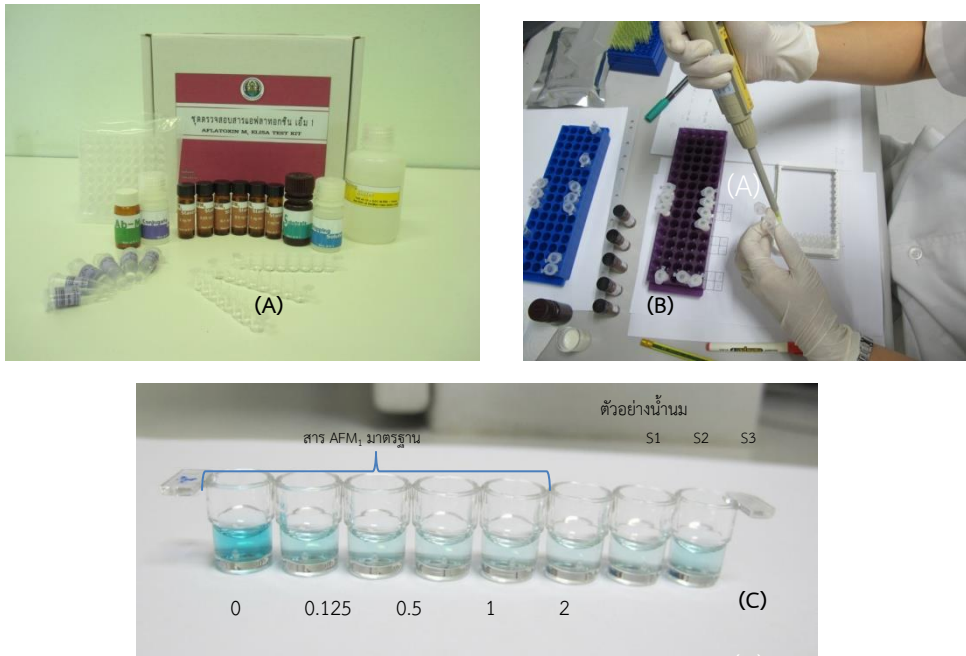


การผลิตชุดตรวจสอบสารแอฟลาทอกซิน เอ็ม 1 แบบ DC-ELISA IDC-ELISA  
และ Lateral Flow เพื่อการขยายผลเชิงพาณิชย์  
Production of DC-ELISA, IDC-ELISA and Lateral Flow for Aflatoxin M<sub>1</sub>  
Detection for Commercial Extension

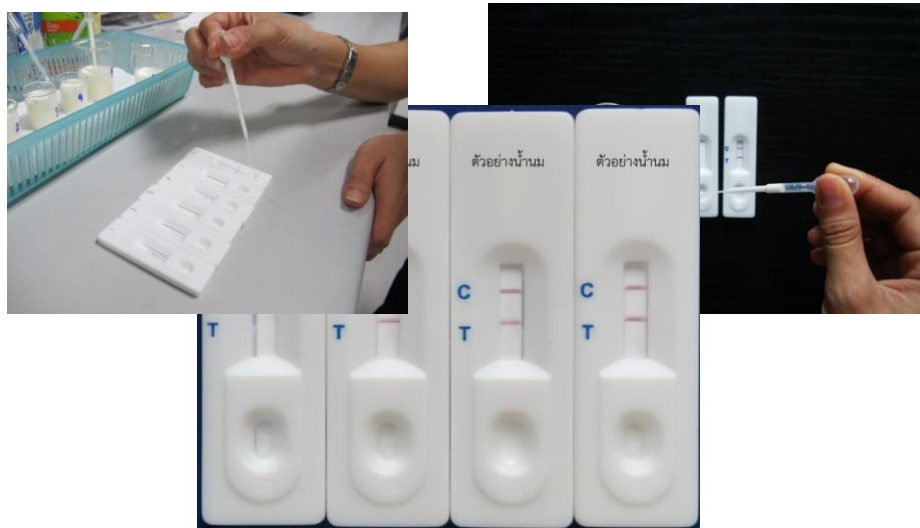
อมรา ชินภูติ ศุภรา อัครสาระกุล อัจฉราพร ศรีจุฑานุ  
สุพี วนศิริกุล เนตรา สมบูรณ์แก้ว  
สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร  
กรมวิชาการเกษตร

**บทคัดย่อ**

แอฟลาทอกซิน M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) เป็นสารอนุพันธ์ของสารแอฟลาทอกซิน B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) เป็นสารก่อมะเร็งที่พบปนเปื้อนในน้ำมันของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เพื่อการตรวจสอบที่รวดเร็วและแม่นยำ การทดลองนี้ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบสาร AFM<sub>1</sub> ในน้ำมัน 3 รูปแบบ คือ Direct Competitive ELISA Indirect Competitive ELISA และ Competitive Lateral Flow Immunoassay โดยนำแอนติบอดีที่จับกับสาร AFM<sub>1</sub> (IgG) แบบ Polyclonal ที่ผลิตขึ้นเองมาใช้พัฒนาชุดตรวจสอบ การพัฒนาแบบ Direct Competitive ELISA ต้องเตรียมสาร AFM<sub>1</sub>-HRP conjugate สามารถเตรียมได้ 5 มิลลิลิตร ความเข้มข้น 1:1,280 ในการตรวจ จะเคลือบหลุมทดสอบด้วย IgG ต่อสาร AFM<sub>1</sub> ผลการทดสอบพบว่าวิธีนี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่เสถียร ขณะที่วิธี Indirect Competitive ELISA จะเคลือบหลุมทดสอบด้วย AFM<sub>1</sub>-BSA โดยมี IgG ต่อสาร AFM<sub>1</sub> ทำปฏิกิริยากับสาร AFM<sub>1</sub> ในตัวอย่างน้ำมัน และมี 2<sup>nd</sup> antibody-HRP เป็นตัวแสดงผลการวิเคราะห์ ผลการทดสอบ ได้กราฟมาตรฐานที่มีค่า R<sup>2</sup> = 0.992 การวิเคราะห์สารพิษที่เติมลงในน้ำมัน (% Recovery) ได้ดีเท่ากับวิธี LC-MS/MS และมีค่า LOD = 0.146 ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 2 ชั่วโมง การทดสอบความชำนาญกับ FAPAS ได้ค่า Z-score เท่ากับ -1.1 ชุดตรวจสอบสามารถเก็บนาน 6 เดือน การพัฒนาชุดตรวจสอบแบบ Competitive Lateral Flow Immunoassay ได้นำอนุภาคทองมาเชื่อมต่อกับ IgG และทำปฏิกิริยากับ สาร AFM<sub>1</sub> ในตัวอย่างบนแผ่นไนโตรเซลลูโลส สามารถตรวจสอบสาร AFM<sub>1</sub> ในน้ำมันได้ต่ำสุด 0.5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร ใช้เวลา 10 นาที มีความแม่นยำเทียบเท่าวิธี LC-MS/MS เป็นชุดตรวจสอบที่ใช้งานง่าย สามารถตรวจน้ำมันดิบ นมพาสเจอร์ไรส์ และนมยูเอชที ได้ทันทีโดยไม่ต้องเตรียมตัวอย่าง และได้นำชุดตรวจสอบนี้ ไปทดสอบการใช้งานจริงในภาคสนาม ที่ศูนย์รวบรวมน้ำมันดิบของวิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีลพบุรี อำเภอพัฒนานิคม จังหวัดลพบุรี สามารถตรวจน้ำมันดิบของเกษตรกร จำนวน 32 ราย ภายในเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งผู้รับซื้อน้ำมันดิบพอใจในการใช้ชุดตรวจสอบ AFM<sub>1</sub> Strip test ที่พัฒนาขึ้นนี้เป็นอย่างมาก



ภาพที่ 1 (A) ชุดตรวจสอบสาร AFM<sub>1</sub> แบบ Indirect Competitive ELISA  
 (B) การหยดสาร AFM<sub>1</sub> มาตรฐานและตัวอย่างน้ำนมลงในหลุมทดสอบ  
 (C) ผลของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น หลุมที่เกิดสีฟ้าเข้มแสดงว่าตัวอย่างไม่มีสารพิษ  
 หลุมที่เกิดสีฟ้าจาง-ขาว แสดงว่ามีสารพิษมาก ตามลำดับ  
 สามารถอ่านผลเชิงคุณภาพด้วยสายตาเปรียบเทียบกับหลุมทดสอบของ  
 สาร AFM<sub>1</sub> มาตรฐาน



มีสารพิษ

ไม่มีสารพิษ

ภาพที่ 2 ขั้นตอนการตรวจสอบสาร AFM<sub>1</sub> ในน้ำนม (A) หยดน้ำนม 70 ไมโครลิตร ลงในหลุมรับ

ตัวอย่าง (B) หลังบ่ม 10 นาทีจะปรากฏเส้นสีม่วงแดงบนเส้น Control line (C) ถ้า  
เส้น Test line ไม่เกิดสี หรือสีจางแสดงว่ามีสารพิษ ถ้าเกิดสีม่วงแดง

เช่นเดียวกับ

Control line (T) แสดงว่าไม่พบสารพิษ



ภาพที่ 3 การนำชุดตรวจสอบ AFM<sub>1</sub> Lateral flow Strip Test ไปทดสอบตรวจสอบสาร AFM<sub>1</sub> ในน้ำนมดิบ ที่จุดรวบรวมน้ำนมดิบจากเกษตรกร อ. พนัสนิคม จ. ลพบุรี