การวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราด้วยวิธีการทางเคมี

กฤตยา เพชรผึ้ง
นักวิจัยชำนาญการ
ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์
สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่ง มก. ม.เกษตรศาสตร์

สารพิษจากเชื้อรา (Mycotoxin) เป็นสาร secondary metabolite ที่เชื้อราสร้างขึ้น ซึ่งความเป็นพิษนั้นมีหลากหลาย เช่น เป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen), เป็นพิษต่อตับ, ต่อระบบสืบพันธุ์, ต่อระบบภูมิคุ้มกัน และระบบอวัยวะอื่น ๆ สารพิษจากเชื้อราที่สำคัญ ได้แก่ Aflatoxins, Fumonisins, Ochratoxins, Patulin, Trichothecenes และ Zearalenone

ในปัจจุบันมีข้อกำหนดของระดับการปนเปื้อนที่ยอมรับได้สูงสุด (Maximum residue limit; MRL) ของสารพิษจากเชื้อราของหลายประเทศ ซึ่งมักอยู่ในระดับ ppm หรือ ppb ดังนั้นการวิเคราะห์สารพิษในระดับต่ำดังกล่าวจึงต้องใช้วิธีการทดสอบที่มีประสิทธิภาพ

การวิเคราะห์สารพิษจากเชื้อราด้วยวิธีการทางเคมีมีขั้นตอนหลัก ๆ 3 ส่วน คือ 1. ขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง 2. ขั้นตอนการสกัด และ 3. ขั้นตอนการวิเคราะห์ ซึ่งต้องให้ความสำคัญในทุกขั้นตอนเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่แม่นยำและถูกต้อง

ในขั้นตอนการสุ่มตัวอย่าง เป้าหมายคือการสุ่มให้ได้ตัวแทนที่ดีของตัวอย่างสินค้าทั้งหมด ส่วนขั้นตอนการสกัดและการวิเคราะห์ต้องคำนึงถึงสมบัติทางเคมีและกายภาพของสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิด ซึ่งสมบัติเหล่านั้นได้แก่ จุดเดือด, มวลโมเลกุล, ความสามารถในการละลาย, การดูดกลืนคลื่นแสง, การเรืองแสง รวมถึงความคงตัวของสารพิษจากเชื้อรานั้น ๆ

การสกัดสารพิษจากเชื้อราออกจากตัวอย่างนั้น มีเป้าหมายคือการสกัดสารพิษจากเชื้อราออกจากตัวอย่างให้มาอยู่ในตัวทำละลายให้มากที่สุดโดยมีสารอื่น ๆ ที่จะถูกสกัดร่วมออกมาด้วยน้อยที่สุด ดังนั้นการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งจำเป็นเป็นอย่างยิ่ง สารพิษที่มีความเป็นขั้วสูง เช่น patulin สามารถใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดได้ ขณะที่สารพิษที่มีความเป็นขั้วน้อยกว่าอย่าง aflatoxin และ zearalenone ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วอย่าง methanol, ethanol หรือ chloroform เป็นตัวทำละลายในการสกัด ในการสกัดนี้ถ้าสารสกัดมีสารอื่น ๆ ที่ถูกสกัดร่วมออกมามากและรบกวนการวิเคราะห์ ก็อาจใช้การ clean-up โดยการตกตะกอน, การใช้ liquid-liquid partition, solid phase extraction หรือ immunoaffinity column ช่วยกำจัดสารอื่นออกไปก่อนการวิเคราะห์ได้

ขั้นตอนการวิเคราะห์ มีเป้าหมายในการตรวจวัดสารพิษจากเชื้อราที่อยู่ในสารสกัด ซึ่งสามารถตรวจวัดได้โดยเทคนิคทาง spectrophotometry โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer, Fluorometer และ Near infrared spectrometer หรือ เทคนิคทาง chromatography ได้แก่ Gas chromatography, Liquid chromatography และ Thin layer chromatography

ซึ่งการเลือกวิธีในการสกัดและการวิเคราะห์นั้นต้องคำนึงถึงคุณสมบัติของสารพิษจากเชื้อราแต่ละชนิดดังแสดงในตารางสรุปด้านล่างนี้

คุณสมบัติบางประการของสารพิษจากเชื้อรา

สารพิษ	มวลโมเลกุล	การละลาย	ความยาวคลื่นของการดูดกลืนคลื่นแสง (nm)	การเรืองแสง
Aflatoxin	B1 (312), B2 (314), G1 (328), G2 (330) และ M1 (328)	ละลายได้น้อยในน้ำ, ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้ว , ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น chloroform, methanol และ DMSO	B1 (353), B2 (355), G1 (355), G2 (357) และ M1 (357)	Ex: 365 nm, Em: 450 nm
Fumonisins	B1 (721) และ B2 (705)	ละลายได้ในน้ำ, acetonitrile, methanol	ไม่ดูดกลืนคลื่นแสง UV	ไม่เรืองแสง
Ochratoxin	A (403), B (369) และ C (431)	ละลายได้ใน chloroform, ethanol, methanol, xylene	OTA (333)	Ex: 330 nm, Em: 460 nm
Patulin	154	ละลายได้ในน้ำ, methanol และ ethanol	275	ไม่เรืองแสง
Trichothecenes	-Type A; T-2 (466), HT-2 (424) -Type B; NIV (312), DON (296)	-Type A ละลายได้ในตัวทำละลายที่ค่อนข้างมีขั้ว ได้แก่ ethyl acetate, acetone และ diethyl ether -Type B ละลายได้ในตัวทำละลายที่มีขั้ว ได้แก่ methanol, acetonitrile และ ethanol	ดูดกลืนคลื่นแสง UV ได้ต่ำ	ไม่เรืองแสง
Zearalenone	318	ละลายได้ใน methanol, ethanol, DMSO และ dimethyl formamide	274	Ex: 278 nm, Em: 460 nm

บรรณานุกรม:

กฤตยา เพชรผึ้ง. 2556. เอกสารประกอบการสอนโครงการฝึกอบรมเชิงปฏิบัติการ การตรวจสอบสารพิษเชื้อราในอาหาร. 20-22 พฤษภาคม 2556. ฝ่ายเครื่องมือและวิจัยทางวิทยาศาสตร์ ม.เกษตรศาสตร์

Jonathan W. DeVries, Mary W. Trucksess, and Lauren S. Jackson. 2002. Mycotoxins and food safety New York : Kluwer Academic/Plenum.

Rivka Barkai-Golan and Nachman Paster. 2008. Mycotoxins in fruits and vegetables. Amsterdam: Academic press

Sarah De Saeger. 2011. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed Oxford : Woodhead Publishing.