บทที่ 3

การศึกษาปริมาณการดูดซับสาร aflatoxin ในหลอดทดลอง (*in vitro*) ด้วยยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้า

3.1 บทนำ

aflatoxin เป็นสารพิษที่พบว่ามีการปนเปื้อนในวัตถุดิบอาหารสัตว์แทบทุกชนิด ในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน aflatoxin นี้มักพบว่าเป็นอันตรายต่อประสิทธิภาพการผลิตสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์ปีกที่ตอบสนองต่อสารพิษได้มากและเร็ว การศึกษาในปัจจุบันพบว่ายีสต์ หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์หลายชนิดสามารถดูดซับ aflatoxin ช่วยลดความเป็นพิษต่อสัตว์ที่ได้รับสารพิษนี้เข้าไป นอกจากนี้การศึกษายังพบว่าการเติมยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์ลงในอาหารสามารถลดความเป็นพิษของ aflatoxinได้ ส่งผลทำให้สมรรถภาพการผลิตของสัตว์ดีขึ้น ซึ่งสัตว์มีการเจริญเติบโตและมีประสิทธิภาพใช้อาหารดีขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากผนังเซลล์ของยีต์มีสารประกอบคาร์โบไฮเดรตชนิด MOS ได้แก่ glucomannan ซึ่งมีคุณสมบัติในการจับกับสารพิษกับเชื้อราได้ เมื่อสารพิษจับกับผนังเซลล์ของยีสต์แล้วก็จะถูกขับออกมาพร้อมกับอุจจาระของสัตว์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่า นอกจากยีสต์จะอุดมไปด้วยสารอาหาร วิตามิน และแร่ธาตุ ที่เป็นประโยชน์กับตัวสัตว์แล้วยีสต์ยังสามารถช่วยดูดซับความเป็นพิษจากสารพิษต่างๆ ที่ปนเปื้อนในอาหารสัตว์อีกด้วย และยังไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อตัวสัตว์และมนุษย์ อันเนื่องจากการเกิดสารพิษตกค้างในตัวสัตว์ หรือจากผลิตภัณฑ์ต่างๆ จากตัวของสัตว์เอง อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำยีสต์จากกระเพาะโคมาใช้ในการลดความเป็นพิษของสาร aflatoxin ในอาหารไก่กระทง งานวิจัยครั้งนี้จึงทำการศึกษาการใช้ยีสต์จากกระเพาะโค ยีสต์และผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้าในการดูดซับสารพิษดังกล่าว

3.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความสามารถในการดูดซับสาร aflatoxin ของยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้าในหลอดทดลอง

3.3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.3.1 การเก็บ rumen fluid

การเก็บของเหลวในกระเพาะหมัก ได้จากการสุ่มเก็บหลังจากที่โคกินอาหาร 3 ชั่วโมง ดังนี้คือ

3.3.1.1 เปิดฝากระบอก fistula ของโคเจาะกระเพาะ ซึ่งโคเจาะกระเพาะนั้น กระเพาะหมักของโคจะถูกเย็บติดกับผนัง แล้วใส่กระบอก fistula ลงไป สามารถเปิดและปิดเพื่อเก็บ rumen fluid และ digesta

3.3.1.2 เก็บ rumen fluid โดยใส่ rumen sampler ไว้ในกระเพาะหมักให้ปลายสายยางโผล่ออกมานอกกระบอก fistula

3.3.1.3 ใช้กระบอกฉีดยา (Syringe) ต่อเข้ากับสายยาง หลังจากนั้นดูดของเหลวออกมาประมาณ 200 ml

3.3.1.4 นำ ของเหลวที่ได้ใส่ในขวดรูปชมพู่ปิดฝาให้แน่น อุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บ rumen fluid ต้องอยู่ในสภาพปลอดเชื้อ

3.3.2 การคัดแยกยีสต์จากกระเพาะโคให้บริสุทธิ์

3.3.2.1 ปิเปตของเหลวที่ได้จากกระเพาะหมัก 25 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 50 ml

3.3.2.2 นำ ของเหลวจากกระเพาะหมักที่เจือจางแล้ว ไปเจือจางด้วยวิธี serial dilution ในระดับความเจือจาง 1:10, $1:10^2$, $1:10^3$, $1:10^4$, $1:10^5$ และ $1:10^6$

3.3.2.3 ปิเปตตัวอย่าง 0.1 ml แต่ละความเจือจาง หยดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Malt yeast extracts (MY)

3.3.2.4 ใช้เทคนิคการแยกเชื้อ spread plate technique

3.3.2.5 นำ ไปบ่มที่อุณหภูมิ 39°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.2.6 ใช้ loop เขี่ยเชื้อที่มีลักษณะ colony ที่แตกต่างกัน นำมาทำ wet mount ศึกษาสัณฐานวิทยา ด้วยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อทำ การคัดแยกยีสต์

3.3.2.7 ใช้ loop เขี่ยยีสต์ที่มีลักษณะแตกต่างกันของแต่ละ colony นำมาคัดแยกยีสต์ให้บริสุทธิ์ โดยใช้ streak plate technique ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ MY

3.3.2.8 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 39°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.2.9 ใช้ loop เขี่ย colony ของยีสต์ที่บริสุทธิ์ นำมาขีดลากบนอาหาร MY agar slant

3.3.2.10 เก็บยีสต์ที่เจริญบนอาหาร MY agar slant ที่อุณหภูมิ 4°C

3.3.3 การคัดแยกยีสต์ทางการค้าให้บริสุทธิ์

3.3.3.1 ชั่งยีสต์ทางการค้า 0.5 g ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ ที่บรรจุอาหาร MY broth 100 ml

3.3.3.2 นำขวดรูปชมพู่ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า ที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.3.3 ใช้ loop แตะ suspension ของยีสต์ มาขีดลากบนผิวหน้าอาหาร MY agar ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ cross streak technique

3.3.3.4 คัดแยกยีสต์ทางการค้า โดยใช้ loop เขี่ย colony ของยีสต์ ขีดลากบนอาหารผิวเอียง MY agar slant

3.3.3.5 เก็บยีสต์บริสุทธิ์ที่เจริญบนอาหาร MY agar slant ไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

3.3.4 การเพาะเลี้ยงยีสต์

3.3.4.1 ใช้ loop เขี่ยยีสต์ทางการค้าจากหลอดเก็บเชื้อ MY agar slant เต็ม loop จำนวน 2 loop ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่ 1 ซึ่งบรรจุอาหาร MY 100 ml และใช้ loop เขี่ยยีสต์จากกระเพาะโคทั้ง 2 ชนิด เต็ม loop ชนิดละ 1 loop ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ที่ 2 ซึ่งบรรจุอาหาร MY 100 ml

3.3.4.2 นำขวดรูปชมพู่ทั้ง 2 ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.4.3 นำ ยีสต์ไปนับจำนวนด้วยวิธี direct count โดยใช้ haemacytometer

3.3.5 การนับจำนวนยีสต์โดยใช้ haemacytometer (Singleton, 1992)

3.3.5.1 เจือจางยีสต์ทางการค้าและยีสต์จากกระเพาะโค จากการเพาะเลี้ยง ความเจือจาง 10 เท่า โดยปิเปต suspension ของยีสต์ทางการค้า 1 ml ใส่ลงในหลอดที่ 1 ที่บรรจุน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 ml และปิเปต suspension ของยีสต์จากกระเพาะโค 1 ml ใส่ลงในหลอดที่ 2 ซึ่งบรรจุน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่า

3.3.5.2 ปิเปต suspension ของยีสต์จากทั้ง 2 หลอด มานับจำนวนเซลล์ยีสต์ โดยใช้ haemacytometer ซึ่ง haemacytometer มีทั้งหมด 25 ช่องใหญ่ ซึ่ง 1 ช่องใหญ่ ประกอบไปด้วย 16 ช่องเล็ก ดังนั้น 25 ช่องใหญ่ มี 400 ช่องเล็ก พื้นที่ของ haemacytometer 1 ช่องเล็ก มีพื้นที่ 1/400 mm^2 (0.05 mm x 0.05 mm) และมีความลึก 1/10 mm (0.1 mm) ดังนั้นมีปริมาตรเท่ากับ 1/4,000 mm^3 (0.00025 mm^3) หรือ 1/4,000,000 ml (0.00000025 ml)

3.3.5.3 สุ่มนับ 5 ช่องใหญ่ (80 ช่องเล็ก) ได้เซลล์ยีสต์ดังตารางที่ 3.1

Table 3.1 Number of commercial yeast and ruminal yeast counted haemacytometer

ชนิดของยีสต์	Cells/ml
Commercial yeats	10×10^7
Ruminal yeast	8×10^7

3.3.6 การศึกษาการดูดซับสาร aflatoxin โดยใช้ยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์

ทำการวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) 5 กลุ่มการทดลอง (treatment) กลุ่มการทดลองละ 4 ซ้ำ โดยใช้ด้วยยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้า มีรายละเอียดดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม (control) ไม่ใส่ยีสต์ เติม aflatoxin 100 ppb

กลุ่มที่ 2 การดูดซับโดยใช้ *S. cerevisiae* ทางการค้า เติม aflatoxin 100 ppb

กลุ่มที่ 3 การดูดซับโดยใช้ *Candida sp.* ทางการค้า เติม aflatoxin 100 ppb

กลุ่มที่ 4 การดูดซับโดยใช้ MOS เติม aflatoxin 100 ppb

กลุ่มที่ 5 การดูดซับโดยใช้ยีสต์จากกระเพาะโค เติม aflatoxin 100 ppb

3.3.6.1 นำอาหารไก่กระทงบดให้ละเอียด ผสมให้เข้ากัน ชั่งอาหารไก่กระทงใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml ขวดละ 50 g จำนวน 20 ขวด เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการดูดซับ AFB_1 ของ MOS, ยีสต์ทางการค้า และยีสต์จากกระเพาะโค ที่ระดับ pH 5.8

3.3.6.2 เติมน้ำกลั่นในแต่ละขวด ขวดละ 100 ml ปรับ pH 5.8

3.3.6.3 เติมสารละลายมาตรฐาน AFB_1 (Sigma Aldrich Pte. Ltd. Singapore) ใส่ในแต่ละขวด

3.3.6.4 ชั่งผลิตภัณฑ์ดูดซับ MOS 0.25 g ใส่ในขวดชุดการทดลองใช้ MOS

3.3.6.5 ตรวจนับจำนวนยีสต์โดยใช้ haemacytometer

3.3.6.6 เจือจางยีสต์ทางการค้าแต่ละชนิดและยีสต์จากกระเพาะโค ให้มีความเข้มข้น 2.5×10^7 cells/ml

3.3.6.7 ปิเปต suspension ของยีสต์ทางการค้าแต่ละชนิด และยีสต์จากกระเพาะโค ที่มีความเข้มข้น 2.5×10^7 cells/ml ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขวดรูปชมพู่ละ 1 ml ในแต่ละชุดการทดลอง เพื่อให้ในแต่ละ ขวดรูปชมพู่ของชุดการทดลองมีปริมาณยีสต์ 2.5×10^7 cells

3.3.6.8 นำ ขวดรูปชมพู่ในแต่ละชุดการทดลอง ไปบ่มที่อุณหภูมิ 39°C ระยะเวลา 2 วันเมื่อครบระยะเวลา นำอาหารในแต่ละชุดการทดลอง มาสกัดและวิเคราะห์ปริมาณ AFB_1

3.3.7 การวิเคราะห์หาปริมาณ AFB_1 วิธีการสกัดและวิเคราะห์ ด้วยวิธี HPLC ตามวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานของ AOAC (Scott, 1990) โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.3.7.1 เครื่องมือ

1) เครื่อง HPLC ของบริษัท Thermo Separation Products (TSP) ซึ่งประกอบไปด้วย pump รุ่น P4000, เครื่องฉีดอัตโนมัติ (auto-injection) รุ่น AS3000 และ fluorescence detector รุ่น FL3000

2) Liquid chromatography column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.6 มิลลิเมตร (millimeter, mm) x ความยาว 25 เซนติเมตร (centimeter, cm) ของบริษัท Waters Spherisorb

3) Chromatography column

4) เครื่องเขย่า (shaker)

3.3.7.2 สารเคมี

1) สารละลายมาตรฐาน AFB_1 (บริษัท Sigma)

2) Chloroform

3) Anhydrous sodium sulphate

4) Silica gel 60 ขนาด 0.063-0.2 mm

5) Hexane

6) Diethyl ether

7) Methanol

8) Benzene

9) Acetonitrile

10) Trifluoroacetic acid (TFA) ความเข้มข้น 98%

11) Diatomaceous earth

3.3.7.3 การสกัด AFB_1

1) นำตัวอย่างอาหารมาบดให้ละเอียด

2) ชั่งอาหาร 50 กรัม (gram, g) ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 ml

3) เติมน้ำ 25 ml ใส่ diatomaceous earth 25 g

4) เติม chloroform 250 ml

5) ปิดขวดให้สนิทนำ ไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 30 นาที

6) กรองผ่านกระดาษกรอง เก็บสารที่สกัดได้ 50 ml นำไปผ่าน chromatography column เพื่อชะล้างสารที่สกัดได้ให้สะอาด

3.3.7.4 การชะล้างสารที่สกัดให้สะอาดด้วย chromatography column

การเตรียม column

1) ใช้ chromatography column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 22 mm ความยาว 300 mm ที่มีstopcock หุ้มปลายล่างของ column ด้วยสำ ลี

2) เติม chloroform ประมาณครึ่ง column

3) ใส่ anhydrous sodium sulphate 5 g เพื่อรองรับ silica gel

4) ใส่ silica gel 10 g กวนให้เข้ากันกับ chloroform

5) ชะล้าง silica gel ที่ติดอยู่ข้าง column ด้วย chloroform ปล่อยให้ silica gel ตกลงสู่ก้นของ column เมื่ออัตราเร็วของการตกตะกอนของ silica gel ลดลง ปล่อย chloroform ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของชั้น silica gel ประมาณ 5-7 cm

6) ใส่ anhydrous sodium sulphate 15 g

7) ปล่อยให้ chloroform ไหลออกจนอยู่เหนือระดับของ anhydrous sodium sulphate ประมาณ 1 cm

การชะล้าง column

1) นำตัวอย่างสารที่สกัดได้ 50 ml ผ่าน column

2) ล้าง column ด้วย hexane 150 ml ปล่อยให้สารชะล้างออกจนหมด

3) เติม diethyl ether 150 ml ปล่อยให้สารชะล้างออกจนหมด

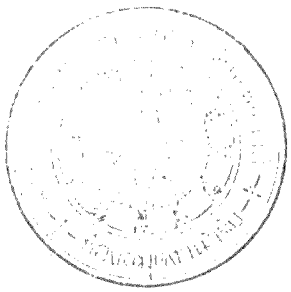
4) ชะล้าง AFB_1 ออกจาก column โดยใช้สารผสมระหว่าง chloroform: methanol (97:3 v/v) 150 ml เก็บสารที่ถูกชะออกจาก column จนหมด

5) นำ ไประเหยบนอ่างน้ำเดือด ลดปริมาตรจนเกือบแห้ง

6) ล้างด้วย chloroform ถ่ายลงสู่หลอดแก้วขนาดเล็ก แล้วระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

7) เติม 98% TFA 50 ไมโครลิตร (microliter, µl) ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

8) เติม methanol 1 ml ถ่ายลงสู่หลอดแก้วขนาดเล็ก เพื่อเตรียมวิเคราะห์หาปริมาณ AFB_1



3.3.7.5 การวิเคราะห์ด้วย HPLC

การเตรียม mobile phase

1) เตรียม 0.05% TFA: acetonitrile: methanol (65:20:15 v/v/v) โดยใช้ปริมาณสารดังนี้ ปิเปต 98% TFA 0.5 ml ใส่ในน้ำกลั่น 1,000 ml ใช้ปริมาตร 650 ml: acetonitrile 200 ml: methanol 150 ml

2) นำ mobile phase ไปกรองผ่านชุดกรองสารละลายขนาดอนุภาค 0.45 µm

การปรับตั้งค่าของเครื่อง HPLC

1) เตรียม column ชนิด reversed phase column C18 Spherisorb 5 ODS 2 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4.6 mm x ความยาว 25 cm ต่อเข้ากับเครื่อง HPLC

2) ตั้งค่า flow rate ของ mobile phase 1 ml/min

3) ล้าง column ด้วย mobile phase ประมาณ 5 ชั่วโมง

4) ตั้งค่า fluorescence detector ตรวจวัดที่ excitation wavelength 364 nm และ emission wavelength 424 nm

5) ระยะเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน AFB_1

1) ละลายสารมาตรฐาน AFB_1 1 mg ใน benzene: acetonitrile (98:2 v/v) ปริมาตร 100 ml ทำ ให้สารละลายมาตรฐาน AFB_1 มีความเข้มข้น 10 µg/ml

2) ปิเปต สารละลายมาตรฐาน 20 µl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

3) เติม 98% TFA 50 µl ระเหยแห้งโดยใช้แก๊สเป่า

4) ละลายสารละลายมาตรฐานด้วย methanol 2 ml ได้สารละลายมาตรฐานมีความเข้มข้น 100 ppb

5) เตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ10 ppb ในตัวทำ ละลาย methanol ความเข้มข้นละ 1 ml โดยวิธีการเจือจางจากสารละลายมาตรฐาน AFB_1 ตั้งต้นที่มีความเข้มข้น 100 ppb

การฉีดสารละลาย

1) ฉีดสารละลายมาตรฐาน AFB_1 ความเข้มข้นละ 40 µl สารละลายมาตรฐานถูกชะล้างออกมาที่เวลา 9 นาที

2) นำ ค่าพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานมาคำนวณค่าสมการในการวิเคราะห์ปริมาณ AFB_1 ในตัวอย่าง

3) ฉีดสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ ตัวอย่างละ 40 µl

4) นำค่าพื้นที่ใต้กราฟสารละลายตัวอย่างที่สกัดได้ในแต่ละตัวอย่างมาคำนวณเปรียบเทียบกับค่าสมการพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน AFB_1

5) วิธีการสกัด และวิเคราะห์หาปริมาณ AFB_1 มีค่า % recovery เท่ากับ 76%

3.4 ผลการทดลอง

ระดับความเข้มข้นของ AFB_1 *in vitro* หลังจากการบ่มด้วยยีสต์และผลิตภัณฑ์ยีสต์แสดงไว้ในตารางที่ 3.2 กลุ่มควบคุมจะมีระดับความเข้มข้นของ AFB_1 (107.55 ppb) และสูงกว่าระดับที่เติมลงไปในอาหาร (100 ppb) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในอาหารไก่ไข่อาจมีสาร AFB_1 อยู่ก่อนแล้ว หลังจากการบ่มด้วยยีสต์และผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้า สาร AFB_1 ลดลงในทุกกลุ่มการทดลองที่เสริมยีสต์หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์ทางการค้า Live yeasts (*S. cerevisiae, Candida sp.* and yeasts from bovine rumen) มีประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษสูงกว่า MOS. เปอร์เซ็นต์การดูดซับสารaflatoxin ด้วยยีสต์และผลิตภัณฑ์ยีสต์แสดงไว้ในตารางที่ 3.3 ยีสต์ *S. cerevisiae* ทางการค้า และยีสต์จากกระเพาะโค มีความสามารถในการดูดซับสาร aflatoxin สูงกว่ายีสต์ *Candida sp.* และ MOS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และยีสต์ *Candida sp.* มีความสามารถในการดูดซับสาร aflatoxin สูงกว่า MOS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกัน ความสามารถในการดูดซับสาร aflatoxin เรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ คือ *S. cerevisiae* ยีสต์จากกระเพาะโค *Candida sp.* และ MOS ตามลำดับ

Table 3.2 AFB_1 *in vitro* after incubation by yeasts and yeast products.

Treatment	Aflatoxin (ppb)
Control	107.55 ± 8.15
Saccharomyces cerevisiae + AFB_1 100 ng/ml	15.35 ± 2.06
Candida sp. + AFB_1 100 ng/ml	30.18 ± 3.85
MOS + AFB_1 100 ng/ml	38.63 ± 4.71
Yeasts from the rumen + AFB_1 100 ng/ml	17.23 ± 2.89

Table 3.3 Adsorption ability of AFB_1 by yeasts and yeast products

ยีสต์ หรือผลิตภัณฑ์ยีสต์	% การดูดซับaflatoxin
MOS + AFB_1 100 ng/ml	64.09[b]
S. cerevisiae + AFB_1 100 ng/ml	85.72[ab]
Candida sp. + AFB_1 100 ng/ml	71.95[b]
ยีสต์จากกระเพาะโค + AFB_1 100 ng/ml	8-3.98[a]
% CV	5.92
SEM	4.76
p - value	0.01

3.5 วิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยครั้งนี้พบว่า ความสามารถในการดูดซับสาร aflatoxin เรียงลำดับจากมากไปหาน้อยได้ดังนี้ คือ *S. cerevisiae* ยีสต์จากกระเพาะโค *Candida sp.* และ MOS ตามลำดับ ได้มีการใช้เทคนิควิธีการต่างๆ ในการศึกษาการจับสารพิษ หรือประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษ วิธีการที่ง่ายที่สุดคือการเตรียมสารพิษบริสุทธิ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลว ในระบบนี้จะทราบปริมาณของสารพิษที่ทำปฏิกิริยากับสารดูดซับที่ทราบปริมาณในน้ำ ปริมาณสารพิษที่หลงเหลืออยู่ในของเหลวหลังจากการแยกสารดูดซับสารพิษออกแล้ว จะถูกนำไปตรวจหา และสามารถประมาณปริมาณสารพิษที่ถูกดูดซับจากความแตกต่างของปริมาณสารพิษ เนื่องจากสารพิษจากเชื้อราค่อนข้างที่จะไม่ละลายหรือสลายไป การทดสอบดังกล่าวจะทำที่ระดับความเข้มข้นของสารพิษที่ต่ำมาก การใช้เครื่อง high performance liquid chromatographic (HPLC) ที่มีประสิทธิภาพสูง จะทำให้การตรวจหาประสิทธิภาพของสารดูดซับสารพิษจากเชื้อราได้ง่าย แม่นยำและรวดเร็วขึ้น และมีการใช้ในห้องปฏิบัติอย่างกว้างขวาง (Ledoux and Rottinghaus, 1999) งานวิจัยครั้งนี้ใช้เทคนิคของ HPLC เช่นเดียวกันในการตรวจวัดการดูดซับ aflatoxin โดยยีสต์และผลิตภัณฑ์ยีสต์ และพบว่ายีสต์มีชีวิตนั้นมีประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษได้ดีกว่า MOS ผลการทดลองนี้สะท้อนให้เห็นว่ายีสต์มีชีวิตมีความสามารถในการดูดซับ aflatoxin ได้สูงกว่า และยีสต์เหล่านี้ให้ผลดีที่ระดับความเข้มข้นของสารพิษในทางเดินอาหารที่ต่ำ ผลการทดลองนี้ยังชี้ให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ดูดซับสารพิษมีประสิทธิภาพในการดูดซับสารพิษ และสามารถใช้ได้ในอัตราที่ต่ำ ประสิทธิภาพในการดูดซับและอัตราที่ใช้ต่ำของยีสต์มีชีวิตสามารถดึงดูดการใช้เสริมเพื่อควบคุมความเป็นพิษ Dawson et al. (2001) แนะนำว่าการดูดซับaflatoxinนั้นยังขึ้นอยู่กับระดับความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลว ประสิทธิภาพการดูดซับสูงสุดพบที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.0 การศึกษาครั้งนี้ทำการ

ทดลองหาประสิทธิภาพการดูดซับที่ระดับความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.8 ซึ่งสูงกว่าที่กล่าวมา อย่างไรก็ตาม ที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ใช้ในการทดลองนี้สามารถให้ผลของประสิทธิภาพการดูดซับที่มากพอสมควร หากใช้ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่านี้ อาจทำให้ประสิทธิภาพการดูดซับ จากผลการวิจัยในครั้งนี้ชี้ให้เห็นชัดเจนว่ายีสต์มีชีวิตนั้นมีประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษได้ดีกว่าการใช้ผนังเซลล์ของยีสต์ อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาที่ระดับความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำกว่านี้ และทำการทดลองในตัวสัตว์ด้วย