลา และสามารถเกิดปฏิกิริยาไนโตรเซชันกับไนไตรทในสภาวะกรดของกระเพาะอาหาร เกิดเป็นสารก่อมะเร็งได้ (Mirvish, 1975) สารประกอบไนโตรโซเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่มใหญ่ ประกอบด้วยสารก่อมะเร็งที่มีฤทธิ์แรง เนื่องจากสารกลุ่มนี้จะทำให้เกิดมะเร็ง เมื่อสัตว์ทดลองได้รับสารนี้เข้าสู่ร่างกายปริมาณน้อยๆ ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน ซึ่งคนก็มีรูปแบบการได้รับสารกลุ่มนี้ในลักษณะเดียวกัน ฉะนั้นจึงอาจทำให้คนเป็นมะเร็งได้ เมื่อคนได้รับบ่อยครั้งเป็นเวลานาน (Lijinsky, 1977) โดยทั่วไปสารประกอบไนโตรโซเกิดจากไนตรัสแอนไฮไดรด์ (nitrous anhydride หรือ N_2O_3) ไนตรัสแอซิดิเนียมไอออน (nitrous acidinium ion หรือ $ON\text{-}OH_2^+$) หรือ/และไนโตรโซเนียมไอออน (nitrosonium ion หรือ NO^+) ที่ได้จากเกลือไนไตรท หรือกรดไนตรัส (nitrous acid) ทำปฏิกิริยากับเอมีนทุติยภูมิ หรือตติยภูมิ (secondary หรือ tertiary amines) เอไมด์ทุติยภูมิ หรือตติยภูมิ (secondary หรือ tertiary amides) เปปไทด์ ยูเรีย กัวนิดีน หรือยูรีเทน (urethanes) ภายใต้สภาวะกรดในกระเพาะอาหาร (Kikugawa และ Kato, 1991) ในกรณีของเอมีนส์ เอไมด์ และยูเรีย สารประกอบที่เกิดขึ้น คือ ไนโตรซามีน (N-nitrosamines) ไนโตรซาไมด์ (N-nitrosamides) และไนโตรโซยูเรีย (N-nitrosoureas) ซึ่งกลไกและปริมาณการเกิดสารประกอบไนโตรโซขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างของสารที่มีหมู่อะมิโน และแหล่งของสารที่ให้หมู่ไนโตรรวมไปถึงสภาวะในการเกิดปฏิกิริยาด้วย (Challis, 1985) สารประกอบไนโตรโซสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มตามกลไกในการเป็นสารก่อมะเร็ง ดังนี้

1.1 ไนโตรซามีนเป็นสารก่อมะเร็งที่ไม่มีฤทธิ์โดยตรง จะมีฤทธิ์ก่อมะเร็งได้จำเป็นต้องอาศัยระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ เช่น เอนไซม์ที่อยู่ในตับของมนุษย์ ถ้าปริมาณไนโตรซามีนมีเล็กน้อยเมื่อถูกกระตุ้นให้มีพิษจะถูกทำลายด้วยเอนไซม์อีกกลุ่มในตับอย่างรวดเร็ว แต่ถ้ามีปริมาณมากเช่นในกรณีที่มีการเติมเกลือไนไตรทลงในอาหารเกินกำหนด หรือรับประทานอาหารที่

มีไนไตรทติดต่อกันเป็นเวลานาน ไนโตรซามีนที่เกิดขึ้นก็จะมาก เอนไซม์ในตับทำลายไม่ทันก็จะก่อให้เกิดการเป็นมะเร็งได้

1.2 ไนโตรซาไมด์เป็นสารก่อมะเร็งที่มีฤทธิ์ได้โดยตรงจึงไม่จำเป็นต้องอาศัยระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ ดังนั้นสารนี้ถ้าเกิดที่กระเพาะอาหารก็จะเป็นสารก่อมะเร็งที่กระเพาะอาหาร ซึ่งในทางทฤษฎีไนโตรซาไมด์มีความเป็นไปได้ที่จะทำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหารด้วยเหตุผล 5 ประการ ดังนี้ (1) ไนโตรซาไมด์สามารถทำให้เกิดมะเร็งกระเพาะอาหารจากปฏิกิริยาระหว่างไนไตรทกับเอไมด์และถูกเร่งให้เกิดมากขึ้นในสภาวะกรดของกระเพาะอาหาร โดยความเร็วในการเกิดจะเพิ่มขึ้นเป็น 10 เท่า เมื่อค่าพีเอชลดลง 1 ค่า ซึ่งเกิดได้มากไม่มีกำหนดว่าพีเอชค่าใดจะเกิดได้มากที่สุด (Mirvish, 1975) (2) ไนโตรซาไมด์ไม่คงตัว ดังนั้นจึงสามารถทำอันตรายต่อเซลล์ของกระเพาะอาหารได้ทันทีหลังจากเกิดสารประกอบนี้ในกระเพาะอาหาร และไนโตรซาไมด์สามารถก่อมะเร็งได้โดยไม่ต้องอาศัยระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษที่ตับ (Magee, Montesano และ Preussmann, 1976) สารสนับสนุน (promoters) หรือสารยับยั้ง (inhibitors) ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของไนโตรซาไมด์ได้ (3) ไนโตรซาไมด์ไม่คงตัว จึงไม่คงตัวในอาหาร (4) ไนไตรทสามารถเกิดขึ้นได้ในกระเพาะของมนุษย์ และ (5) จากการศึกษาโดยการให้หนูกินไนโตรโซยูเรีย (nitrosoureas) และไนโตรโซคาร์บาเมต (nitrosocarbamates) พบว่าจะทำให้เกิดมะเร็งที่เซลล์กระเพาะอาหารของหนู ซึ่งคล้ายคลึงกับการเกิดมะเร็งในกระเพาะอาหารมนุษย์ (Ogiu, Nakadate และ Odashima, 1975)

สารประกอบไนโตรโซไม่พบโดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อม หรือถ้าพบจะพบในปริมาณน้อยมาก ประมาณ 2-3 ส่วนใน 10 ล้านส่วน อย่างไรก็ตามสารประกอบนี้สามารถเกิดได้จากปฏิกิริยาของเอมีนส์ (secondary หรือ tertiary amines) กับไนไตรทในสภาวะแตกต่างกันไป โดยค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม คือประมาณ 3 และโดยเฉพาะอย่างยิ่งสภาวะกรดของกระเพาะอาหารในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Lijinsky, 1977) และการได้รับสารประกอบไนโตรโซของมนุษย์ ส่วนใหญ่เกิดจากการสังเคราะห์ขึ้นเองในกระเพาะอาหารจากปฏิกิริยาระหว่างเอมีนในอาหารและไนไตรทในน้ำลาย (Swann, 1977)

2. สารประกอบอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบไนโตรโซ

สารต้นกำเนิดสารก่อกลายพันธุ์ในอาหารที่สามารถทำปฏิกิริยากับไนไตรทแล้วเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่ไม่ใช่สารประกอบไนโตรโซ ได้แก่ อนุพันธ์อินโดล (indole) สารประกอบอะโรมาติก (aromatic compounds) หรือสารประกอบกลุ่มเฮเตอโรไซคลิก (heterocyclic compounds) (Marquardt, Rufino และ Weisburger, 1977; Wakabayashi และคณะ, 1983; 1985)

2.1 โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydro-carbon หรือ PAH) เป็นสารพิษอีกกลุ่มที่สามารถทำปฏิกิริยากับไนไตรทได้ ซึ่งสารกลุ่มนี้เป็นสารก่อมะเร็งที่เกิดขึ้นจากการเผาไหม้สารประกอบอินทรีย์อย่างไม่สมบูรณ์ (Larsen และ Poulsen, 1987) ได้สารเคมีเกิดขึ้นมากมายและรวมตัวกันใหม่ด้วยปฏิกิริยาไพโรไลซิส (pyrrolysis) ได้สารพีเอเอช และควันที่เกิดขึ้นก็จะเกาะติดอยู่กับอาหาร ซึ่งพบได้ในอาหารรมควัน ปิ้ง หรือย่าง เช่น เนื้อย่าง แฮม เบคอน ไส้กรอกรมควัน ปลารมควัน กาแฟคั่ว การทอดเนื้อสัตว์ต่างๆ ปริมาณพีเอเอชที่เกิดขึ้นจะแปรผันไปตามอุณหภูมิ ระยะเวลาที่ปรุงอาหาร ชนิดของเชื้อเพลิง และวิธีการที่ใช้หุงต้มอาหาร โดยการปรุงอาหารที่ใช้เวลาสั้น เช่น ไมโครเวฟ การปรุงด้วยวิธีการต้ม ตุ๋น หรือนึ่งจะมีสารพีเอเอชเกิดขึ้นน้อยกว่า นอกจากนี้สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมจากควันบุหรี่ และฝุ่นควันจากการเผาขยะต่างๆ ดังนั้นจึงสามารถพบพีเอเอชกระจายอยู่ทั่วไปทั้งในน้ำ ดิน และฝุ่นละอองในอากาศ พีเอเอชเป็นอันตรายต่อสุขภาพของมนุษย์ เนื่องจากสารประกอบในกลุ่มนี้หลายตัวเป็นสารเริ่มต้นในการเกิดมะเร็ง สารสนับสนุนการเกิดมะเร็ง ในการศึกษาในหลอดทดลองและในสิ่งมีชีวิต (IARC, 1979) สำหรับพีเอเอชที่แยกออกมาได้จากอาหารมีมากกว่า 20 ชนิด และชนิดที่เป็นสารก่อมะเร็ง ได้แก่ เบนแซนทราซีน (1,2-benzanthracene) เบนโซ(เอ)ไพรีน (benzo(a)pyrene) คริสซีน (chrysene) ฟลูออแรนทีน (fluoranthene) และไพรีน (pyrene) เป็นต้น สารเบนโซ(เอ)ไพรีนเป็นชนิดที่พบมากที่สุดและพบในอาหารเกือบทุกชนิด และอาหารที่คนเราบริโภคเชื่อว่ามีเบนโซ(เอ)ไพรีนปนเปื้อนอยู่ประมาณ 250 – 1,000 ไมโครกรัมต่อคนต่อปี และเมื่อพีเอเอชทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะเกิดเป็นอนุพันธุ์ใหม่ที่เรียกว่า ไนโตรพีเอเอช ซึ่งทำให้เกิดพิษในคนเช่นเดียวกัน โดยไนโตรพีเอเอชเป็นอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนที่มีหมู่ไนโตร 1 หมู่หรือมากกว่า เชื่อมกับอะตอมคาร์บอนด้วยพันธะโควาเลนท์ และไนโตรพีเอเอชมีความสำคัญมากเช่นเดียวกับพีเอเอช เนื่องจากสารนี้พบกระจายทั่วไปในสิ่งแวดล้อม (Burkitt, 1971)

2.2 เฮเตอโรไซคลิกเอมีน (Heterocyclic amines) เป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นระหว่างหุงต้ม และแปรรูปอาหารประเภทเนื้อสัตว์ ที่อุณหภูมิสูง เกิดจากการเปลี่ยนแปลงโดยปฏิกิริยาเคมีระหว่าง น้ำตาลเฮกโซส (hexose) คริเอทีน (creatine) และกรดอะมิโน (amino acid) ที่เป็นองค์ประกอบของอาหาร (Johansson และ Jagerstad, 1993) เฮเตอโรไซคลิกเอมีนสามารถแบ่งตามระดับอุณหภูมิในการเกิดได้เป็น 2 กลุ่ม (Skog, 1993) คือ เฮเตอโรไซคลิกเอมีนที่เกิดขึ้นขณะปรุงอาหารที่อุณหภูมิสูงกว่า 300 องศาเซลเซียส เรียกว่า pyrolytic mutagens ซึ่งจะมีหมู่อะมิโนต่อกับวงแหวนพัยริดีน (pyridine ring) สารก่อกลายพันธุ์กลุ่มนี้จะไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท 2 มิลลิโมล่าร์ในสภาวะที่เป็นกรด เพราะหมู่อะมิโนถูกกำจัดออกไป ได้แก่ AαC MeAαC Trp-P-1 Trp-P-2 Glu-P-1 Glu-P-2 Lys-P-1 และ Orn-P-1 และเฮเตอโรไซคลิกเอมีนที่เกิดขึ้นขณะปรุงอาหารที่อุณหภูมิต่ำกว่า 300 องศาเซลเซียส เรียกว่า

thermic mutagens หรือเรียกว่า กลุ่มสารประกอบ IQ จะมีหมู่อะมิโนต่อกับวงแหวนอิมิดาโซล (imidazole ring) ประกอบด้วย อิมิดาโซควิโนลีน(imidazoquinoline) ได้แก่ IQ และ MeIQ อิมิดาโซควินอกซาลีน (imidazoquinoxaline) ได้แก่ MeIQx และ DiMeIQx และอิมิดาโซพัยริดีน (imidazopyridines หรือ Pyridines) ได้แก่ PhIP TMIP เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท 2 มิลลิโมล่าร์ ในสภาวะที่เป็นกรดจะไม่สามารถเปลี่ยนหมู่อะมิโนไปเป็นหมู่ไนโตร แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของหมู่อะมิโนไปเป็นหมู่ไนโตร เกิดอนุพันธ์ใหม่ ซึ่งจัดเป็นอนุพันธ์ไนโตร และมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ได้โดยตรง โดยไม่ต้องอาศัยระบบเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ (S9 mix) (Lin และคณะ, 1992) ได้แก่ การเปลี่ยนจากสารประกอบไอคิว (IQ, 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline) ไปเป็นไนโตรไอคิว (Nitro-IQ, 3-methyl-2-nitroimidazo[4,5-f]quinoline) ดังนั้นจึงสามารถแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 TA100 และ *E. coli* WP2 uvrA ในระบบที่ไม่มีเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ หลังจากทำปฏิกิริยากับไนไตรท 50 มิลลิโมล่าร์ (Sasagawa, Muramatsu และ Matsushima, 1988; Tsuda และคณะ, 1985)

เฮเตอโรไซคลิกเอมีนที่พบมาก 5 อันดับแรก จากการสำรวจในอาหารที่ประชากรสหรัฐอเมริกาบริโภคระหว่างปี 1989 ได้แก่ PhIP (2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b]pyridine) AαC (2-amino-9H-pyrido[2,3-b]indole) MeIQx (2-amino-3,8-dimethyl imidazo [4,5-f]quinoxaline) DiMeIQx (2-amino-3,4,8-trimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline) และ IQ (2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinoline) ซึ่งฤทธิ์ในการก่อมะเร็งของสารประกอบทั้ง 5 ชนิด เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ คือ IQ DiMeIQx MeIQx PhIP และ AαC (Layton และคณะ, 1995)

ปริมาณและชนิดของเฮเตอโรไซคลิกเอมีนในอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง (Robbana -Barnat และคณะ, 1996) ได้แก่

1) ชนิดของอาหารโปรตีน ซึ่งเฮเตอโรไซคลิกเอมีนพบมากในอาหารเนื้อสัตว์ที่ผ่านการปรุงที่อุณหภูมิสูง ซึ่งพบมากที่สุดในเนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อแกะ และเนื้อไก่ สำหรับนม เนยแข็ง ไข่ และถั่วพบได้น้อยมาก

2) อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการปรุงอาหาร อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุด โดยปริมาณของเฮเตอโรไซคลิกเอมีนในอาหารจะเพิ่มสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการปรุงอาหารเพิ่มขึ้น (Jackson และ Hargraves, 1995)

3) วิธีการปรุงอาหารเนื้อสัตว์ พบว่า การทอดและย่างจะทำให้เกิดสารประกอบเฮเตอโรไซคลิกเอมีนได้มากที่สุด การตุ๋น การต้ม และการนึ่งจะพบได้น้อยกว่า

4) ปริมาณสารต้นกำเนิด (precursors) ได้แก่ คริเอทีนเป็นสารต้นกำเนิดที่ จำเป็นในการเกิดสารประกอบกลุ่มนี้ (Laser-Reutersward และคณะ, 1987) พบมากในส่วนกล้ามเนื้อของเนื้อสัตว์ โดยคริเอทีนจะเปลี่ยนเป็นคริเอตินีน และเกิดเป็นส่วนของอิมิดาโซล (imidazole part) ของสารประกอบกลุ่ม IQ เมื่อได้รับความร้อนระหว่างขั้นตอนการปรุงอาหาร (Jackson และ Hargraves, 1995) ดังนั้น อาหารโปรตีนที่มีคริเอทีนน้อยหรือไม่มีคริเอทีน เช่น เนยแข็ง เต้าหู้ ถั่วต่างๆ ตับ ไต กุ้ง และโปรตีนจากพืชจึงเกิดสารก่อกลายพันธุ์กลุ่มสารประกอบ IQ ได้น้อย (Chen และคณะ, 1990) กรดอะมิโน หรือ เปปไทด์สายสั้นๆ จำเป็นต่อการเกิด สารประกอบกลุ่ม IQ (Jagerstad และคณะ, 1983a) ซึ่งกรดอะมิโนต่างชนิดกันทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ต่างชนิดและปริมาณแตกต่างกันได้ นอกจากนี้น้ำตาลมีส่วนเกี่ยวข้องด้วย โดยปริมาณน้ำตาลที่ทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์สูงสุดในระบบที่มีน้ำร่วมในปฏิกิริยา ปริมาณน้ำตาลเป็นครึ่งหนึ่งของคริเอทีนหรือกรดอะมิโน แต่ถ้ามีปริมาณเท่าๆ กันหรือมากกว่าจะทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ลดลง (Skog และ Jagerstad, 1990)

5) ปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์ พบว่า ปริมาณไขมันในเนื้อสัตว์ที่เพิ่มขึ้นทำให้ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในเนื้อวัวทอดลดลง เพราะไขมันทำให้ความเข้มข้นของสารต้นกำเนิดลดลง (dilution effect) (Bjeldanes และคณะ, 1983; Knize และคณะ, 1985) สำหรับชนิดของน้ำมัน หรือไขมันที่ใช้ในการทอด และการเกิดเฮเตอโรไซคลิกเอมีนนั้น ไม่สามารถสรุปแน่ชัดได้ว่าน้ำมันหรือไขมันชนิดใดจะมีผลต่อการเกิดเฮเตอโรไซคลิกเอมีนได้มากกว่า (Johansson, Skog และ Jagerstad 1993; Johansson และคณะ, 1995)

6) เหล็ก จากการศึกษาพบว่า เหล็ก ($FeSO_4$) จะเพิ่มปริมาณ MeIQx มากกว่า 2 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับระบบที่ไม่มีเหล็ก เนื่องจากเหล็กมีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลทำให้เกิดพัยราซีน พัยริดีน และอัลดีไฮด์ที่เป็น ส่วนประกอบสำคัญของเฮเตอโรไซคลิกเอมีนเพิ่มขึ้น MeIQx จึงเพิ่มขึ้น (Johansson และ Jagerstad, 1993)

ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของอาหารเมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท

เนื้อสัตว์

การศึกษาของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่า สารสกัดจากปลาย่าง ปลารมควัน ไก่ย่าง และหมูปิ้ง เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ที่มีฤทธิ์โดยตรง เมื่อทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 โดยการทดสอบเอมส์ (Kangsadalampai, Butryee และ Manconphol, 1996) เนื้อและปลาย่างก็มีสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาไนโตรเซชันได้ เกิดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ที่มีฤทธิ์โดยตรงเช่นเดียวกัน และพบว่าเนื้อไก่

เนื้อหมู เนื้อวัว และเนื้อแกะดิบเมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะไม่แสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แต่เมื่อนำเนื้อเหล่านี้ไปปิ้งหรือย่าง พบว่าทั้งหมดแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรง และเมื่อนำสารสกัดจากเนื้อไก่ย่างมาทำปฏิกิริยากับไนไตรท 0.5 ถึง 3 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นปริมาณที่พบได้ในกระเพาะอาหารของมนุษย์ก็ทำให้เกิดการกลายพันธุ์โดยตรงได้เช่นเดียวกัน (Yano และคณะ, 1988)

แป้งสาลี

โปรตีนในแป้งสาลี ที่เรียกว่า กลูเตน รวมถึงแป้งที่ได้จากพืชชนิดอื่นๆ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 210 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่า ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในระบบที่มีเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ เมื่อทดสอบด้วยการทดสอบเอมส์และแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ TA98 มากกว่า TA100 (Knize และคณะ, 1994) การศึกษาอื่นก็พบเช่นเดียวกันว่าสารสกัดจากกลูเตนที่ได้รับความร้อนจะแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อทำการทดสอบด้วย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ในระบบที่มีเอนไซม์กระตุ้นสารพิษ และแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์อย่างอ่อนเมื่อทดสอบด้วย *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 และ TA102 (Friedman, Wilson และ Ziderman, 1990) และผลการศึกษาอาหารจำพวกแป้ง เช่น ขนมปังปิ้ง พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 (Spingarn, Slocan และ Weisburger, 1980) จะเห็นได้ว่าอาหารที่ประกอบด้วยแป้งสาลีและกลูเตนสัมพันธ์กับการก่อกลายพันธุ์

วัตถุปรุงแต่งรสอาหาร และเครื่องปรุงรส

ซอสถั่วเหลืองจะแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 หลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท และแสดงความสัมพันธ์ไปในทางเดียวกันกับความเข้มข้นของไนไตรท โดยถั่วเหลืองไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท แสดงให้เห็นว่าสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยาไนโตรเซชันของซอสถั่วเหลืองเกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการหมัก (Lin, Wang และ Yeh, 1979) ซอสถั่วเหลือง เต้าเจี้ยว และน้ำปลาซึ่งนิยมรับประทานในญี่ปุ่น เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 (Marquardt และคณะ, 1977; Wakabayashi และคณะ, 1983) กรดซอร์บิก (sorbic acid) เป็นสารเจือปนอาหาร (food additives) เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ขึ้นเช่นเดียวกัน (Namiki และคณะ, 1981) แอสพาแตมเป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาล สามารถเกิดปฏิกิริยา ไนโตรเซชันกับไนไตรท 40 มิลลิโมล่าร์ในสภาวะกรด (พีเอช 3) และแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100

เครื่องเทศ

เครื่องเทศ ได้แก่ พริกไทย ลูกจันทน์เทศ พริก และซ่อลอเร็ล ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรท พบว่า พริกไทยจะให้ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงสุดเมื่อทดสอบด้วยการทดสอบเอมส์ ลูกจันทน์เทศ พริก และซ่อลอเร็ลแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เช่นเดียวกัน ซึ่งฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จะเกิดขึ้นขณะที่ระบบมีค่าพีเอช 2 ถึง 6 โดยจะมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงสุดที่ค่าพีเอช 3 ถึง 3.5 และปฏิกิริยานี้จะเร็วขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 40 องศาเซลเซียสหรือมากกว่านี้ ซึ่งระดับไนไตรทที่ใช้ทดสอบเป็นระดับที่กฎหมายกำหนดให้ใช้ในอาหาร และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของเครื่องเทศเมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะหมดไปในระบบที่มีเอนไซม์จากตับหนู (S9 mix) แต่ฤทธิ์ของพริกไทยที่ทำปฏิกิริยากับไนไตรทต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 ยังคงมีอยู่ (Namiki และคณะ, 1984)

อื่นๆ

ถั่วฟาวาที่นิยมรับประทานกันทั่วไปในประเทศโคลัมเบีย ซึ่งเป็นประเทศที่พบอุบัติการณ์การเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารสูง เมื่อถั่วนี้ทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรียซัลโมเนลลา (Yang และคณะ, 1984) ผักดองหลายชนิด ที่เตรียมในญี่ปุ่น กิมจิ และกะปิที่ทำจากกุ้งที่เตรียมในเกาหลี ฟิลิปปินส์ และไทย พบว่า เมื่อทำปฏิกิริยากับไนไตรทจะแสดงฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์โดยตรงต่อเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 (Wakabayashi และคณะ, 1984)

ใยอาหาร

ใยอาหาร (dietary fiber) หมายถึง ส่วนของพืช ผัก และผลไม้ที่ไม่ถูกย่อยโดยน้ำย่อยในระบบการย่อยอาหารของมนุษย์ แต่อาจถูกย่อยโดยจุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่ ใยอาหารที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช ได้แก่ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพคติน (pectin) และลิกนิน (lignin) และใยอาหารที่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์พืช ได้แก่ กัม (gums) มิวซิเลจ (mucilages) และอัลกอลโพลีแซคคาไรด์ (algal polysaccharides)

องค์ประกอบทางเคมีของใยอาหาร (Eastwood, 1973; Schweizer และ Edwards, 1992; ลักษณา อินทร์กลับ, 2543) ประกอบด้วย

1. เซลลูโลส (cellulose) เป็นองค์ประกอบสำคัญของผนังเซลล์พืช เซลลูโลส 1 โมเลกุลจะมีน้ำตาลมากกว่า 3,000 หน่วย เชื่อมต่อกันที่ตำแหน่ง β-1,4 ซึ่งแตกต่างจากโครงสร้างแป้ง จึงไม่ถูกย่อยด้วยน้ำย่อยอะมัยเลส (amylase) และเซลลูโลสไม่ละลายในน้ำและในด่าง แต่ละลายใน

กรดเข้มข้น เซลลูโลสเป็นเส้นใยที่หยาบและหนา แต่ละเส้นใยมีโมเลกุลเรียงตัวไปทางเดียวกัน เชื่อมต่อกับเส้นใยที่โมเลกุลเรียงตัวในทิศทางตรงกันข้ามกันอย่างเป็นระเบียบด้วยพันธะไฮโดรเจน และพบโมเลกุลที่เรียงตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบจับกันไม่แน่น สามารถดูดซับโมเลกุลของน้ำเข้ามาในโมเลกุลส่วนที่ไม่เป็นระเบียบ ทำให้พองตัว โครงสร้างของเซลลูโลสจึงมีลักษณะทั้งแข็งแรงและยืดหยุ่นได้

2. ลิกนิน (lignin) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชที่ไม่ใช่คาร์โบไฮเดรต มีองค์ประกอบเป็นโพลีเมอร์ของอะโรมาติกแอลกอฮอล์ (aromatic alcohol) ได้แก่ ฟีนิลโพรเพน (phenyl propane) ผนังเซลล์จึงมีความคงทนแข็งแรง ทนต่อกรด ด่าง ความร้อน ไม่ละลายน้ำ ไม่ถูกย่อยโดยแบคทีเรียในลำไส้ ลิกนินจะคลุมชั้นเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส โดยเชื่อมต่อกับเฮมิเซลลูโลสด้วยพันธะเอสเตอร์ (ester bond) หรือพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) เมื่อพืชมีอายุมากขึ้น ลิกนินก็จะถูกสร้างมากขึ้น และแข็งแรงมากขึ้น

3. เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เป็นส่วนที่แทรกอยู่กับเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด มีทั้งน้ำตาลเพนโตส (pentose) และน้ำตาลเฮกโซส (hexose) นอกจากนี้มีหมู่เมธิล (methyl group) และกรดกลูคิวโรนิก (glucuronic acid) เป็นองค์ประกอบ จำนวนน้ำตาลในโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสมีน้อยกว่าเซลลูโลส โดยน้ำตาลในเฮมิเซลลูโลสจะจับตัวกันเป็นโพลีเมอร์ของโพลีแซคคาไรด์ชนิดกิ่ง โดยเฮมิเซลลูโลสของธัญพืชจะมีส่วนประกอบเป็นน้ำตาลซัยโรส และอะราบิโนส เป็นส่วนใหญ่ เรียกว่า เพนโตซาน (pentosans) เฮมิเซลลูโลสของผักและผลไม้ มีส่วนประกอบของซัยโลกลัยแคน (xyloglycans) เป็นส่วนใหญ่

4. เพคติน (pectic substances) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ส่วนกลาง (middle lamella) โครงสร้างเป็นโพลีเมอร์เชิงซ้อนของน้ำตาลหลายชนิด จับตัวกันอย่างไม่เป็นระเบียบ ประกอบด้วยกรดกาแลคทูโรนิก (galacturonic acid) เป็นสายหลัก และน้ำตาลแรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) ซัยโลส (xylose) และฟูโคส (fucose) เป็นกิ่งเพคติน เมื่ออยู่ในผนังเซลล์จะจับอยู่กับแคลเซียมและไม่ละลายน้ำ แต่เพคตินสามารถละลายในน้ำร้อนได้ เมื่อเย็นลงจะมีลักษณะเป็นวุ้น (gel) เพคตินในพืชที่ยังอ่อน หรือในผลไม้ดิบจะไม่ละลายน้ำ เรียกว่า โปรโตเพคติน (protopectin) เมื่อผลไม้สุกโปรโตเพคตินจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเพคติน โดยเอนไซม์โปรโตเพคติเนส (protopectinase) ทำให้เนื้อเยื่อของพืชและผลไม้นิ่ม และร่อนแยกจากกัน นอกจากนี้ กรดและความร้อนจากการหุงต้มก็สามารถทำให้โปรโตเพคตินเปลี่ยนเป็นเพคตินได้

5. กัม (gums) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่พืชหลั่งออกมาเมื่อมีการฉีกขาดหรือมีบาดแผล กัมเมื่อผสมกับน้ำจะมีลักษณะเหนียว ได้แก่ กัมอะราบิก (gum Arabic) ทรากาแคนท์ (tragacanth) คารายากัม (karaya gum) คารอบกัม (karob gum) และกัวกัม (guar gum) กัมเหล่านี้ได้มาจากการกรีดส่วนลำต้น หรือจากส่วนเมล็ดของพืชในแถบร้อนและร้อนชื้น

6. มิวซิเลจ (mucilages) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่สร้างมาจากเซลล์ขับหลั่ง (secretory cell) ของพืช อุ้มน้ำและทำให้เกิดความหนืด จึงช่วยปกป้องส่วนของต้นอ่อนในเมล็ด (endosperm) เช่น อีสพากูลาฮัสค์ (ispagula husks) มีส่วนประกอบเป็น อะราบิโนไซแลน (arabinosilans) ที่เรียงตัวกันโดยมีกิ่งก้านของโครงสร้างจำนวนมาก สามารถอุ้มน้ำได้มาก จึงใช้เป็นยาระบาย

7. อัลกอลโพลีแซคคาไรด์ (algal polysaccharides) เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มาจากสาหร่ายทะเล ประกอบด้วย โพลีเมอร์ของกรดดีแมนนูโรนิก (D-manuronic acid) ที่เชื่อมต่อกันด้วย β-1,4 หรือประกอบด้วย กรดแอลกลูคิวโรนิก (L-glucuronic acid) ทีเชื่อมต่อกันด้วย β-1,4 และ α-1,4 หรือ ประกอบด้วยกรดน้ำตาลทั้ง 2 ชนิด

คุณสมบัติของใยอาหารในร่างกาย

ใยอาหารที่มาจากพืชต่างชนิดกันจะมีองค์ประกอบต่างกัน ทำให้แสดงคุณสมบัติ หรือมีบทบาทในร่างกายต่างกันได้ คุณสมบัติของใยอาหารในร่างกายที่สำคัญมีดังนี้ คือ

1. การย่อยสลายใยอาหารโดยแบคทีเรีย (bacterial degradation) แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่จะย่อยสลายใยอาหารได้ โดยเฉพาะใยอาหารที่มีส่วนประกอบเป็นโพลีแซคคาไรด์ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพคติน กัม และมิวซิเลจ ยกเว้นลิกนิน การย่อยสลายใยอาหารโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังนี้

1.1 ชนิดของใยอาหาร โดยใยอาหารที่มีเพคติน มิวซิเลจ และกัมจะถูกแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ย่อยสลายได้ง่ายและค่อนข้างสมบูรณ์ ส่วนเฮมิเซลลูโลสถูกย่อยสลายได้มากกว่าเซลลูโลส และแบคทีเรียไม่สามารถย่อยลิกนินได้เลย เนื่องจากสามารถตรวจพบปริมาณลิกนินได้ทั้งหมดในอุจจาระ ดังนั้นถ้าต้องการเพิ่มปริมาณอุจจาระต้องเลือกรับประทานใยอาหารที่ถูกย่อยสลายได้น้อย

1.2 ชนิดของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ อาจเปลี่ยนแปลงได้ตามชนิดของใยอาหารที่รับประทานเป็นประจำ

1.3 ระยะเวลาและลักษณะของอาหารที่อาหารอยู่ในลำไส้ใหญ่ อาหารลักษณะหยาบและอยู่ในลำไส้ใหญ่ช่วงเวลาสั้นจะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่น้อยกว่าอาหารที่ละเอียดและอยู่ในลำไส้ใหญ่นานกว่า

1.4 องค์ประกอบของส่วนที่เหลือของอาหารที่ผ่านมาถึงลำไส้ใหญ่

2. ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ความสามารถของใยอาหารในการอุ้มน้ำเกิดขึ้นในส่วนของโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งคุณสมบัติในการอุ้มน้ำนี้ทำให้ใยอาหารมีบทบาทสำคัญต่อการทำงานของลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ลักษณะที่ใยอาหารจับกับน้ำมี 2 แบบ คือ

2.1 การเกิดวุ้น (gel formation) ใยอาหารส่วนที่เป็นเพคติน กัม มิวซิเลจ และบางส่วนของเฮมิเซลลูโลส มีความสามารถในการจับน้ำสูง (high affinity) โดยโมเลกุลของน้ำตาลใน

ใยอาหารมีขั้วอิสระและสามารถจับกับน้ำ แล้วมีลักษณะเหมือนวุ้นหรือแป้งเปียกอยู่ในลำไส้เล็กและในลำไส้ใหญ่ โดยการเกิดเป็นวุ้นในลำไส้เล็กมีผลทำให้อาหารในลำไส้เล็กมีความหนืดสูง สารอาหารถูกดูดซึมได้ช้าลง เนื่องจากมีการสารอาหารที่ละลายน้ำได้จะละลายเข้าไปอยู่ในส่วนของเนื้อวุ้น ดังนั้นใยอาหารชนิดนี้จึงมีประโยชน์ต่อผู้ป่วยโรคเบาหวาน ทำให้ลดการดูดซึมกลูโคสในลำไส้เล็ก และการเกิดเป็นเนื้อวุ้นในลำไส้ใหญ่ช่วยป้องกันแบคทีเรียทำให้แบคทีเรียไม่สามารถย่อยอาหารที่เหลือจากการย่อยโดยน้ำย่อยในทางเดินอาหาร ลดการเกิดสารพิษ ลดการสัมผัสสารพิษที่ผนังลำไส้ใหญ่ ช่วยทำให้ลำไส้ใหญ่มีการเคลื่อนไหวมากขึ้น เป็นการกำจัดสารพิษและแบคทีเรียออกจากร่างกาย ช่วยป้องกันโรคท้องผูก

2.2 การดูดซับน้ำ (water adsorption) ซึ่งพบว่าเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) สูง โมเลกุลของเซลลูโลส มีส่วนของพันธะไฮโดรเจน สามารถดูดซับน้ำไว้ในโมเลกุลได้ และบริเวณที่เป็นน้ำตาลอิสระสามารถเกิดเป็นวุ้นได้ จากคุณสมบัตินี้ทำให้เซลลูโลสสามารถเพิ่มน้ำหนักและปริมาณอุจจาระ ช่วยให้มีการขับอุจจาระออกได้ง่าย กากอาหารไม่ค้างอยู่ลำไส้ใหญ่นาน ลดโอกาสการเกิดโรคท้องผูก โรคริดสีดวงทวาร โรคลำไส้โป่งพอง และโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่

3. ความสามารถในการดูดซับอินทรีย์สาร หรืออินทรีย์วัตถุ (organic materials) ได้แก่ กรดน้ำดี และสารพิษ ใยอาหารที่สามารถจับกรดน้ำดีได้ดี เช่น ลิกนิน เพคติน และใยอาหารที่มีกรดกลูคิวโรนิก และกรดกาแลคทูโรนิกในโมเลกุล สามารถจับกับกรดน้ำดีได้ ส่วนเซลลูโลสจับกับกรดน้ำดีได้น้อยมาก และจากการศึกษาพบว่า ผนังเซลล์ของมันฝรั่งสามารถจับกับดีเอ็นพี (DNP, 1,8 dinitropyrene) ได้อย่างเหนียวแน่น ซึ่งตรงข้ามกับเส้นใยที่ได้จากส่วนเนื้อของมันฝรั่งที่ดูดซับดีเอ็นพีได้เพียงเล็กน้อย (Harris และคณะ, 1991)

4. ความสามารถในการจับกับประจุบวก (cation binding capacity) ใยอาหารจับกับประจุบวกได้ โดยองค์ประกอบของส่วนที่เป็นกรดยูโรนิกในสารเพคติน และเฮมิเซลลูโลส ดังนั้นอาหารที่มีใยอาหารเหล่านี้สูงจะมีผลทำให้มีการขับถ่ายแคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสีไปกับอุจจาระเพิ่มขึ้น และขัดขวางการดูดซึมแร่ธาตุหรือสารอาหารที่มีประจุบวก การบริโภคใยอาหารปริมาณ 15 – 20 กรัมต่อวัน จะไม่มีผลต่อการสูญเสียเกลือแร่ดังกล่าว และการรับประทานใยอาหารสูงเป็นเวลานานร่างกายจะมีการปรับตัวเกี่ยวกับการดูดซึมเกลือแร่ได้ (Eastwood, 1973; Schweizer และ Edwards, 1992; ลักษณา อินทร์กลับ, 2543)

ความต้องการใยอาหารของร่างกาย

ร่างกายควรได้รับใยอาหารจากการรับประทานพืช ผัก และผลไม้เป็นประจำทุกวัน แต่ยังไม่มีการศึกษาใดบอกถึงปริมาณใยอาหารที่ควรได้รับในแต่ละวันที่เหมาะสมกับความต้องการของร่างกาย และไม่มีการศึกษาใดที่ระบุได้ว่าใยอาหารชนิดใด และปริมาณเท่าไรที่ทำให้มีสุขภาพดี ป้องกันการเกิดโรคชนิดต่างๆ และไม่มีผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุอาหารของร่างกาย ซึ่งการประชุมปฏิบัติการโดยผู้เชี่ยวชาญเกี่ยวกับบทบาทของคาร์โบไฮเดรตที่บริโภค จัดขึ้นที่ประเทศอิตาลี ปี ค.ศ.1986 แนะนำให้คนทั่วไปเพิ่มใยอาหารให้ได้ประมาณ 25 กรัมต่อพลังงาน 1,000 กิโลกรัมต่อวัน (Puwastein และคณะ, 1989) ซึ่งจากการศึกษาของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล พบว่าคนไทยทั่วไปบริโภคใยอาหาร เฉลี่ยประมาณ 19 ± 1 กรัมต่อ 1000 กิโลแคลอรี่ หรือเท่ากับ 26 ± 3 กรัมต่อวันในผู้หญิง หรือ 45 ± 4 กรัมต่อวันในผู้ชาย และกลุ่มมังสวิรัติบริโภคใยอาหารประมาณ 40 ± 2 กรัมต่อ 1000 กิโลแคลอรี่ หรือเท่ากับ 62 ± 5 กรัมต่อวันในผู้หญิง หรือ 71 ± 5 กรัมต่อวันในผู้ชาย (ประภาศรี ภูวเสถียร และคณะ, 2534)

ใยอาหาร และการเกิดมะเร็ง

ปัจจุบันสารอาหารที่มีแนวโน้มว่าสามารถลดการเกิดมะเร็ง หรือเนื้องอกในทางเดินอาหารได้ คือ ใยอาหาร (dietary fiber) โดยการศึกษาทางระบาดวิทยาเสนอแนะว่าอาหารที่มีใยอาหารเป็นองค์ประกอบอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งชนิดต่างๆ (Modan และคณะ, 1975) ซึ่งนักวิจัยได้ใช้วิธีการหลายด้านในการศึกษาโดยการนำข้อมูลเกี่ยวกับผลของใยอาหารในกลุ่มชนหลายๆ ชาติมาพิจารณา ซึ่งมักจะเป็นการเปรียบเทียบอัตราการบริโภคอาหารชนิดต่างๆ ต่ออัตราการตายด้วยโรคมะเร็งชนิดต่างๆ และการศึกษาส่วนใหญ่จะพบความสัมพันธ์ของใยอาหารกับการลดลงของการเกิดมะเร็งทางเดินอาหารตอนล่าง และมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Dale และคณะ , 1978; Bingham และคณะ, 1985; และ Jacob, 1986) ใยอาหารสามารถลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งทางเดินอาหารตอนล่างได้ดี เนื่องจากใยอาหารหลายชนิดที่มนุษย์ย่อยไม่ได้ แบคทีเรียที่อยู่ในทางเดินอาหารตอนล่างสามารถย่อยใช้เป็นอาหารได้ และขับกรดไขมันอิสระชนิดที่มีโมเลกุลเล็กซึ่งระเหยได้ (volatile free fatty acid) มีฤทธิ์เป็นกรด ทำให้ลดความเป็นด่างที่เกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่จากการรับประทานเนื้อสัตว์มากเกินไปจึงลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งทางเดินอาหารตอนล่างโดยเฉพาะมะเร็งลำไส้ใหญ่ได้ นอกจากนี้ปริมาณใยอาหารที่มากจะเป็นการเจือจางสารพิษ และคุณสมบัติในการอุ้มน้ำของใยอาหารจะทำให้อาหารและสารพิษต่างๆ เดินทางผ่านทางเดินอาหารด้วยเวลาที่สั้นลง ร่างกายจึงกำจัดของเสียและสารพิษได้เร็วขึ้น (แก้ว กังสดาลอำไพ, 2537; จักรพันธุ์ ปัญจสุวรรณ, 2542) แต่การศึกษาความสัมพันธ์ของใยอาหารกับการเกิดมะเร็งกระเพาะอาหารยังได้ผลไม่แน่ชัด เนื่องจากมีการศึกษาพบอัตราการตายของชาวมังสวิรัติเนื่องจากโรค

กระเพาะอาหารเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเป็นมะเร็งทางเดินอาหารตอนล่างลดลง (Kinlen, Herman และ Smith, 1983) แต่ก็มีการศึกษาวิจัยที่พบว่าความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งกระเพาะอาหารจะลดลงในคนที่รับประทานผัก ผลไม้ หรืออาหารที่มีเส้นใย (Gonzalez, 1994; Lopez-Carrillo และคณะ, 1999) ซึ่งอาจเกิดขึ้นจากการลดระยะเวลาที่อาหารอยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ ดังนั้นจึงมีผลต่อปริมาณ ความเข้มข้นของสารพิษและการเกิดสารพิษได้ จากการเจือจางและลดระยะเวลาในการสัมผัสเซลล์กระเพาะอาหารของสารก่อกลายพันธุ์ต่างๆ (Birkitt, 1971)

ใยอาหาร และการต้านฤทธิ์ไนไตรท

รำข้าวสาลีสามารถจับไนไตรทในสภาวะเช่นเดียวกับกระเพาะอาหาร (Moller, Dalh และ Bockman, 1988) เส้นใยอาหารที่ได้จากผักและผลไม้ เช่น กระหล่ำปลี คะน้า เปลือกส้มโอ ฟัก แตงกวา ใบตำลึง มะละกอ รำข้าว และแกนสับปะรด มีความสามารถในการจับไนไตรทแตกต่างกันอยู่ในช่วง 0.1 – 0.25 ไมโครกรัมต่อเส้นใย 1 มิลลิกรัม ซึ่งการปรุง หรือการสุกของผักหรือผลไม้ไม่มีผลต่อความสามารถในการจับไนไตรท (ประภาศรี เลาหเวชวานิช, 2537) และการศึกษาผลของโพลีแซคคาไรด์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร 13 ชนิด ได้แก่ วุ้น (agar) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) กัวร์กัม (guar gum) กัมอะราบิก (gum arabic) โลคัสบีนกัม (locust bean gum) เมทิลเซลลูโลส (methylcellulose) ที่มีความหนืด 25 1500 4000 เพคติน (pectin) คาร์ราจีแนน (carrageenan) โซเดียมอัลจีเนท (sodium alginate) แซนแทนกัม (xanthan gum) และอัลฟาเซลลูโลส (∝-cellulose) ในการจับไนไตรท พบว่า คาร์ราจีแนน โซเดียมอัลจีเนท แซนแทนกัม และอัลฟาเซลลูโลสมีผลยับยั้งการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ (พรพรรณ วุฒิกรวณิชย์, 2539)

การทดสอบการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย (Maron และ Ames, 1983)

การทดสอบการกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย เป็นการทดสอบที่นิยมใช้กันมากในการวิเคราะห์หาสารที่มีฤทธิ์ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ การทดสอบทำได้รวดเร็ว สะดวก ขั้นตอนง่ายไม่ยุ่งยาก เห็นผลการทดลองเร็ว (ภายใน 2 – 3 วัน) จึงนิยมใช้เป็นวิธีการทดสอบที่ต้องทำก่อนเป็นขั้นตอนแรก เพื่อจะได้ข้อมูลพื้นฐานขั้นต้นก่อนนำไปสู่การตัดสินใจที่จะเลือกทำงานวิจัยด้วยวิธีอื่นต่อไป แบคทีเรียที่นิยมใช้ทดสอบการกลายพันธุ์ ได้แก่ *Salmonella typhimurium* และ *Escherichia coli* (*E. coli*) ซึ่งประโยชน์ของการทดสอบการกลายพันธุ์โดยแบคทีเรีย ได้แก่

1. สามารถบ่งชี้ศักยภาพในการแสดงฤทธิ์ก่อมะเร็งของสารเคมีได้
2. ทำให้สามารถจัดอันดับสารเคมีที่จะนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อมะเร็งในสัตว์ทดลองได้

3. ใช้ในการตรวจสอบสารก่อกลายพันธุ์ต่างๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานนำไปเป็นแนวทางในการทดลองฤทธิ์การก่อมะเร็งโดยการทดสอบระยะยาว (long term carcinogenesis)

4. เพื่อช่วยให้การแยกและวิเคราะห์สารก่อกลายพันธุ์ในสิ่งแวดล้อมได้รวดเร็ว ทำให้ค้นพบสารก่อกลายพันธุ์ชนิดใหม่ได้มากขึ้น เพื่อนำไปศึกษาฤทธิ์การก่อมะเร็งต่อไป

การทดสอบการกลายพันธุ์ในแบคทีเรียซัลโมเนลลา (Salmonella Mutation Assay)

ปี พ.ศ. 2516 ศาสตราจารย์เอมส์และคณะ ภาควิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยเบิร์คเลย์ คาลิฟอร์เนีย สหรัฐอเมริกา ได้รายงานวิธีทดสอบการกลายพันธุ์โดยอาศัยแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ซึ่งต่อมาเป็นที่นิยมแพร่หลาย เรียกว่า การทดสอบเอมส์ (Ames' test) การทดสอบนี้เป็นการทดสอบการกลายพันธุ์แบบย้อนกลับ (Backward หรือ reverse mutation) ในหลอดทดลองของแบคทีเรีย *S. typhimurium* โดยผสมแบคทีเรียชนิดเฉพาะกับสารที่ต้องการทดสอบ และโคแฟคเตอร์บางอย่าง แบคทีเรียชนิดเฉพาะนี้เป็นแบคทีเรียที่ไม่สามารถเจริญเป็นโคโลนีให้เห็นได้เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในตัวกลางที่ขาดกรดอะมิโนฮิสทีดีน เพราะแบคทีเรียชนิดนี้ต้องการกรดอะมิโนฮิสทีดีนในการเจริญเติบโต(His$^-$) เนื่องจากดีเอ็นเอของมันไม่สามารถสร้างเอนไซม์ที่จำเป็นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนฮิสทีดีนได้ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียในสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สารดังกล่าวสามารถเปลี่ยนแปลงเบสในสายดีเอ็นเอทำให้เกิดความผิดปกติขึ้น คือแบคทีเรียสามารถสร้างกรดอะมิโนฮิสทีดีนขึ้นมาใช้เองได้ (His$^+$) อีกครั้ง ไม่ต้องพึ่งจากตัวกลางอีกต่อไป การกลายพันธุ์ครั้งที่สองนี้จึงเป็นการย้อนกลับของการกลายพันธุ์ครั้งแรก และทำให้แบคทีเรียเจริญจนกระทั่งเห็นเป็นโคโลนี เรียกว่าโคโลนีกลายพันธุ์ (Mutant colony) โดยอาศัยหลักการนี้ เมื่อต้องการทดสอบสารก่อกลายพันธุ์ใดๆ จะนำแบคทีเรียไปเลี้ยงในตัวกลางที่มีสารดังกล่าวอยู่ หากแบคทีเรียสามารถเจริญจนเห็นเป็นโคโลนีกลายพันธุ์ได้แสดงว่าสารดังกล่าวเป็นสารก่อกลายพันธุ์

แบคทีเรียที่ใช้เป็นเครื่องมือในการทดสอบมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่ทำให้แบคทีเรียมีความไวต่อการเกิดกลายพันธุ์ ได้แก่

1. rfa mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดสารไลโปโพลีแซคคาไรด์ที่เคลือบบนผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ทำให้สารกลายพันธุ์ที่มีโมเลกุลใหญ่สามารถซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปในตัวแบคทีเรียได้

2. uvrB mutation คือ การทำให้แบคทีเรียขาดระบบซ่อมแซมดีเอ็นเอที่ผิดปกติ ดังนั้น เมื่อได้รับแสงเหนือม่วงจะเกิดความผิดปกติของดีเอ็นเอซึ่งไม่สามารถซ่อมแซมให้กลับดีเหมือนเดิมและถูกถ่ายทอดไปยังเซลล์ที่เกิดใหม่ได้

3. R factor คือ การเติมพลาสมิด ชนิด pKM101 หรือ pAQ1 เข้าไปในแบคทีเรียเพื่อช่วยให้แบคทีเรียมีความไวต่อการถูกเปลี่ยนแปลงโดยสารก่อกลายพันธุ์ได้มากขึ้น

การทดสอบเอมส์ได้เพิ่มระบบการกระตุ้นโดยเอนไซม์เข้าไปในการทดลองด้วย เพราะแบคทีเรียไม่มีระบบการกระตุ้นดังกล่าว เนื่องจากสารแปลกปลอมที่เป็นพิษต่อร่างกายเมื่อเข้าไปในร่างกาย จะต้องถูกเปลี่ยนแปลงโดยระบบเมตะบอลิสมของร่างกาย ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเพื่อช่วยในการสลายความเป็นพิษต่อร่างกาย ขณะเดียวกันอาจเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เป็นการกระตุ้นความเป็นพิษต่อร่างกาย ระบบนี้อาศัยเอนไซม์และโคแฟคเตอร์ที่อยู่ในเซลล์ ทำให้สารก่อกลายพันธุ์ถูกกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาได้โดยเอนไซม์ที่พบในร่างกาย การทดสอบเอมส์จึงสามารถจำลองสถานการณ์การเมตะบอลิสมสารพิษ จนกระทั่งสามารถเปลี่ยนแปลงดีเอ็นเอให้ผิดปกติไปได้เหมือนกับที่อาจเกิดขึ้นในร่างกาย

การทดสอบการกลายพันธุ์โดยใช้แบคทีเรีย *S. typhimurium* การเปลี่ยนแปลงของเบสเกิดกับเบสกัวนีน (guanine) และซัยโตซีน (cytosine) [G-C base pair] ยกเว้นสายพันธุ์ TA102 เบสที่เปลี่ยนแปลงคือ อะดีนีน (adenine) และ ธัยมิดีน (thymidine) [A-T base pair]

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ

แบคทีเรีย *S. typhimurium* ที่นิยมใช้ในการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ TA97 TA98 TA100 TA1535 และ TA102 แต่ละสายพันธุ์จะใช้ตรวจสอบการกลายพันธุ์ในแบบที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 คุณสมบัติเฉพาะของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษา

แบคทีเรีย	การกลายพันธุ์	rfa	R-factor	uvrB
TA97	Frameshift mutagens	มี	มี	มี
TA98	Frameshift mutagens	มี	มี	มี
TA100	Base-pair substitute mutagens	มี	มี	มี
TA1535	Base-pair substitute mutagens	มี	มี	ไม่มี
TA102	Oxidative mutagens	มี	มี	มี

การทดสอบด้วยเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์นี้เหมาะสำหรับการทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารประกอบกลุ่มเฮเตอโรไซคลิกเอมีน (Weisburger และคณะ, 1986) เนื่องจากถ้าสารก่อกลายพันธุ์ทำให้เกิดการเลื่อนของเบสที่จีน his D 3052 ของแบคทีเรียจะมีผลให้แบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์ histidinol dehydrogenase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างกรดอะมิโนฮิสทิดีน ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจึง

สามารถสร้างกรดอะมิโนฮิสทีดีนขึ้นมาใช้เองได้อีกครั้งเจริญเป็นโคโลนีกลายพันธุ์ และเชื้อ *S. typhimurium* สายพันธุ์ TA100 จะใช้ศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีจากการเลื่อนของเบสในสายดีเอ็นเอ ซึ่งเกิดขึ้นที่จีน his G 46 มีผลต่อการสังเคราะห์เอนไซม์ phosphoribosyl ATP pyrophosphorylase ทำให้แบคทีเรียสามารถสร้างกรดอะมิโนฮิสทิดีนขึ้นมาใช้ได้เอง และเกิดเป็นโคโลนีกลายพันธุ์ขึ้น (ชนิพรรณ บุตรยี่, 2537) การกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นทั้งสองแบบจัดเป็นการกลายพันธุ์ที่จีน (gene mutation) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้อาจส่งผลให้เกิดการเริ่มต้นกระบวนการก่อมะเร็งได้

การทดสอบการกลายพันธุ์ของสารเคมีในแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค preincubation

วิธีการนี้สารเคมีที่ทดสอบ บัฟเฟอร์ และแบคทีเรีย *S. typhimurium* ถูกปล่อยให้อยู่ด้วยกันเป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมวุ้นเลี้ยงเชื้อเฉพาะผิวหน้า (top agar) ลงไป ทำให้สารเคมีและแบคทีเรียมีโอกาสที่จะทำปฏิกิริยากันในความเข้มข้นที่มากขึ้น โดยไม่มีอาหารเลี้ยงเชื้อมาขวางกั้น ซึ่งวิธีนี้เหมาะในการตรวจสอบสารก่อมะเร็งกลุ่มไนโตรซามีน สารกลุ่มอัลคาลอยด์ และสารเคมีที่ระเหยง่าย เมื่อเลี้ยงเชื้อในตู้อบครบ 48 ชั่วโมงจึงนับจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่ปรากฏให้เห็นด้วยตาเปล่า วิธีนี้ส่วนมากจะทำเป็นคู่สำหรับแต่ละความเข้มข้นของสารที่ทดสอบ ในทุกการทดลองจำเป็นต้องมีการควบคุมบวกและควบคุมลบด้วยทุกครั้ง สำหรับการควบคุมลบจะประกอบด้วยแบคทีเรีย สารละลายบัฟเฟอร์ และตัวทำละลายที่ใช้ (ไม่มีสารเคมีที่ต้องการทดสอบ)เพื่อได้จำนวนการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของการทดลองนั้น สำหรับการควบคุมบวก ประกอบด้วยสารควบคุมผลบวกที่จำเพาะสำหรับแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ และบัฟเฟอร์ (Yahagi และคณะ, 1975)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย