

## เทคนิคการเตรียมตัวอย่างและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา (ตอนที่ 1)

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สพ.ญ. ศรีัญญา พัวพลเทพ  
ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์  
ฝ่ายวิชาการ สมาคมสารพิษจากเชื้อรา

สารพิษจากเชื้อราเป็นสารพิษชนิดทุติยภูมิ (Secondary metabolite) ที่เชื้อราผลิตขึ้นตามธรรมชาติในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม ส่งผลให้สารพิษจากเชื้อราสามารถปนเปื้อนในผลผลิตทางการเกษตรต่างๆ ทั้งที่ใช้เพื่อการบริโภคโดยมนุษย์ และเพื่อเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ จากการปนเปื้อนอย่างกว้างขวางที่พบได้ทั่วโลก ร่วมกับความเป็นพิษหรือผลกระทบต่อสุขภาพที่เกิดจากการบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อน ส่งผลให้ปัญหาการปนเปื้อนสารพิษจากเชื้อราเป็นหนึ่งในปัญหาด้านสาธารณสุขที่ทั่วโลกต่างตระหนักและให้ความสำคัญในปัจจุบัน ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบอาหารประเภทต่างๆ เพื่อทราบถึงอุบัติการณ์และระดับการปนเปื้อนจึงเป็นส่วนที่มีความสำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งต่อการคุณภาพชีวิตของผู้บริโภค ทั้งยังเป็นวิธีการเพื่อให้ทราบถึงข้อมูลซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาและการปรับปรุงมาตรฐานคุณภาพของวัตถุดิบและอาหาร ตลอดจนการกำหนดระดับการปนเปื้อนที่ยอมรับได้อันจะก่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้บริโภคต่อไป ซึ่งข้อมูลด้านเทคนิคการเตรียมตัวอย่างและการตรวจวิเคราะห์นั้นจะกล่าวถึง 1) คุณลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการพิจารณาเลือกเทคนิคสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา 2) ประเภทของเทคนิคสำหรับการตรวจวิเคราะห์ และ 3) เทคนิคการเตรียมตัวอย่างและเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราในปัจจุบัน ซึ่งบทความตอนที่ 1 นี้จะกล่าวถึงหัวข้อที่ 1 และ 2 ดังนี้

### 1. คุณลักษณะหลักที่เกี่ยวข้องกับการพิจารณาเลือกเทคนิคสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา

การพิจารณาเลือกเทคนิคการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบประเภทต่างๆ นั้น นอกเหนือจากการเลือกเทคนิคที่เป็นวิธีมาตรฐานที่ได้รับการยอมรับอย่างสากลจากองค์กรต่างๆ แล้ว มีคุณลักษณะหลักที่เกี่ยวข้องกับการวิเคราะห์ที่ควรพิจารณาดังนี้

1.1 ความน่าเชื่อถือของเทคนิควิเคราะห์ ซึ่งสามารถพิจารณาได้จาก

**➤ ความถูกต้อง (Accuracy)** หมายถึง ความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ที่สามารถวัดได้ค่าที่ใกล้เคียงกับค่าความเป็นจริงมากที่สุด ดังนั้นหากค่าที่วัดได้จากเทคนิควิธีใดเทคนิควิธีหนึ่งยังมีใกล้เคียงค่าความเป็นจริงมากเท่าใด ย่อมแสดงว่าเทคนิคการวิเคราะห์นั้นมีความถูกต้องสูงมากเท่านั้น

**➤ ความแม่นยำ (Precision)** หมายถึง ความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ที่สามารถวัดค่าได้ใกล้เคียงกันในแต่ละครั้งที่ทำการวิเคราะห์ หรือเมื่อทำการวิเคราะห์หลายๆ ครั้ง ดังนั้นหากค่าที่วัดได้จากการตรวจวิเคราะห์ที่ทำการวิเคราะห์ซ้ำหลายครั้งมีความแตกต่างกันน้อย ย่อมแสดงว่าเทคนิคการวิเคราะห์นั้นมีความแม่นยำสูง

**➤ ขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of detection) และขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Limit of quantification)** ซึ่งบ่งชี้ขอบเขตของการตรวจวิเคราะห์และข้อจำกัดของการนำไปใช้ ทั้งนี้วิธีการที่เลือกใช้จะต้องมีขอบเขตของการตรวจที่ครอบคลุมและสัมพันธ์กับค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยอมรับให้มีการปนเปื้อนได้ (Maximum limit, ML)

นอกจากนี้ยังมีคุณลักษณะของการตรวจวิเคราะห์อื่นๆ ที่บ่งชี้ถึงความน่าเชื่อถือของวิธีการและสามารถนำมาใช้ประกอบการพิจารณาเช่น ความจำเพาะของการตรวจวิเคราะห์ (Specificity) เป็นต้น

1.2 ผลจากการวิเคราะห์ให้ข้อมูลเชิงคุณภาพ(qualitative) หรือข้อมูลเชิงปริมาณ (quantitative)

1.3 เป็นเทคนิคที่สามารถใช้ได้ภายใต้สภาวะการทำงานปกติของห้องปฏิบัติการ รวมถึงสามารถใช้ได้กับงานประจำ (Routine work)

1.4 ความเร็วหรือระยะเวลาที่ใช้สำหรับการตรวจวิเคราะห์

1.5 ระดับความรู้ความชำนาญ (Level of technical skills) ที่จำเป็นต่อการตรวจวิเคราะห์

1.6 ค่าใช้จ่ายหรือต้นทุนสำหรับการวิเคราะห์ต่อตัวอย่าง

## 2. ประเภทของเทคนิคสำหรับการตรวจวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อ

สำหรับการตรวจที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา นั้นหากพิจารณาจากความน่าเชื่อถือของเทคนิควิธีการ ความเร็วและราคาต่อหน่วย ตลอดจนความเป็นไปได้ของการใช้ได้กับงานประจำหรือนอกสถานที่จะสามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มหลัก ได้แก่

### 2.1 Rapid screening methods

เทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้จะเป็นวิธีการที่ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์สั้น มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไม่ยุ่งยาก สามารถให้ผลการตรวจวิเคราะห์ได้เร็ว บางวิธีการสามารถใช้ได้สำหรับการตรวจนอกสถานที่ อย่างไรก็ตามผลที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคในกลุ่มนี้จะให้ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (Qualitative analysis) เป็นหลัก ทั้งนี้เพื่ออธิบายว่ามีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราที่ต้องการศึกษาหรือไม่ สำหรับเทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้ที่มีการใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ 1) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 2) Membrane based immunoassay และ 3) Fluorometric assay

### 2.2 Reference (confirmatory) methods

เทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้เป็นการวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) โดยผลที่ได้จากการวิเคราะห์นอกจากจะแสดงว่ามีการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราชนิดเป้าหมายภายใต้การวิเคราะห์ที่มีการตรวจยืนยันผลแล้ว ยังสามารถระบุปริมาณการปนเปื้อนของสารพิษจากเชื้อราได้อีกด้วย ข้อดีของเทคนิคการวิเคราะห์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ มีความน่าเชื่อถือของผลที่ได้จากการวิเคราะห์สูง (มีความถูกต้องและความแม่นยำ) ทั้งยังมีความจำเพาะต่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ นอกจากนี้ยังมีขีดจำกัดในการวิเคราะห์เชิงปริมาณที่ต่ำ ทำให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนในระดับที่ต่ำได้ดีครอบคลุมค่าการปนเปื้อนสูงสุดที่ยอมรับได้ (Maximum limit, ML) ของสารพิษจากเชื้อราชนิดต่างๆ จึงสามารถประยุกต์ใช้ในการประเมินการสัมผัสและความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษ รวมถึงการพัฒนาความปลอดภัยด้านอาหารและคุณภาพชีวิตของผู้บริโภคได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามวิธีการในกลุ่มนี้อาจเป็นวิธีการที่มักใช้เครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ที่มีราคาสูง มีความเฉพาะในการตรวจวิเคราะห์และมีรายละเอียดซับซ้อน ทั้งยังจำเป็นต้องดำเนินการโดยผู้ที่มีทักษะความชำนาญ จึงเป็นข้อจำกัดของการนำไปใช้ ซึ่งวิธีในกลุ่มนี้ได้แก่

Gas chromatography (GC), High performance liquid chromatography (HPLC), Liquid chromatography mass spectrometry (LC-MS) และ Liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) เป็นต้น



ภาพที่ 1 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ที่มา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์



ภาพที่ 2 เครื่อง Liquid Chromatography-Tandem Mass spectrometry (LC-MS/MS)

ที่มา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

## เอกสารอ้างอิง

1. Berthiller, F., Brera, C., Crews, C., Iha, M.H., Krska, R., Lattanzio, V.M.T., MacDonald, S., Malone, R.J., Maragos, C., Solfrizzo, M., Stroka, J., and Whitaker, T.B., 2016. Development in mycotoxin analysis: an update for 2014-2015. *World Mycotoxin J.* 9, 5-29.
2. Kongkapan, J., Poapolathep, S., Isariyodom, S., Kumagai, S., and Poapolathep, A., 2016. Simultaneous detection of multiple mycotoxins in broiler feeds using a liquid chromatography tandem-mass spectrometry. *J. Vet. Med. Sci.* 78, 259-264.
3. Pittet, A., 2005. Modern methods and trends in mycotoxin analysis. *Mitt. Lebensm. Hyg.*, 96, 424-444.
4. Rahmani, A., Jinap, S., and Soleimany, F., 2009. Qualitative and quantitative analysis of mycotoxins. *Compr. Rev. Food Sci. Food Safety*, 8, 202-250.
5. Selvaraj, J.N., Zhou, L., Wang, Y., Zhao, Y.J., Xing, F.G., Dai, X.F., L, Y., 2015. Mycotoxin detection- Recent trends at global level. *J. Integr. Agr.* 14, 2265-2281.
6. Zheng, M.Z., Richard, J.L., and Binder, J., 2006. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161, 261-273.