การตรวจสอบการปนเปื้อนสารพิษเชื้อราด้วยวิธี ELISA

นายธนภูมิ มณีบุญ
นักวิจัย ชำนาญการพิเศษ
ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก.

การปนเปื้อนสารพิษเชื้อราในอาหาร เป็นประเด็นหนึ่งที่สำคัญในด้านความปลอดภัยอาหารที่พบในทุกภูมิภาคทั่วโลก สารพิษนี้เป็นสารทุติยภูมิที่สร้างโดยเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตผลการเกษตร มีความเป็นพิษรุนแรงต่อสุขภาพของคนและสัตว์ที่บริโภคอาหารที่ปนเปื้อนสารพิษเชื้อรา นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตผลการเกษตรและผลิตภัณฑ์อาหาร และเกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจ ในแต่ละประเทศจึงได้กำหนดปริมาณการปนเปื้อนสูงสุดของสารพิษเชื้อราในอาหารประเภทแต่ละชนิด รวมทั้งมีการเฝ้าระวังโดยการสุ่มตรวจคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารอย่างเป็นประจำ เพื่อป้องกันความเสี่ยงของผู้บริโภคจากการได้รับสารพิษเชื้อราที่ปนเปื้อนในอาหาร

การตรวจสอบการปนเปื้อนสารพิษเชื้อราทำได้ 2 วิธี คือ วิธีทางเคมี และวิธีทางอิมมูโนวิทยา สำหรับวิธีทางเคมี เช่น HPLC และ TLC จะให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องและแม่นยำ แต่มีข้อจำกัด คือ ค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างค่อนข้างสูง และต้องใช้เครื่องมือวิเคราะห์ที่มีราคาแพง สำหรับวิธีทางอิมมูโนวิทยา เช่น ELISA และ Immunochromatographic strip ถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง เนื่องจากปัจจุบันมีชุดตรวจสอบสารพิษเชื้อราทางการค้าหลายชนิดออกวางจำหน่ายในท้องตลาด โดยเฉพาะชุดตรวจสอบ ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความจำเพาะ (Specificity) ค่อนข้างสูง เนื่องจากใช้หลักการทำปฏิกิริยาที่จำเพาะระหว่างเอนติเจน (Antigen) และแอนติบอดี (Antibody) โดยสารพิษเชื้อราที่สกัดออกจากตัวอย่างอาหารจะเป็นแอนติเจน ส่วนแอนติบอดีที่จำเพาะต่อสารพิษเชื้อราชนิดนั้นๆ จะถูกตรึงไว้ในหลุมทดสอบ สำหรับชุดตรวจสอบ ELSIA ส่วนใหญ่จะใช้หลักการแข่งขันแบบตรง (Direct competitive ELISA) ทั้งนี้สามารถตรวจสอบการเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนติเจนและแอนติบอดีได้โดยอาศัยเอนไซม์เป็นตัวบ่งชี้

เทคนิค ELISA มีข้อดี คือ สามารถใช้คัดกรองตัวอย่างปริมาณมาก ให้ผลการตรวจสอบในเชิงปริมาณโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยการอ่านผลด้วยเครื่อง Microplate reader และยังสามารถอ่านคาดคะเนผลด้วยสายตา ทำได้สะดวก รวดเร็ว และมีราคาถูก อย่างไรก็ตามเทคนิคนี้มีข้อจำกัด คือ มีความแม่นยำต่ำกว่าวิธีทางเคมี และอาจเกิดผล False positive/negative

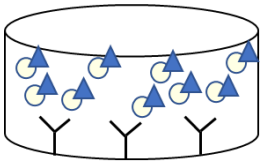
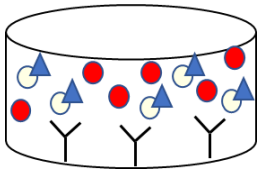
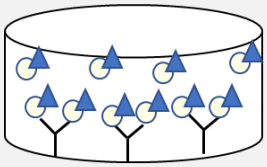
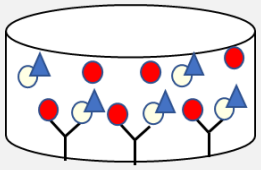
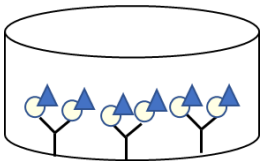
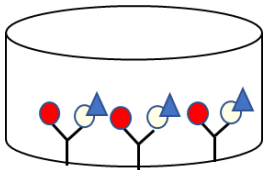
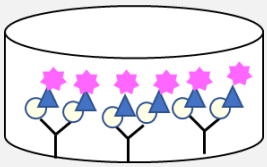
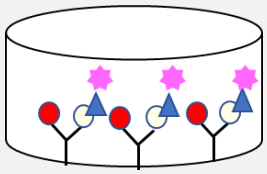
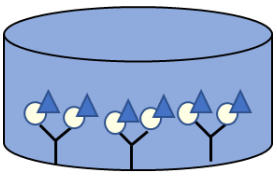
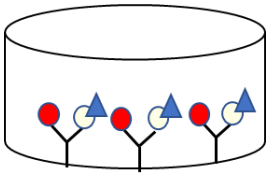
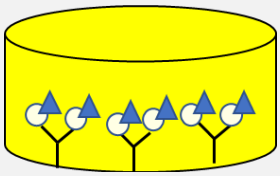
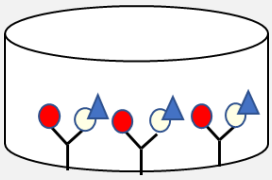
หลักการของ Direct competitive ELISA สำหรับการตรวจสอบสารพิษอะฟลาทอกซิน

แอนติบอดีที่จำเพาะต่ออะฟลาทอกซิน

อะฟลาทอกซินที่ถูกสกัดออกจากตัวอย่าง

Conjugate [อะฟลาทอกซินที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอก (△)]

สับสเตรท

ขั้นตอน	กรณีตัวอย่างไม่มีสารอะฟลาทอกซิน	กรณีตัวอย่างมีสารอะฟลาทอกซิน
1. เติมสารสกัดตัวอย่าง และ Conjugate ลงในหลุมทดสอบที่มีแอนติบอดี		
2. อะฟลาทอกซินในสารสกัดตัวอย่างและ Conjugate จะแย่งกันเพื่อไปจับกับแอนติบอดี		
3. บ่มและล้างสารส่วนเกินที่ไม่ได้ทำปฏิกิริยาออกจากหลุมทดสอบ		
4. เติมสับเสรตทลงในหลุมทดสอบ		
5. เอนไซม์ของ Conjugate จะเปลี่ยนสับสเตรทให้เป็นสารที่มีสีฟ้า		
6. หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยการเติมกรด สารละลายจะเปลี่ยนจากสีฟ้าเป็นสีเหลือง		

ความเข้มของสีจะแปรผกผันกับปริมาณอะฟลาทอกซินในตัวอย่าง

- ❑ ปรากฏสี ➔ อะฟลาทอกซินที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอกจับกับแอนติบอดี ➔ ไม่มีอะฟลาทอกซิน
- ❑ ไม่ปรากฏสี ➔ อะฟลาทอกซินที่ผูกติดกับเอนไซม์ชี้บอกไม่จับกับแอนติบอดี ➔ มีอะฟลาทอกซิน

เอกสารอ้างอิง

Zheng, M.Z., J.L. Richard and J.A. Binder. 2006. A Review of Rapid Methods for the Analysis of Mycotoxins. Mycopathologia 161: 261–273.