

เทคนิคการเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารพิษเชื้อรา

ชนัญญา ช่วยศรีนวล

นักวิจัย ชำนาญการ

ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก.

การประเมินความปลอดภัยด้านสารพิษจากเชื้อราในวัตถุดิบทางการเกษตรมีความสำคัญต่อการตัดสินใจจำหน่ายให้ผู้บริโภค หรือนำไปแปรรูปในขั้นตอนถัดไปเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร การตรวจวิเคราะห์ทำให้ทราบระดับหรือปริมาณการปนเปื้อนซึ่งมีความสำคัญต่อการตัดสินใจดังกล่าว การตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง แม่นยำ และรวดเร็ว ย่อมช่วยให้สามารถจัดการความปลอดภัยในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรได้ดียิ่งขึ้น การตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ (Quantitative analysis) สามารถวิเคราะห์ปริมาณการปนเปื้อนในระดับต่ำได้ดี ทราบค่าการปนเปื้อนที่มีความน่าเชื่อถือและแม่นยำสูง สามารถใช้ประเมินความเสี่ยงต่อการได้รับสารพิษได้ การวิเคราะห์การปนเปื้อนสารพิษเชื้อราในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและอาหาร ประกอบด้วยขั้นตอนการสกัดสารพิษออกจากตัวอย่าง และขั้นตอนการแยกและวิเคราะห์สารซึ่งปัจจุบันนิยมใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีเหลว เช่น TLC, UHPLC และ LC-MS/MS

ในปัจจุบันการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์สารพิษเชื้อรามุ่งเน้นความรวดเร็ว ความแม่นยำสูง และการลดใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย (Green Extraction) เพื่อรองรับการวิเคราะห์สารพิษหลายชนิดพร้อมกัน (Multi-mycotoxins) โดยพัฒนากระบวนการง่ายขึ้น และการได้ผลลัพธ์ที่รวดเร็ว ขั้นตอนที่สำคัญที่สุดก่อนการวิเคราะห์สารพิษเชื้อรา คือการกำจัดสิ่งรบกวน (Clean-up) เป็นขั้นตอนสำคัญในการแยกสารพิษออกจากสิ่งรบกวน เช่น น้ำตาล, ไขมัน, เม็ดสี การเลือกใช้ตัวทำละลายและวิธีการ Clean-up ที่เหมาะสมจะลดผลกระทบจากเมทริกซ์สามารถสกัดสารพิษออกจากตัวอย่างได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดและปลอดภัยต่อผู้ใช้

เทคนิคการเตรียมตัวอย่างเพื่อกำจัดสิ่งรบกวน (Clean-up) สำหรับวิเคราะห์สารพิษเชื้อรา

1. Immunoaffinity Column (IAC) คือ การใช้ความจำเพาะเจาะจงทางชีวภาพระหว่างแอนติบอดี (Antibody) และ แอนติเจน (Antigen) ซึ่งในที่นี้คือสารพิษจากเชื้อรา เพื่อแยกสารพิษออกจากสิ่งเจือปนอื่นๆ ในตัวอย่าง วิธีนี้ให้ความบริสุทธิ์ของสารสกัดสูงมาก ช่วยลดสัญญาณรบกวน (Matrix Interference) และช่วยยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือวิเคราะห์ราคาแพง เช่น UHPLC, LC-MS/MS (Agriopoulou *et al.*, 2020) ข้อจำกัดของวิธีนี้คือต้นทุนต่อคอลัมน์ค่อนข้างสูง และมีข้อจำกัดเรื่องปริมาณสารที่จับได้ (Column Capacity) หากมีสารพิษในตัวอย่างสูงเกินไปอาจเกิดการอิ่มตัวของแอนติบอดี ปัจจุบันมีการพัฒนาเป็นคอลัมน์แบบจับสารพิษได้หลายชนิดพร้อมกัน (Multi-mycotoxin IAC) เพื่อความรวดเร็วในการวิเคราะห์

2. QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) เป็นเทคนิคการเตรียมตัวอย่างที่ได้รับความนิยมสูงสุดในปัจจุบันสำหรับการวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxins) สามารถสกัดสารพิษจากเชื้อราได้มากกว่า 20–30 ชนิดในครั้งเดียว ใช้ตัวทำละลายน้อยและอุปกรณ์ราคาไม่แพง เมื่อเทียบกับวิธีดั้งเดิม ลดเวลาการเตรียมตัวอย่างเหลือเพียงไม่กี่นาทีต่อตัวอย่าง

- μ - QuEChERS (Micro-QuEChERS) คือ การย่อส่วนของเทคนิค QuEChERS แบบดั้งเดิม ลดปริมาณตัวทำละลายเหลือเพียงระดับไมโครลิตร ลดค่าใช้จ่ายด้านสารเคมีและเกลือสกัดได้มากกว่า 10 เท่า มักใช้ร่วมกับวัสดุนาโนสมัยใหม่ เช่น Graphene Oxide หรือ Carbon Nanotubes เพื่อให้สามารถกำจัดสิ่งเจือปนได้ดี แม้ใช้ตัวดูดซับในปริมาณน้อยเหมาะกับตัวอย่างที่มีปริมาณน้อยหรือหายาก เช่น พืชสมุนไพร, เครื่องเทศราคาแพง (Lin *et al.*, 2025)

3. เทคนิคการสกัดด้วยของเหลวระดับจุลภาค (Liquid-Phase Microextraction - LPME) เป็นนวัตกรรมที่เข้ามาแทนที่การสกัดแบบเดิม โดยเน้นการใช้ตัวทำละลายในปริมาณที่น้อยมาก (ระดับไมโครลิตร) เพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานและลดมลพิษ

- การสกัดระดับจุลภาคด้วยของเหลวแบบกระจาย (Dispersive liquid-liquid microextraction, DLLME) คือ การสกัดสารโดยใช้ตัวทำละลายสกัด (Extraction solvent) ผสมกับตัวทำละลายช่วยกระจาย (Disperser solvent) ฉีดลงในตัวอย่างน้ำอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดละอองขนาดเล็กทั่วทั้งสารละลาย ช่วยให้พื้นที่ผิวสัมผัสสูงขึ้นและสกัดสารได้เกือบจะทันที เทคนิคนี้ได้รับความนิยมสูงสุด เนื่องจากมีความรวดเร็วและมีประสิทธิภาพในการเพิ่มความเข้มข้นสารสูง สามารถสกัดสารพิษอะฟลาทอกซินในพืชสมุนไพร (Maneeboon *et al.*, 2023) โดยสามารถกำจัดเมทริกซ์ที่ซับซ้อนออกได้ดี ปัจจุบันมีการใช้ Deep Eutectic Solvents (DES) ซึ่งเป็นตัวทำละลายสีเขียวที่เตรียมจากสารธรรมชาติ (เช่น กรดอินทรีย์และน้ำตาล) แทนคลอโรฟอร์ม สามารถสกัดสารพิษอะฟลาทอกซินในข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ (He *et al.*, 2019) มีความเป็นพิษต่ำและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

- การสกัดระดับจุลภาคด้วยไฟเบอร์ที่เป็นโพรง (Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction, HF-LPME) คือ การสกัดสารพิษจากเชื้อราโดยใช้เส้นใยกลวง (Hollow Fiber) ที่ทำจากวัสดุประเภท Polypropylene ที่มีรูพรุนระดับไมโครที่มีรูพรุนระดับไมโครเมตร ทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (Membrane) ตัวทำละลายสกัดจะถูกบรรจุอยู่ภายในรูพรุนและช่องว่างกลางของเส้นใย เมื่อจุ่มเส้นใยลงในตัวอย่างสารพิษจากเชื้อราจะแพร่ผ่านรูพรุนเข้าสู่ตัวทำละลายภายใน รูพรุนของเส้นใยจะทำหน้าที่กั้นโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน หรือไขมัน ไม่ให้ผ่านเข้ามา ทำให้สารสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงมาก เหมาะสำหรับตัวอย่างที่มีความซับซ้อนสูง เช่น อะฟลาทอกซินในน้ำมัน (Siming Huang *et al.*, 2015)

เอกสารอ้างอิง

- Agriopoulou, S., E. Stamatelopoulou and T. Varzakas. 2020. Advances in Analysis and Detection of Major Mycotoxins in Foods. **Foods**. 20: 9(4):518.
- He, T., T. Zhou, Y. Wan, T. Tan .2019. A Simple Strategy Based on Deep Eutectic Solvent for Determination of Aflatoxins in Rice Samples. **Food Anal. Methods**. 13: 542–550
- Lin, R., J. Yuan, H. Feng, Y. Liu, Y. Fan, Y. Tan, and Z. Tang. 2025. Comprehensive overview: QuEChERS methods for mycotoxin determination in different matrices. **Food Additives & Contaminants: Part A**. 42(11) 1584–1613.
- Siming Huang, D. H., Y. Wang, F. Zhu, R. Jiang and G. Ouyang. 2015. Automated hollow-fiber liquid-phase microextraction coupled with liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the analysis of aflatoxin M1 in milk. **Journal of Chromatography A**. 1416 :137-140.
- Maneeboon, T., C. Chuaysrinule and W. Mahakarnchanakul. 2023. Optimization and validation of dispersive liquid–liquid microextraction for simultaneous determination of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in senna leaves and pods using HPLC-FLD with pre-column derivatization. **Toxins**. 15: 277.