

การทวนสอบวิธีและการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในนมและผลิตภัณฑ์นม Validation and the study of aflatoxin M₁ contamination in milk and milk products

อภิษฐา ช่างสุพรรณ^{1*}

Apisthaa Changsuphan^{1*}

บทคัดย่อ

อะฟลาทอกซินเอ็ม₁ (AFM₁) เป็นสารพิษที่เกิดจากเมทาบอลิซึมของสารพิษอะฟลาทอกซินบี₁ (AFB₁) เกิดขึ้นภายในร่างกายสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่บริโภคอาหารสัตว์ที่มีการปนเปื้อน AFB₁ เข้าไปจะถูกเมทาบอลิซึมโดยเอนไซม์ในเซลล์ตับเปลี่ยนเป็น AFM₁ และถูกขับออกมาทางน้ำนม ปัญหาการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ และน้ำนมนั้นมีผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคทั้งในทางตรงและทางอ้อม หากได้รับอย่างต่อเนื่องอาจเพิ่มความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งในตับ คณะกรรมาธิการอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission) ที่กำหนดให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในน้ำนม น้อยกว่า 0.5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ดังนั้นงานวิจัยนี้ศึกษาวิธีทดสอบสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ (AFM₁) โดยตรวจวัดด้วยเครื่อง HPLC เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบ และจากการทวนสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า มีความสัมพันธ์เชิงเส้นในระดับความเข้มข้น 0.1 ถึง 50 ไมโครกรัม/ลิตร ขีดจำกัดการตรวจพบ (limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.001 ไมโครกรัม/ลิตร ขีดจำกัดการวัดปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 0.004 ไมโครกรัม/ลิตร โดยค่าความแม่นยำ (accuracy) แสดงด้วยร้อยละการคืนกลับและความเที่ยง (precision) แสดงด้วยร้อยละของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (relative standard deviation %RSD) รวมทั้งค่าความไม่แน่นอน เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับของวิธีทดสอบ นอกจากนี้ได้สุ่มตัวอย่างนมสดจากฟาร์มโคนม ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา และสระบุรี นมและผลิตภัณฑ์นมตามท้องตลาดในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร จังหวัดนครราชสีมา และสระบุรี นำมาทำการทดสอบพบว่า สารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ มีค่าอยู่ระหว่าง ไม่พบ ถึง 0.0552 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ABSTRACT

Aflatoxin M₁ (AFM₁) has been identified as toxic substance, which produced from the metabolism of Aflatoxin B₁ (AFB₁) in mammals that consumed contaminant feed. AFB₁ is metabolized by enzyme in liver cells and transformed to AFM₁ then excrete through mammal milk. There are both indirect and direct adverse effected to the consumer who consumed meat and milk contaminated with Aflatoxin. Continuously consumption can be resulted in accumulation in body hence contribute to liver cancer. The Codex Alimentarius Commission has established standard of AFM₁ in milk product to less than 0.5 microgram/Kilogram.

The aim of this study was to investigate the optimum condition and verification for AFM₁ testing method which using HPLC. The study showed the linear correlation between the concentrations from 0.1 to 50 microgram/Liter, limit of detection (LOD) of 0.001 microgram/Liter and limit of quantitation (LOQ) of 0.004 microgram/Liter. The study also demonstrated acceptable percent recovery, precision by relative standard deviation (%RSD). The uncertainty of testing also included in this study. Animal feed samples were taken farms dairy farm in Nakorn-Rachasima and Saraburi provinces. While milk and milk products were sampled from markets in Bangkok, Nakorn-Rachasima and Saraburi provinces Results illustrated the AFM₁ concentrations range from not detected to 0.0552 microgram/Kilogram.

คำสำคัญ: อะฟลาทอกซินเอ็ม₁, ไฮเพอร์ฟอร์แมนสลิควิดโครมาโทกราฟี นมและผลิตภัณฑ์นม

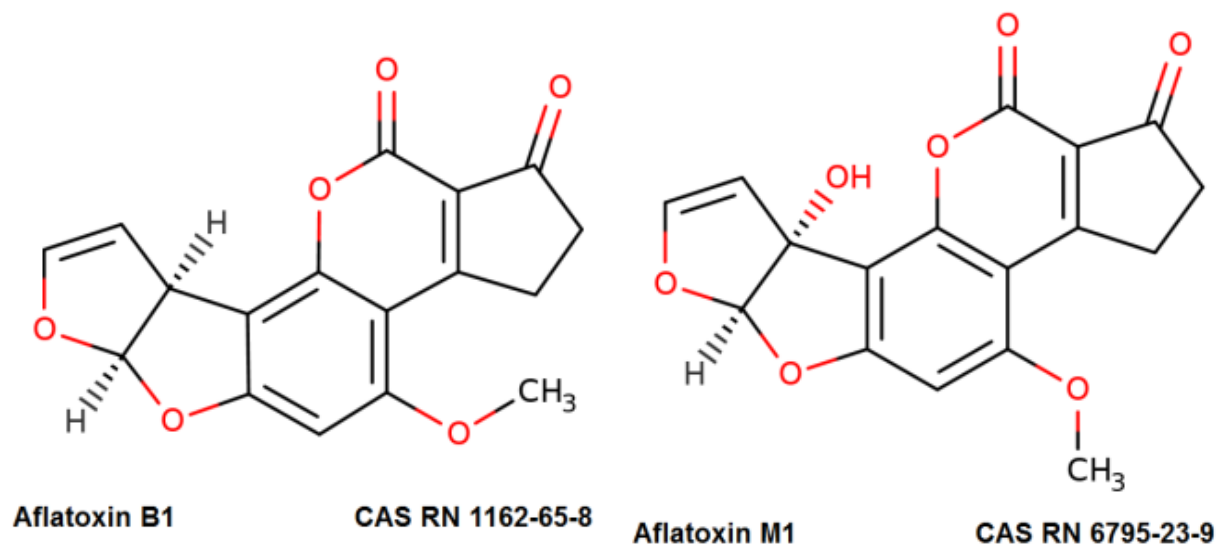
Keywords: Aflatoxin M₁, High-performance liquid chromatography, Milk and milk product

¹ กรมวิทยาศาสตร์บริการ

* Corresponding author. e-mail address: apisthaa@dss.go.th

1. บทนำ (Introduction)

สารพิษจากเชื้อรา อะฟลาทอกซิน บี₁ บี₂ จี₁ และจี₂ ส่วนมากจะพบในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร ส่วนสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ จะพบในน้ำมันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เมื่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้รับสารพิษอะฟลาทอกซิน บี₁ เข้าสู่ร่างกายจะถูกดูดซึมไว้ประมาณร้อยละ 10-20 ที่เหลือถูกขับออกจากร่างกาย ในส่วนที่ร่างกายดูดซึมไว้จะถูกสะสมไว้มากที่สุดในตับ และสารพิษอะฟลาทอกซินบี₁ จะถูกเมตาบอไลซ์เปลี่ยนเป็นสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ซึ่งจะถูกขับออกมาทางน้ำนม จึงทำให้น้ำมันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเกิดปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ คือ อนุพันธ์ของสารพิษอะฟลาทอกซิน บี₁ ปนเปื้อนอยู่ในน้ำมัน



รูปที่ 1: โครงสร้าง สารพิษอะฟลาทอกซินบี₁ (Aflatoxin B₁ : AFB₁) และสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ (Aflatoxin M₁ : AFM₁)

International Agency for Research on Cancer (IARC) เป็นหน่วยงานของ World Health Organization (WHO) ที่ทำหน้าที่ประเมินและจัดกลุ่มสารก่อมะเร็งได้จัดให้สารพิษอะฟลาทอกซินมีความสำคัญเกี่ยวข้องกับสุขภาพของมนุษย์โดยตรง โดยเฉพาะมีผลกับเซลล์ตับ เพราะเป็นสารก่อมะเร็ง (Carcinogen) เมื่อปี 2012 IARC รายงานว่า อะฟลาทอกซินเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ กลุ่มที่ 1 (Carcinogenic to humans) ซึ่งการกำหนดระดับ AFB₁ ในอาหาร และ AFM₁ ในน้ำมัน มีระดับที่ยอมรับได้ต่อวัน (Acceptable Daily Intake : ADI) คำนวณได้จากปริมาณสารพิษต่อน้ำหนักตัวของผู้บริโภค ค่า ADI นี้จะนำไปใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาค่าปริมาณสูงสุดที่ได้รับ (Maximum level: ML) เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคของแต่ละประเทศ โดยคณะกรรมการอาหารและยาของสหภาพยุโรป (European Commission: EC) ได้กำหนดให้มีปริมาณการปนเปื้อนสูงสุดของ AFM₁ ในน้ำมันได้ไม่เกิน 0.05 µg/kg (Commission Regulation (EC) No. 1881, 2006) แต่ในขณะที่คณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration: FDA) กำหนดให้มีปริมาณการปนเปื้อนสูงสุดของ AFM₁ ในน้ำมันได้ไม่เกิน 0.5 µg/kg (CPG Sec.527.400, 2005) และคณะกรรมการอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drug Administration: FDA) กำหนดให้มีปริมาณการปนเปื้อนสูงสุดของ AFM₁ ในน้ำมันได้ไม่เกิน 0.5 µg/kg (Codex Stan 193, 2015)

การตรวจหาปริมาณ AFM₁ มีหลายเทคนิค เช่น เทคนิค Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) | เทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) เทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin Layer Chromatography; TLC) |

<http://bas.dss.go.th>

กราฟฟี (Thin Layer Chromatography; TLC) และเทคนิค ลิควิดโครมาโทกราฟีควบคู่ไปกับแมสสเปกโตรเมทรี (Liquid Chromatography coupled with mass spectrometry; LC-MS/MS) เทคนิค HPLC เป็นวิธีที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป มาตรฐานการทดสอบปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ คือ AOAC Official Method 2000.8 Aflatoxin M₁ in Liquid Milk ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเน้นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อ ใช้สำหรับการทดสอบหาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินในนม และผลิตภัณฑ์นมในท้องตลาดสำหรับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการศึกษาปริมาณการปนเปื้อน AFM₁ ในน้ำนมดิบที่ฟาร์มโคนม และผลิตภัณฑ์นมในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา และสระบุรี

เพื่อใช้เป็นข้อมูลที่ช่วยลดการปนเปื้อนของ สารอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ช่วยแก้ปัญหาการเกิดการปนเปื้อน สารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในน้ำนมโค ดูแลคุณภาพของ ผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภค และเพื่อเป็นการเพิ่มศักยภาพของ กรมวิทยาศาสตร์บริการในการให้บริการ กองผลิตภัณฑ์ อาหารและวัสดุสัมผัสอาหาร กรมวิทยาศาสตร์บริการ จึงศึกษาการศึกษาปริมาณการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซิน เอ็ม₁ ในนมและผลิตภัณฑ์นม โดยเทคนิค HPLC

2. วิธีการวิจัย (Experimental)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า (electronic analytical balance) ชั่งได้ละเอียด 0.0001 กรัม ยี่ห้อ Mettler รุ่น XP 204
- 2.1.2 เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Waters รุ่น Alliance e2695 และคอลัมน์ HPLC ชนิดเหล็กกล้าไร้สนิมขนาด 4.6 x 250 มิลลิเมตร บรรจุด้วย C18 ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร
- 2.1.3 เครื่องระเหย (evaporator) ยี่ห้อ BINDER รุ่น FED115
- 2.1.4 เครื่องอ่างไอน้ำ (water-bath)
- 2.1.5 เครื่องทำน้ำบริสุทธิ์ (deionizer)
- 2.1.6 Solid Phase Extraction; SPE cleanup ProElut AFT1500 mg/12 mL (Cat.#65904)
- 2.1.7 ชุดอุปกรณ์การกรองพร้อมแผ่นเมมเบรน (membrane filter) ชนิดไนลอน ขนาด 47 มิลลิเมตร 0.20 ไมโครเมตร
- 2.1.8 ตัวกรอง (syringe filter) ชนิด MCM หรือ

cellulose acetate ขนาด 13 มิลลิเมตร 0.20 ไมโครเมตร หรือตัวกรองชนิดอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติเหมือนกัน

- 2.1.9 หลอดฉีดยา (syringe) ขนาด 10 มิลลิลิตร
- 2.1.10 ขวดแก้วขนาดเล็ก (vial) ขนาด 2 มิลลิลิตร
- 2.1.11 เครื่องแก้วต่างๆ เช่น ปิเปตต์ ขวดแก้วปริมาตร ขวดแก้วปริมาตรทรงกรวย หลอดแก้วมีจุกปิด (headspace tube) บีกเกอร์ และกระบอกตวง ขนาดต่างๆ

2.2 สารเคมี

- 2.2.1 สารมาตรฐานอะฟลาทอกซิน เอ็ม₁ ความบริสุทธิ์อย่างน้อยร้อยละ 99.0
- 2.2.2 อะซิโตนไตรลล์ ชั้นคุณภาพวิเคราะห์ HPLC
- 2.2.3 น้ำที่มีความบริสุทธิ์สูง มีค่าความต้านทานไฟฟ้า ไม่น้อยกว่า 18.2 MΩ•cm
- 2.2.4 สารละลายผสมอะซิโตนไตรลล์ : น้ำ 40:60

2.3 วัสดุตัวอย่าง

ตัวอย่างที่นำมาใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เป็นน้ำนมดิบจากฟาร์มโคนม นมพาสเจอร์ไรด์ นมยูเอชที นมเปรี้ยว โยเกิร์ต กาแฟยูเอชที

2.4 การเตรียมตัวอย่าง

สุ่มปิเปตตัวอย่างน้ำนมที่นำมาทดสอบ 50 มิลลิลิตร ผ่านไส้ SPE ด้วยความเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อนาที สารพิษอะฟลาทอกซินจะถูกจับไว้ ล้างคอลัมน์ SPE ด้วย น้ำปราศจากไอออน 15 มิลลิลิตร แล้ว elute สารพิษอะฟลาทอกซินจาก SPE ด้วยอะซิโตนไตรลล์ 10 มิลลิลิตร ระเหยสารละลายตัวอย่างด้วยเครื่องระเหยแห้งละลายด้วย สารละลาย Mobile phase (อะซิโตนไตรลล์ : น้ำ 40:60) จำนวน 1 มิลลิลิตร กรองผ่านตัวกรอง ขนาด 0.2 ไมโครเมตร (ข้อ 2.1.6) ลงในขวดแก้วขนาดเล็กสำหรับฉีดเข้า เครื่อง HPLC

2.5 การเตรียมตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐาน (spiked sample)

ตัวอย่างน้ำนม เติมสารละลายมาตรฐาน อะฟลาทอกซิน เอ็ม₁ ที่ความเข้มข้น 0.10 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง โดยคำนวณความเข้มข้นตาม ปริมาตรของสารละลายตัวแทนอาหารที่เติม แล้วนำมา ทดสอบตามข้อ 2.4

2.6 การตรวจวัดปริมาณโดยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนส์ลิควิดโครมาโทกราฟี

สร้างกราฟมาตรฐานจากสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ที่ความเข้มข้นระหว่าง 0 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่กรองผ่านตัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงในขวดแก้วขนาดเล็ก ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามสภาวะเครื่อง HPLC ที่เหมาะสมในการทดสอบ ดังนี้

คอลัมน์: ชนิดเหล็กกล้าไร้สนิมขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตรและการดัดคอลัมน์ บรรจุด้วย C18 ขนาดอนุภาค 5 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Luna

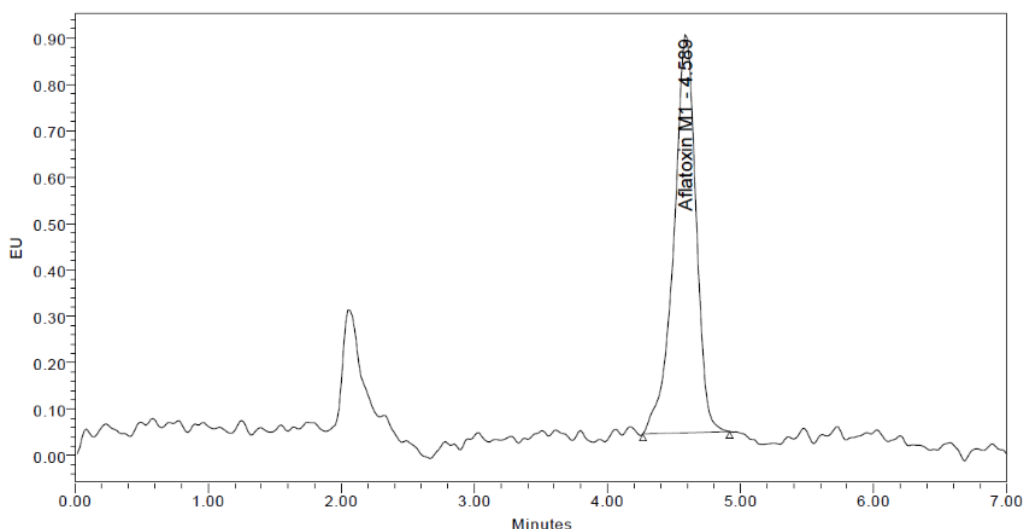
วัฏภาคเคลื่อนที่: อะซิโตน:ไตรล : น้ำ (40:60)

อัตราการไหล: 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที

ปริมาตรที่ฉีด: 20 ไมโครลิตร

เครื่องตรวจวัด: เครื่องตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนต์ (Fluorescent detector); ความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร excitation และ 435 นาโนเมตร emission

เมื่อทำการฉีดทดสอบสารมาตรฐานอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ พบว่า ปรากฏพีคของสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ที่เวลา 4.5 (RT=4.5) ตามรูปที่ 2



	Peak Name	RT	Area	% Area	Height	Amount	Units
1	Aflatoxin M1	4.589	99956	100.00	8603	0.500	ppb

รูปที่ 2 : แสดงพีคของสารละลายมาตรฐานอะฟลาทอกซินเอ็ม₁

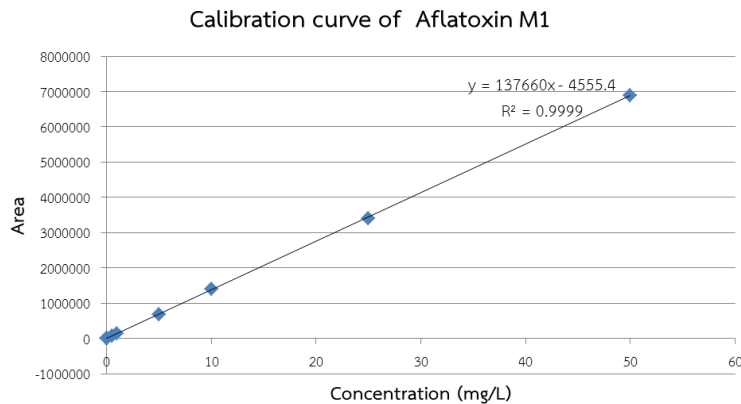
2.7 การทดสอบความใช้ได้ของวิธี

วิธีที่ศึกษาดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามแนวทาง EUR 24105 EN: 2009 โดยศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้ ความเป็นเส้นตรง ชีตจำกัดการตรวจพบและขีดจำกัดการวัดปริมาณ ความแม่นยำและความเที่ยง และประเมินความไม่แน่นอนของการวัด โดยมีรายละเอียดตามที่ระบุในข้อ 3.1

3. ผลและวิจารณ์ (Results and Discussion)

3.1. การทดสอบความใช้ได้ของวิธี

3.1.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของกราฟมาตรฐาน โดยทำการศึกษาในช่วง 0 ถึง 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ได้ค่าสัมประสิทธิ์การกำหนด (coefficient of determination, R^2 เท่ากับ 0.9999

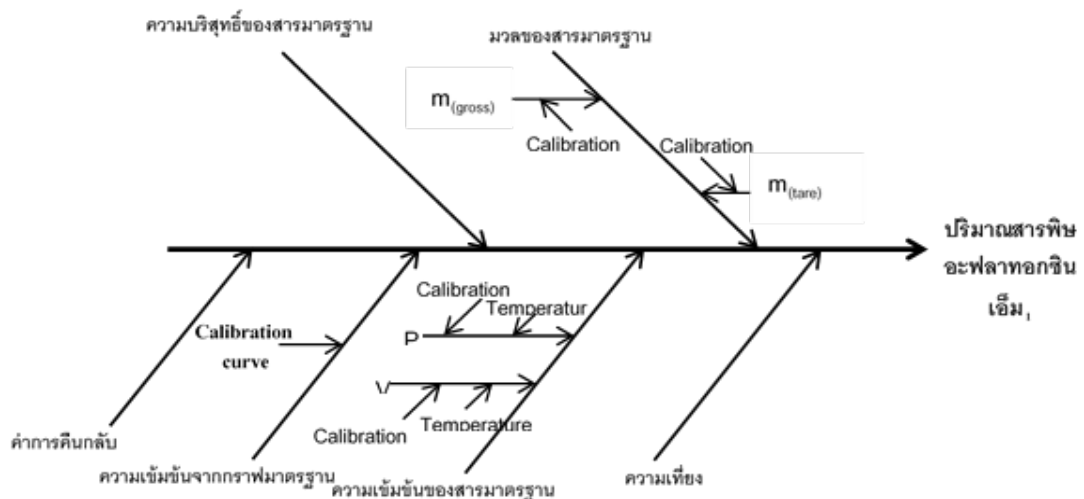


รูปที่ 3 : ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐาน AFM₁ ในช่วงความเข้มข้น 0–50 ไมโครกรัม/ลิตร

3.1.2 ขีดจำกัดการตรวจพบและขีดจำกัดการวัดปริมาณของวิธีทดสอบ โดยทำการวัดตัวอย่าง แบบลงค์จำนวน 10 ซ้ำ จากการทดลองพบว่า ขีดจำกัดการตรวจพบ (Limit of Detection; LOD) เท่ากับ 0.001 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดการวัดปริมาณ (Limit of Quantification; LOQ) เท่ากับ 0.004 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

3.1.3 ความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีทดสอบ ได้จากการศึกษาตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานที่ 3 ระดับความเข้มข้น ดังนี้ 0.05 25 และ 50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวนความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ ซึ่งความแม่นยำแสดงด้วยค่าร้อยละการคืนกลับและความเที่ยงแสดงด้วยค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ จากการทดลองพบว่า มีค่าร้อยละการคืนกลับที่ระดับความเข้มข้น 0.05 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับ 80.3-92.2 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ เท่ากับ 9.21 ค่าร้อยละการคืนกลับที่ระดับความเข้มข้น 25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม เท่ากับ 83.7-100.9 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์ เท่ากับ 4.85 ค่าร้อยละการคืนกลับที่ระดับความเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/กิโลกรัม เท่ากับ 72.9-101.6 และมีค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์เท่ากับ 9.20

3.1.4 การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดตาม EURACHEM/CITAC Guide: 2012 พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 0.004 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าความไม่แน่นอนขยายเท่ากับ 0.0029 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นวิธีนี้เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับของวิธีตาม EUR 24105 EN: 2009 คือ LOQ + ULOQ เท่ากับ 0.0069 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเกณฑ์กฎหมายกำหนด 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จากรูปที่ 4 แสดงให้เห็นสิ่งที่มีผลกับค่าความไม่แน่นอนของการวัดหาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในห้องปฏิบัติการด้วยเทคนิค HPLC



รูปที่ 4 : แหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอน

เมื่อทำการทวนสอบวิธีทดสอบหาอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ตามวิธีดัดแปลงมาจาก AOAC Official Method 2000.08 Aflatoxin M₁ in Liquid Milk ที่ได้ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีมาแล้ว นำวิธีทดสอบไปใช้กับตัวอย่างนมโรงเรียน 5 ตัวอย่าง นมและผลิตภัณฑ์นมที่จำหน่ายในท้องตลาด 61 ตัวอย่าง ที่ทำการสุ่มมาจากท้องตลาดในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร พบปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในตัวอย่าง 3 ตัวอย่างจาก 66 ตัวอย่าง ในปริมาณ 0.035 ถึง 0.055 ไมโครกรัม/กิโลกรัม และน้ำมันดิบจากฟาร์มโคนม 25 ตัวอย่างในพื้นที่ อำเภopakช่อง จังหวัดนครราชสีมาและอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี พบสารพิษอะฟลาทอกซิน เอ็ม₁ 2 ใน 25 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.04-0.05 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมและตัวอย่างน้ำมันดิบจากฟาร์ม สำหรับพบปริมาณอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ใน 3 ตัวอย่างจาก 5 ตัวอย่าง ในปริมาณ 0.0366, 0.0552 และ 0.0351 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ

4. สรุป (Conclusions)

การทวนสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบหาปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในนมและผลิตภัณฑ์นม ด้วยเทคนิคไฮเพอร์ฟอร์แมนสลิควิดโครมาโทกราฟี พบว่าสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ มีช่วงความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0-50 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์การกำหนดเท่ากับ 0.9999 ซีดจำกัดการตรวจพบเท่ากับ 0.001 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซีดจำกัดการวัดปริมาณเท่ากับ 0.004 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ความแม่นยำแสดงด้วยค่าร้อยละการคืนกลับ ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 72.9-101.6 และความเที่ยงแสดงด้วยค่าส่วนเบี่ยงเบนสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 4.85-9.21 ค่าความไม่แน่นอนขยายเท่ากับ 0.0029 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ที่ระดับความเข้มข้น 0.004 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นวิธีทดสอบนี้มีความเหมาะสม และสามารถนำไปทดสอบตัวอย่างนมและผลิตภัณฑ์นม โดยมีการสุ่มตัวอย่างในเขตพื้นที่กรุงเทพมหานคร ซึ่งตรวจพบว่า สารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ พบมีค่าอยู่ 3 ตัวอย่าง อยู่ระหว่าง 0.035-0.055 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และน้ำมันดิบจากฟาร์มโคนม 25 ตัวอย่างในพื้นที่ อำเภopakช่อง จังหวัดนครราชสีมา และอำเภอมวกเหล็ก จังหวัดสระบุรี จาก 25 ตัวอย่าง พบมีการปนเปื้อนสารพิษอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ อยู่ 2 ตัวอย่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 0.04-0.05 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์กำหนดของคณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ (Codex

Alimentarius Commission) และประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 414 (พ.ศ.2563) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ที่กำหนดให้มีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซินเอ็ม₁ ในน้ำมัน น้อยกว่า 0.5 ไมโครกรัม/กิโลกรัม

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์บริการที่ได้สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] *Agents classified by the IARC monographs, Volume 1-125* [online]. [viewed 2 March 2021]. Available From: <https://dtsc.ca.gov/wp-content/uploads/sites/31/2019/05/1-J-IARC-carcin.pdf>
- [2] YITBAREK, M.B. and B. Tamir. Mycotoxins and/or Aflatoxins in milk and milk products: Review. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences*. 2013, 7(1), 1-32.
- [3] BADEA, M., L. MICHELI, M.C. MESSIA, T. CANDIGLIOTA, E. MARCONI, T. MOTTRAM, M. VELASCO-GARCIA, D. MOSCONE and G. PALLESCHI. Aflatoxin M₁ determination in raw milk using a flow-injection immunoassay system. *Analytica Chimica Acta*. 2004, 520(1-2), 141-148.
- [4] *Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance)* [online]. [viewed 2 March 2021]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=J:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF>
- [5] DRAGACCI, S. and J. M. FREMY. Application of immunoaffinity column cleanup to aflatoxin M₁ determination and survey in cheese. *Journal of Food Protection*. 1996, 59(9), 1011-1013.
- [6] DRAGACCI, S., F. GROSSO and J. GILBERT. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography for determination of

- aflatoxinM1 in liquid milk: Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 2001, **84**(2), 437- 443.
- [7] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION AND WORLD HEALTH ORGANIZATION. Codex Alimentarius Commission. *Agenda Item 5, CX/CF 10/4/5: FAO/WHO*, March 2010, p.1-25.
- [8] CODEX ALIMENTARIUS INTERNATIONAL FOOD STANDARDS. *General standard for contaminants and toxins in food and feed*. CXS 193-1995. Amended in 2019, p.32
- [9] MOHAMMADI, H. A review of aflatoxin M1, milk, and milk products. *Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology*, Chapter 19, 2011. p. 397-414.
- [10] IHA, M.H., C.B. BARBOSA, R.M.D. FAVARO and M.W. TRUCKSESS. Chromatographic method for the determination of aflatoxin M₁ in cheese, yogurt, and dairy beverages. *Journal of AOAC International*. 2011, **94**(5), 1513-1518.
- [11] LQBAL, S.Z. and M.R. ASI. Assessment of aflatoxin M1 in milk and milk products from Punjab, Pakistan. *Food Control*. 2013, **30**(1), 235-239.
- [12] MUSCARELLA, M., S.L. MAGROA, C. PALERMO and D. CENTONZE. Validation according to European Commission Decision 2002/657/EC of a confirmatory method for aflatoxin M1 in milk based on immunoaffinity columns and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*. 2007, **594**(2), 257–264
- [13] NEMATI, M., M.A. MEHRAN, P.K. HAMED and A. MASOUD. A survey on the occurrence of aflatoxin M1 in milk samples in Ardabil, Iran. *Food control*. 2010, **21**(7), 1022-1024.