

การสอบเทียบผลวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน ในตัวอย่างข้าวโพด ถั่วลิสง และนม Proficiency Testing of Aflatoxin in Corn, Peanuts and Milk

กนกพร อธิสุข

กองอาหาร

อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Kanokporn Atisook

Division of Food

Amara Vongbuddhapitak

Department of Medical Sciences

Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการสอบเทียบผลวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหาร ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วลิสง และนม ในปี พ.ศ. 2541 โดยจัดส่งรายละเอียดการดำเนินงาน เพื่อเชิญชวนห้องปฏิบัติการให้เข้าร่วม มีห้องปฏิบัติการแจ้งความจำนงเข้าร่วมโครงการ จำนวน 26 แห่ง เป็นภาครัฐ 16 แห่ง ภาคเอกชน 10 แห่ง ก็ได้จัดส่งตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ไม่มีการปนเปื้อน ตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ปนเปื้อนด้วยอะฟลาทอกซินตามธรรมชาติ (naturally contaminated) และสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน M₁ เพื่อใช้เติมในตัวอย่างนม ทางไปรษณีย์ด่วนพิเศษ ห้องปฏิบัติการสมาชิกทำการวิเคราะห์โดยสามารถเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่ใช้เป็นประจำแต่ต้องเป็นวิธีที่สามารถหาปริมาณอะฟลาทอกซินได้ มีสมาชิกตอบผลกลับร้อยละ 88 นำผลที่ได้มาประเมินโดยใช้ค่า z score ปรากฏว่ามีห้องปฏิบัติการมี z score น้อยกว่า 2 ร้อยละ 89 และ 79 สำหรับตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ไม่มีการปนเปื้อน กับร้อยละ 42 และ 47 สำหรับตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ปนเปื้อนด้วยอะฟลาทอกซินโดยธรรมชาติ ส่วนการวิเคราะห์ตัวอย่างนมมีสมาชิกตอบผลเพียง 4 แห่งและมี z score น้อยกว่า 2 จำนวน 3 แห่ง

ABSTRACT Department of Medical Sciences was a provider of Proficiency testing of aflatoxin in corn, peanuts and milk in 1998. Protocol of the scheme was distributed to aflatoxin laboratories to invite them to join the scheme. In 26 participating laboratories, 16 laboratories belonged to government and the rest were private laboratories. Naturally aflatoxin contaminated corn and peanuts, aflatoxin-free corn and peanuts and standard aflatoxin M₁ for spiking in milk were delivered to participants by EMS. Participants analyzed PT samples by using their own routine quantitative methods. Eighty-eight percents of participants reported the results and z score was calculated to indicate the

laboratory performance. Eighty-nine and 79% of participants were performed satisfactorily for aflatoxin-free corn and peanuts, respectively. For naturally contaminated corn and peanuts, 42 and 47% of participants were performed satisfactorily. For aflatoxin M₁ in milk, 3 out of 4 laboratories performed z score less than 2.

Key words : interlaboratory comparison, proficiency testing, aflatoxin, corn, peanuts

บทนำ

ปัญหาสารพิษอะฟลาทอกซินปนเปื้อนในอาหารสำหรับคนและสัตว์ ซึ่งสร้างจากเชื้อราสกุล *Aspergillus* มีความสำคัญต่อสุขภาพคนและสัตว์ รวมถึงเศรษฐกิจการส่งออกพืชน้ำมันและอาหารสัตว์เป็นอย่างยิ่ง สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกระทรวงอุตสาหกรรม ในฐานะผู้ประสานงานโคเด็กซ์ของไทย จัดทำโครงการแก้ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารและอาหารสัตว์แบบครบวงจร (2539-2543) โดยเน้นอาหาร 3 ชนิด คือ ข้าวโพด ถั่วลิสง และ นม การดำเนินงานประกอบด้วย การวิจัยพัฒนาให้ได้ความรู้ข้อมูลในการสร้างมาตรการควบคุมป้องกัน การอบรมให้ความรู้แก่เกษตรกร พ่อค้า ผู้ประกอบการอุตสาหกรรม ตลอดจนประชาสัมพันธ์ให้ตระหนักถึงพิษภัยและการป้องกันอันตราย และเพื่อให้เกิดความมั่นใจในผลงานวิจัยในโครงการดังกล่าว มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ ใช้กำหนดมาตรการของประเทศ และต่อรองค่ามาตรฐานอาหารในระดับนานาชาติได้อย่างมีประสิทธิภาพ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการในส่วนการประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน ตั้งแต่ปี 2540 ทำการสำรวจสถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในประเทศไทยทั้งภาครัฐและเอกชนโดยใช้การสอบเทียบการวิเคราะห์ (Proficiency Testing) เป็นเครื่องมือในการศึกษา ซึ่งมีหน่วยงานเข้าร่วมโครงการ 30 แห่ง จำนวน 32 ห้องปฏิบัติการ ผลการดำเนินงานสรุปได้ว่า มีห้องปฏิบัติการที่มีผลการสอบเทียบน่าพอใจ ร้อยละ 68 และ

48 ตามลำดับ (Vongbuddhapitak *et al.*, 1999) ส่วนการวิเคราะห์นั้นยังไม่มีห้องปฏิบัติการใดให้ผลที่น่าพอใจ (วงศ์พุทธพิทักษ์ และ คณะ, 2540) ปัญหาพื้นฐานอยู่ที่เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติส่วนหนึ่งไม่เข้าใจธรรมชาติการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน ไม่เข้าใจหลักการเลือกวิธีวิเคราะห์และไม่นำการควบคุมกระบวนการวิเคราะห์มาใช้ประกันคุณภาพงาน จำเป็นต้องพัฒนานักวิเคราะห์ที่รับผิดชอบให้มีความรู้ ความเข้าใจและมีทักษะการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินโดยเทคนิคที่สากลยอมรับ

เพื่อช่วยให้ห้องปฏิบัติการรักษาคุณภาพการวิเคราะห์ให้ได้มาตรฐานอย่างต่อเนื่อง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้จัดทำโครงการสอบเทียบผลวิเคราะห์ “Aflatoxin Analysis Performance Scheme” ดำเนินการในตัวอย่างอาหาร 3 ชนิด คือ ข้าวโพด ถั่วลิสง และนม ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2541 ตาม ISO/IUPAC/AOAC INTERNATIONAL Harmonized Protocol โดยใช้ค่า z score จากผลการสอบเทียบห้องปฏิบัติการสามารถนำไปใช้แก้ไขปรับปรุงในกรณีที่พบข้อบกพร่องผิดพลาด หรือแสดงคุณภาพการดำเนินงานของตนเองได้

วัสดุและวิธีการ

การรับสมัครผู้เข้าร่วมการสอบเทียบ

ผู้ดำเนินการสอบเทียบ ได้จัดส่ง Protocol for Aflatoxin Analysis Performance Scheme (AFT-PT 41/1) ซึ่งเป็นเอกสารชี้แจงความเป็นมา

ของโครงการ วัตถุประสงค์ องค์กรและคณะทำงานผู้รับผิดชอบโครงการ ชนิดตัวอย่างสอบเทียบ เงื่อนไขการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์และการรายงานผล สถิติที่ใช้ในการประเมินผล และกรอบเวลาของโครงการ พร้อมหนังสือเชิญเข้าร่วมการสอบเทียบ ไปยังห้องปฏิบัติการที่มีการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินทั้งภาครัฐและเอกชน โดยมีเงื่อนไขว่าห้องปฏิบัติการที่ต้องการเข้าร่วมการสอบเทียบครั้งนี้ต้องใช้วิธีวิเคราะห์ที่สามารถรายงานปริมาณอะฟลาทอกซินเป็นตัวเลขที่มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (quantitative method) และสามารถตอบผลในเวลาที่กำหนดได้

ตัวอย่างสอบเทียบ (ข้าวโพด และถั่วลิสง)

- ตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ไม่มีการปนเปื้อน (control corn, control peanuts) กับตัวอย่างข้าวโพดและถั่วลิสงที่ปนเปื้อนด้วยอะฟลาทอกซินธรรมชาติ (naturally contaminated corn, naturally contaminated peanuts) ได้รับความจาก Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition, U.S. Food and Drug Administration, กรุงวอชิงตัน สหรัฐอเมริกา ตัวอย่างละประมาณ 3 กิโลกรัม

- การแบ่งบรรจุ ซึ่งตัวอย่างสอบเทียบ control corn และ control peanuts ประมาณ 70 กรัม และซึ่งตัวอย่างสอบเทียบ naturally contaminated corn และ naturally contaminated peanuts ประมาณ 100 กรัม ใส่ในขวด polypropylene ขนาด 125 มิลลิลิตร ชนิดละ 1 ขวด ปิดขวดตัวอย่างให้แน่น พันทับด้วย parafilm เตรียมทั้งหมด 30 ชุด หาค่า homogeneity ค่าปริมาณปนเปื้อนก่อนส่งตัวอย่างให้ผู้เข้าร่วมสอบเทียบ

- การให้รหัสตัวอย่างสอบเทียบ ปิดฉลากขวดตัวอย่างสอบเทียบ control corn และ control peanuts ให้รหัส CC และ PC ตามลำดับ ส่วน

ตัวอย่างสอบเทียบ naturally contaminated corn และ naturally contaminated peanuts ให้ รหัส C1 และ P1 ตามลำดับ

สารมาตรฐาน สำหรับการสอบเทียบผลการวิเคราะห์

เตรียมสารมาตรฐาน อะฟลาทอกซิน M_1 (sigma lot 76H4013) วัด UV spectrum แล้วคำนวณปริมาณ เตรียมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แบ่งใส่ในขวด silanized vial สีชา ขนาด 4 มิลลิลิตร ขวดละ 1 มิลลิลิตร 2 ขวด ปิดฝาให้แน่น พันทับด้วย parafilm ปิดฉลากโดยให้รหัส SM และ M_1 0.4 $\mu\text{g/mL}$

ห้องปฏิบัติการสมาชิกจะต้องจัดหาตัวอย่างนม UHT หรือ sterilized แล้ววิเคราะห์โดยไม่เติมและเติมสารมาตรฐานรหัส SM ที่ส่งไปให้ตามคำแนะนำ แล้ววิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินโดยใช้สารมาตรฐานรหัส M_1 0.4 $\mu\text{g/mL}$ เป็นสารมาตรฐานในการคำนวณ

การส่งตัวอย่างสอบเทียบ

ส่งตัวอย่างสอบเทียบข้าวโพด ถั่วลิสง และสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน M_1 พร้อมแบบตอบรับตัวอย่างและแบบรายงานผล ไปยังห้องปฏิบัติการเข้าร่วมการสอบเทียบทางไปรษณีย์ด่วนพิเศษ (EMS)

การให้รหัสประจำห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการที่ตอบผลการสอบเทียบจะได้รับแจ้งรหัสประจำห้องปฏิบัติการ และถือว่าเป็นห้องปฏิบัติการสมาชิกของการสอบเทียบครั้งนี้ ซึ่งรหัสประจำห้องปฏิบัติการนี้จะถูกรักษาเป็นความลับตลอดไป ห้องปฏิบัติการสมาชิกจะต้องรายงานผลโดยกรอกรายละเอียดลงในแบบรายงานผล ซึ่งจะต้องแจ้งชื่อผู้วิเคราะห์ ตำแหน่ง ชื่อหน่วยงานและที่อยู่ วันที่ได้

รับตัวอย่าง วันที่ทำการวิเคราะห์ วิธีวิเคราะห์และเทคนิคที่ใช้โดยสังเขป

การประเมินผลการสอบเทียบ

คำนวณค่าความน่าเชื่อถือของผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการสมาชิกโดยใช้ z score จากค่า assigned value ของปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างสอบเทียบที่ทำการวิเคราะห์โดย reference laboratory

$$z = (x_i - C) / \sigma \text{ (Thompson and Wood, 1993)}$$

โดย x_i คือ ค่าปริมาณอะฟลาทอกซินรวมที่ห้องปฏิบัติการสมาชิกรายงาน

C คือ ค่า assigned value

σ คือ target value for standard deviation

$$\text{ซึ่ง } \sigma = bC$$

$$\text{ขณะที่ } b = \%RSD / 100$$

และจาก Horwitz equation: $\%RSD = 2^{(1-0.5 \log C)}$

$$\text{หรือ } \sigma = 0.02 C^{0.8495} \text{ (Albert and Horwitz, 1997)}$$

criteria ในการตัดสินการประเมินผลการสอบเทียบ

$ z \leq 2$	satisfactory
$2 < z \leq 3$	questionable
$ z > 3$	unsatisfactory

การแจ้งผลแก่สมาชิก

สมาชิกจะได้รับรายงาน การสอบเทียบการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน ที่จัดพิมพ์เป็นรูปเล่ม เมื่อการประเมินผลเสร็จสิ้น โดยรายงานค่า z score ของแต่ละห้องปฏิบัติการ และกราฟแสดงผลเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการสมาชิก

ผล

การสอบเทียบผลวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน Aflatoxin Analysis Performance Scheme (AFT-PT 41/1) มีห้องปฏิบัติการเข้าแจ้งความจำนงเข้าร่วมโครงการ 28 แห่ง แบ่งเป็นห้องปฏิบัติการภาครัฐ 16 แห่ง (กรม 12 แห่ง และมหาวิทยาลัย 4 แห่ง) และเอกชน 10 แห่ง โดยมีความประสงค์ต้องการตัวอย่างข้าวโพด 19 แห่ง ถั่วลิสง 21 แห่ง และนม 4 แห่ง ทุกแห่งได้รับตัวอย่างและสารมาตรฐานภายใน 48 ชั่วโมงหลังจากการส่ง และแจ้งว่าสภาพตัวอย่างที่ได้รับเหมาะสมแก่การวิเคราะห์ มีห้องปฏิบัติการ 11 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 48 ตอบผลภายในเวลาที่กำหนด (4 สัปดาห์) อีก 12 แห่งตอบผลภายใน 8 สัปดาห์ และอีก 1 แห่งตอบหลังจากได้รับตัวอย่าง 10 สัปดาห์ อีก 3 แห่งไม่ตอบผล

ค่า assigned value ของตัวอย่างสอบเทียบข้าวโพด และถั่วลิสง ที่ทำการวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการกองอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ตัวอย่างละ 4 ซ้ำ โดยตรวจวิเคราะห์ควบคู่ไปกับตัวอย่าง certified reference material nut powder, Reference no. T0410 ของ CSL Food Science Laboratory, The Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) ประเทศอังกฤษ พบปริมาณอะฟลาทอกซินใน control corn และ control peanuts น้อยกว่า 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ส่วน contaminated corn ตรวจพบ 35.58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ และ contaminated peanuts 49.94 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ปริมาณอะฟลาทอกซินที่พบและค่า SD ได้แสดงในตารางที่ 1 โดยผลการวิเคราะห์ตัวอย่าง reference material อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ค่า assigned value ของตัวอย่างสอบเทียบ (ข้าวโพดและถั่วลิสง)

ชนิดตัวอย่าง	อะฟลาทอกซิน (µg/kg)					SD
	B ₁	B ₂	G ₁	G ₂	total	
control corn					<1	
contaminated corn	31.80	2.84	0.94		35.58	0.36
control peanuts					<1	
contaminated peanuts	37.22	3.80	8.76	0.17	49.94	1.43

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์ตัวอย่าง reference material nut powder (T0410) ของ CSL Food Science Laboratory, FAPAS ประเทศอังกฤษ เปรียบเทียบกับค่า assigned value และ satisfactory range

Analyte	อะฟลาทอกซิน (µg/kg)		
	FAPAS's assigned value (n=16)	FAPAS's satisfactory range	Analyte found (n=8)
Aflatoxin B1	18.0	1.8-34.2	15.8±0.8
Aflatoxin B2	2.7	0-6.0	1.8±0.3
Aflatoxin G1	9.9	0-19.9	8.8±0.8
Aflatoxin G2	1.2	0-2.6	0.5±0.2
Total Aflatoxin	32.0	6.4-57.6	26.9±1.8

จากค่า assigned value ของปริมาณอะฟลาทอกซินรวมในตัวอย่างข้าวโพด contaminated corn และ ถั่วลิสง contaminated peanut นำมาคำนวณค่า %RSD, b และ target value for SD, σ

ตามวิธีที่กำหนดใน ISO/IUPAC/AOAC INTERNATIONAL (Thompson and Wood, 1993) แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า assigned value, %RSD, b และ σ หน่วยเป็น $\mu\text{g/ml}$

	Contaminated corn	Contaminated peanuts
assigned value	35.58	49.94
%RSD	22.32	21.63
b	0.2232	0.2163
σ	7.90	10.80

สำหรับตัวอย่างนม ห้องปฏิบัติการสมาชิกได้รับสารมาตรฐาน อะฟลาทอกซิน M_1 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 2 ขวด ซึ่งปิดฉลาก SM 1 ขวด และ M_1 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 1 ขวด และได้รับคำแนะนำให้จัดหาตัวอย่างนม UHT หรือ sterilized แล้วแยกวิเคราะห์เป็น 4 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 100 mL คือ

1. นม control
2. นมที่เติมสารมาตรฐานรหัส SM ปริมาตร 125 μL
3. นมที่เติมสารมาตรฐานรหัส SM ปริมาตร 250 μL
4. นมที่เติมสารมาตรฐานรหัส SM ปริมาตร 500 μL

ห้องปฏิบัติการสมาชิกจะต้องทำการวิเคราะห์ตัวอย่างนมโดยใช้สารมาตรฐาน รหัส M_1 0.4 $\mu\text{g/mL}$ ที่ได้รับเป็นสารมาตรฐานในการคำนวณ ดังนั้นปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่างนมที่เติมสารมาตรฐานควรจะเป็น 0.5, 1.0 และ 2.0 $\mu\text{g/L}$ เมื่อนำปริมาณอะฟลาทอกซิน มาคำนวณค่า σ จะได้ค่า σ เท่ากับ 0.25, 0.45 และ 0.82 $\mu\text{g/L}$ ตามลำดับ

จากค่า assigned value และ σ นำมาคำนวณค่า z score ของห้องปฏิบัติการที่ตอบผลวิเคราะห์

การรายงานผลการสอบเทียบ

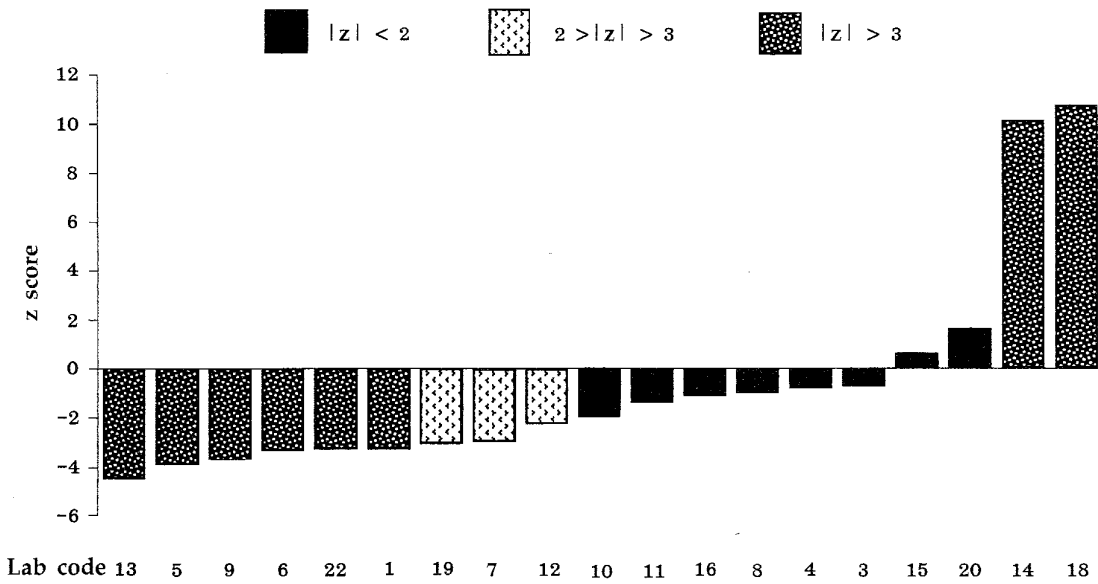
ห้องปฏิบัติการสมาชิกตอบผลพร้อมแจ้งวิธี

วิเคราะห์ที่ใช้จำนวน 24 แห่ง โดยแจ้งว่าใช้วิธี TLC 8 แห่ง HPLC 8 แห่ง ELISA 7 แห่ง และ minicolumn 1 แห่ง แต่ได้นำผลมาประเมินเพียง 22 แห่ง เนื่องจาก Lab 02 ใช้วิธี minicolumn ซึ่งไม่สามารถตอบผลเป็นปริมาณที่แน่นอนได้ จึงไม่เข้าเกณฑ์การสอบเทียบครั้งนี้ และ Lab 17 แจ้งขอยกเลิกผลที่ส่งมา วิธีวิเคราะห์และชนิดตัวอย่างสอบเทียบที่วิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการสมาชิก

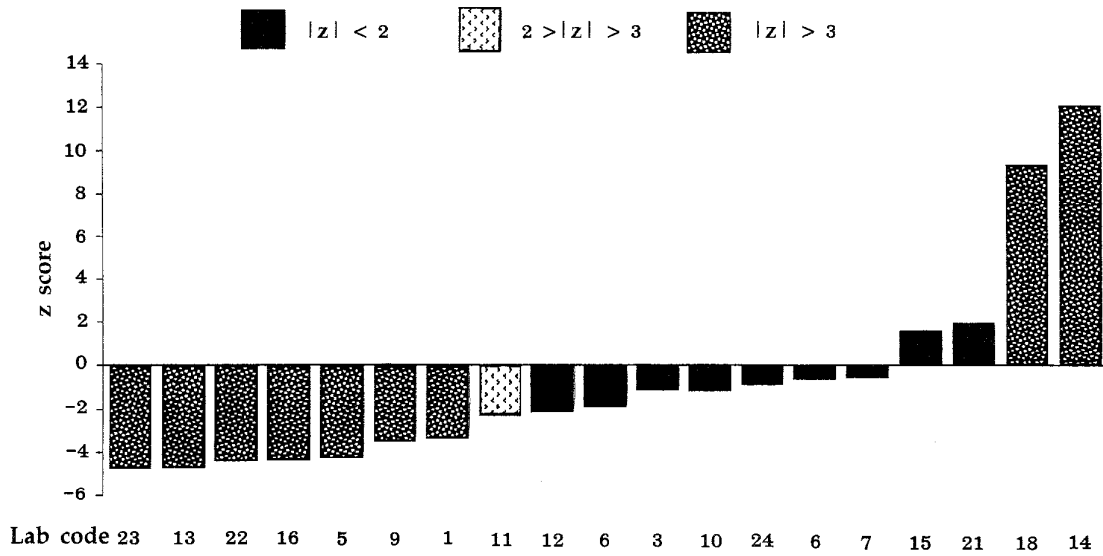
ผลการสอบเทียบ

ค่า z score ของผลวิเคราะห์ ตัวอย่างข้าวโพด และถั่วลิสง control และข้าวโพดและถั่วลิสง contaminated ภาพที่ 1 และ 2

สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างนม มีห้องปฏิบัติการตอบผลวิเคราะห์จำนวน 4 แห่ง ตัวอย่างที่ไม่ได้เติมสารมาตรฐาน หรือ control milk รายงานตรวจไม่พบเกือบทั้งหมด มีเพียง 1 แห่ง ที่รายงานตรวจพบ 0.2 $\mu\text{g/L}$ ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน M_1 ที่ 0.5, 1.0 และ 2.0 $\mu\text{g/L}$ ห้องปฏิบัติการสมาชิกรายงานปริมาณตรวจพบเฉลี่ย เท่ากับ 0.45, 1.08 และ 2.27 $\mu\text{g/L}$ เมื่อนำมาคิดค่า z score มีห้องปฏิบัติการเพียงแห่งเดียวเท่านั้นที่มีค่า z score ที่ไม่น่าพอใจ ดังแสดงในตารางที่ 4



ภาพที่ 1 z score ของผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน
ในตัวอย่าง contaminated corn (2541)



ภาพที่ 2 z score ของผลการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซิน
ในตัวอย่าง contaminated peanuts (2541)

ตารางที่ 4 ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน M_1 ในนม หน่วยเป็น $\mu\text{g/L}$ และค่า z score

Lab code	control milk	0.5 $\mu\text{g/L}$, $\sigma = 0.25$		1.0 $\mu\text{g/L}$, $\sigma = 0.45$		2.0 $\mu\text{g/L}$, $\sigma = 0.82$		method use
		found	z score	found	z score	found	z score	
09	nd	nd	-2.0	0.52	-1.1	0.49	-1.8	TLC
13	nd	0.4	-0.4	0.9	-0.2	1.9	-0.1	HPLC
18	nd	1.2	2.8	2.6	4.7	5.9	4.8	HPLC
24	0.2	0.2	-1.2	0.3	-0.2	0.8	-1.5	HPLC
MEAN	0.05	0.45		1.08		2.27		
SD	0.1	0.52		1.04		2.49		
%RSD	200	115.6		96.3		109.7		

วิจารณ์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้ดำเนินการสอบเทียบการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินครั้งแรก เมื่อปี พ.ศ. 2540 เพื่อศึกษาสถานภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในประเทศไทย และได้จัดฝึกอบรมเพื่อพัฒนาความรู้และทักษะในการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหาร 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวโพด ถั่วลิสง และนม ให้แก่ผู้วิเคราะห์ทั้งภาครัฐและเอกชนเมื่อปี พ.ศ. 2541 โดยมีความมุ่งหมายให้ผู้เข้ารับการอบรมได้รับความรู้เรื่องการประกันคุณภาพ การเตรียมตัวอย่าง การเตรียมสารมาตรฐาน หลักการเลือกวิธีวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์ของการใช้ผล และผู้เข้าอบรมยังได้ฝึกเทคนิคการสกัดตัวอย่าง ข้าวโพด ถั่วลิสง และนม ตามวิธีมาตรฐาน และการตรวจชนิดและปริมาณด้วย TLC HPLC และ Fluorometer การสอบเทียบครั้งนี้เป็นครั้งที่สอง มีความมุ่งหมายเพื่อใช้เป็นเครื่องมือในการประเมินผลการอบรมของสมาชิกส่วนหนึ่ง และเพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการที่เคยเข้าร่วมโครงการครั้งแรกอีกส่วนหนึ่ง

การรายงานผลการสอบเทียบครั้งนี้ สำหรับตัวอย่างที่ใช้เป็น control จัดได้ว่าการรายงานผลถูกต้องเกือบทั้งหมด โดยมีค่า z score ที่น่าพอใจ ถึงร้อยละ 89 สำหรับข้าวโพด และ ร้อยละ 79 สำหรับถั่วลิสง และมี Lab 23 แห่งเดียวที่รายงานตรวจพบอะฟลาทอกซินปริมาณ 57.10 ppb ในตัวอย่าง control peanuts (PC) แต่รายงานตรวจไม่พบในตัวอย่าง contaminated peanuts (P1) ซึ่งน่าจะมาจากความผิดพลาดจากการรายงานผลมากกว่าความผิดพลาดจากการวิเคราะห์ สมาชิกที่ใช้วิธีวิเคราะห์ที่สามารถแยกชนิดอะฟลาทอกซินได้ ก็สามารถรายงานได้ถูกต้องเกือบทั้งหมดมีเพียง Lab 18 เพียงแห่งเดียวที่รายงานปริมาณ B_1 , B_2 และ G_2 โดยไม่พบ G_1 แสดงว่าสมาชิกมีความรู้เข้าใจในธรรมชาติของอะฟลาทอกซินมากขึ้น ตัวอย่างถั่วลิสง natural contaminated peanut ที่ใช้เป็นตัวอย่างสอบเทียบครั้งนี้ มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว (paste) มีความหนืด ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างปกติ เนื่องจากการเตรียมตัวอย่างสอบเทียบต้องการได้ตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งในการปั่นตัวอย่างขณะเตรียมต้อง

เติมน้ำมันถั่วลิสงเพื่อให้ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุด อาจทำให้มีปัญหาในการกรองหลังจากการสกัดด้วย solvent ถ้าต้องการปริมาณ aliquot มากต้องใช้เวลาในการกรองนาน อาจทำให้ตรวจพบปริมาณอะฟลาทอกซินน้อยลงได้ เนื่องจากอะฟลาทอกซินจะสลายตัวด้วยแสง UV (Scott, 1995)

การหาค่า assigned value ในการสอบเทียบครั้งนี้ ได้เปลี่ยนแปลงจากการสอบเทียบครั้งก่อนที่ใช้ค่าที่ได้จาก expert laboratory มาใช้ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ควบคุมคู่ไปกับ reference material ที่สามารถสอบกลับไปถึงระดับนานาชาติได้ ซึ่งเป็นไปตามวิธีที่ ISO/IEC Guide 43, 1996 กำหนดไว้โดยผลวิเคราะห์ reference material อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่เนื่องจากแหล่งผลิต reference material ของการวิเคราะห์ตัวอย่างอะฟลาทอกซินมีจำกัด ทำให้ไม่สามารถจัดหาตัวอย่างข้าวโพดได้ จำเป็นต้องใช้ตัวอย่าง nut powder ในการวิเคราะห์หาค่า assigned value ของตัวอย่างทั้งสองชนิด

ส่วนผลวิเคราะห์ตัวอย่างนม เนื่องจากการสอบเทียบปี 2540 ได้ส่งตัวอย่างนม UHT ที่เติมสารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน M_1 ไปให้สมาชิก พบว่าตัวอย่างนมส่วนใหญ่บดเสียไม่เหมาะกับการวิเคราะห์ในการสอบเทียบครั้งนี้ จึงกำหนดให้ห้องปฏิบัติการจัดหาตัวอย่างนม UHT หรือ sterilized ปริมาตรตัวอย่างละ 100 ml แล้วเติมสารมาตรฐาน M_1 รหัส SM ความเข้มข้น 0.4 $\mu\text{g/ml}$ ปริมาตรตามที่กำหนดซึ่งทำให้ได้ตัวอย่างนมที่มีอะฟลาทอกซิน M_1 ในระดับที่ Codex กำหนด คือ 0.5 $\mu\text{g/L}$ และ 2, 4 เท่าของระดับที่ Codex กำหนด (1.0, 2.0 $\mu\text{g/L}$) ให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์โดยใช้สารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน M_1 รหัส M_1 ความเข้มข้น 0.4 $\mu\text{g/ml}$ ที่ส่งไปให้ด้วยเป็นสารมาตรฐานในการวิเคราะห์ ซึ่งห้องปฏิบัติการทั้งหมดที่รับตัวอย่างไปจำนวน 4 แห่งตอบผลทั้งหมด

โดยใช้วิธี TLC 1 แห่ง และ HPLC 3 แห่ง พบว่ามีห้องปฏิบัติการที่มีผลการวิเคราะห์หน้าพอใจ (z score น้อยกว่า 2) ถึง 3 แห่ง แสดงถึงความมีศักยภาพในการตรวจสอบสารพิษในปริมาณน้อยของห้องปฏิบัติการเหล่านั้น อย่างไรก็ตาม รูปแบบการจัดส่งตัวอย่างสอบเทียบโดยให้ห้องปฏิบัติการจัดหาตัวอย่างและเติมสารมาตรฐานที่จัดส่งไปให้ สามารถถูกนำมาใช้ในรูปแบบของการเตรียมตัวอย่างสอบเทียบ และจัดส่งทางไปรษณีย์ที่เสี่ยงต่อการที่ตัวอย่างเสียหาย (perishable sample) ได้รูปแบบหนึ่ง

สรุป

การสอบเทียบผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในตัวอย่างข้าวโพด ถั่วลิสง และนม ปี 2541 ดำเนินการโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นการดำเนินการสอบเทียบครั้งที่ 2 ซึ่งได้มีการปรับปรุงวิธีดำเนินการให้เป็นไปตามข้อกำหนดที่สากลยอมรับ นั่นคือ ISO/IEC Guide 43 (1996) และยังได้มีการพัฒนาความรู้เพื่อดำเนินการในลักษณะของการพึ่งพาตนเอง ทำให้ได้รูปแบบและบุคลากรที่ทำให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์สามารถเป็นผู้ดำเนินการสอบเทียบในด้าน การวิเคราะห์อาหารได้อีกสาขาหนึ่ง ซึ่งจะช่วยยกระดับคุณภาพการวิเคราะห์สารพิษอะฟลาทอกซินในภาพรวมของประเทศ ให้เป็นที่ยอมรับและมีความน่าเชื่อถือได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมกระทรวงอุตสาหกรรมที่สนับสนุนค่าใช้จ่าย Dr. Mary Trucksess, U.S. FDA ที่ได้จัดหาตัวอย่างสอบเทียบ ทบทวนความถูกต้องของการหาค่า assigned value และให้คำแนะนำทางวิชาการ คุณลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ อนุเคราะห์ให้ใช้เครื่อง

มีอ HPLC คุณจิตตภา สันทัดรบ ที่ได้ช่วยจัดส่งตัวอย่างสอบเทียบ กับขอบคุณห้องปฏิบัติการทุกแห่งที่เข้าร่วมการสอบเทียบ

เอกสารอ้างอิง

วงศ์พุทธพิทักษ์ อ, อธิสุข ก, สุประเสริฐ ด. สถานภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในประเทศไทย พ.ศ.2540 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2540 : 66 หน้า

วงศ์พุทธพิทักษ์ อ, อธิสุข ก, สุประเสริฐ ด. รายงานการอบรม เรื่อง การวิเคราะห์อะฟลาทอกซิน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2541 : 49 หน้า

Albert R, Horwitz W. A Heuristic Derivative of the Horwitz Curve. *Anal. Chem.* 1997; 69 : 789-790.

ISO/IEC Guide 43-1. Proficiency testing by international comparisons - Part 1 :

Development and operation of proficiency testing schemes. Geneva: ISO/IEC Copyright Office, 1996 : 11.

Scott PM (chapter editor). Natural Toxins. in Cunniff P (editor) *Official Methods of Analysis*. 16th edition. Gaithersburg : AOAC International, 1995 : 49-1.

Thompson M, Wood R. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories. *J. AOAC International*, 1993; 76(4) : 926-940.

Vongbuddhapitak A, Trucksess MW, Atisook K *et al.*, Laboratory Proficiency Testing of Aflatoxins in Corn and Peanuts - A Cooperative Project between Thailand and the United States. *J AOAC International*, 1999; 82(2) : 259-263.