



# การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลัก

## Development and Method Validation of Aflatoxin Analysis in Basil Seed

ฐิตาภรณ์ รัตริน\* อติศร เจตนะจิตร รัชณี รักษัตยานันท์ กนกวรรณ พลนิม และรุจิเรข จรรโลงตระกูล  
กองพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กรมวิชาการเกษตร แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร 10900

\*Corresponding author. E-mail address: rutrin@hotmail.com

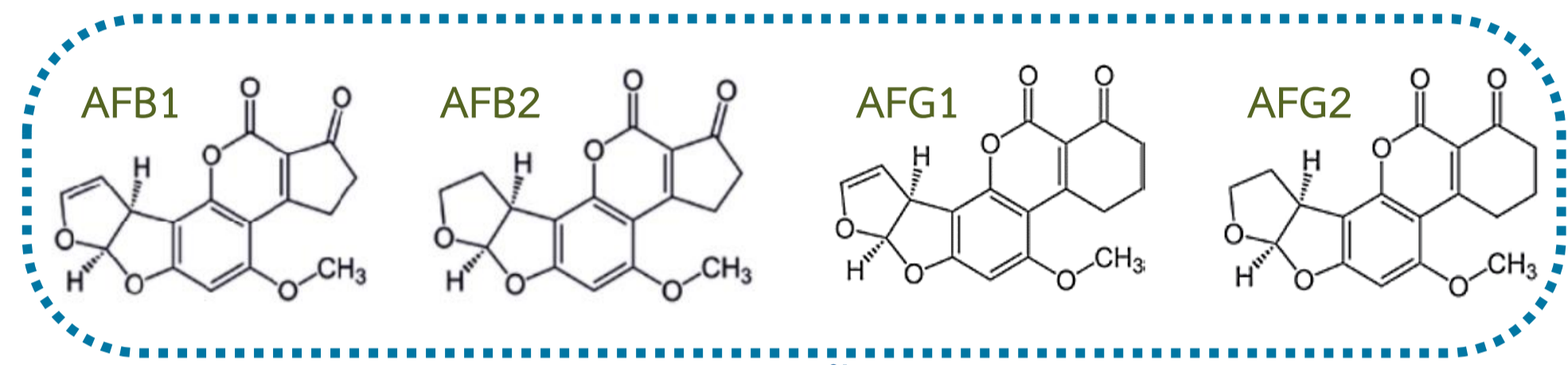
### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้จัดทำขึ้นเพื่อพัฒนาวิธีทดสอบอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลักซึ่งดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน AOAC (2023) 999.07 โดยใช้ methanol เป็นสารสกัดที่เหมาะสมในการสกัดอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลัก จากนั้นตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบพบว่า ช่วงความสามารถในการทดสอบเป็น 0.50-10 µg/kg ขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ มีค่าเท่ากับ 0.25 และ 0.50 µg/kg ตามลำดับ ความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (ร้อยละการกลับคืนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 82-92 และร้อยละของค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์อยู่ในช่วง 3.12-9.99) และค่าความไม่แน่นอนในการวัดมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 26 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นอกจากนี้ได้นำวิธีทดสอบไปใช้ทดสอบเมล็ดแมงลักที่จำหน่ายในท้องตลาด จำนวน 31 ตัวอย่าง พบว่ามีการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน 21 ตัวอย่าง (ร้อยละ 67.7) และมีจำนวน 1 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.2) มีปริมาณอะฟลาทอกซินเกินมาตรฐานของประเทศไทย

คำสำคัญ : เมล็ดแมงลัก, อะฟลาทอกซิน, HPLC

### บทนำและวัตถุประสงค์

- ❖ อะฟลาทอกซินบี1 อะฟลาทอกซินบี2 อะฟลาทอกซินจี1 และอะฟลาทอกซินจี2 เป็นสารพิษจากเชื้อรา และจัดเป็นสารก่อมะเร็ง กลุ่ม 1



- ❖ เมล็ดแมงลักมีความเสี่ยงในการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน
- ❖ มาตรฐานประเทศไทย : Total AF ≤ 20 µg/kg
- ❖ มาตรฐานประเทศญี่ปุ่น : Total AF ≤ 10 µg/kg
- ❖ วัตถุประสงค์ของงานวิจัย เพื่อพัฒนาวิธีทดสอบอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลัก โดยวิธีดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน AOAC (2023) 999.07

### วิธีการ



Table 1 HPLC-FLD conditions

Parameters	Conditions
HPLC column	Symmetry C18, 150 mm x 3.9 mm I.D., 5 µm
Mobile phase	water-methanol-acetonitrile (75:5:20)
Mobile phase flow rate	1.0 mL/min
Column temperature	30 °C
Injection volume	30 µL
Run time	16 min
Detector type	Fluorescence detector
Excitation wavelength	360 nm
Emission wavelength	440 nm

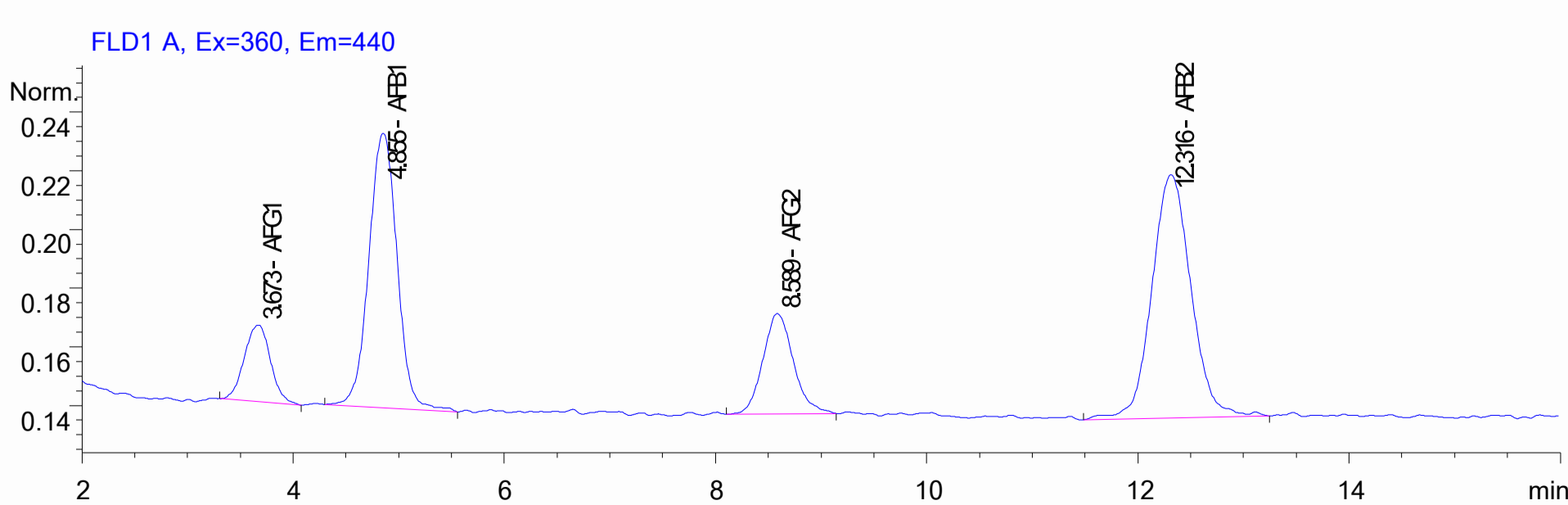


Fig. 1 Chromatogram of aflatoxin standard solution at concentration 0.50 µg/L

### ผลการทดลอง

- ❑ การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทดสอบอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลัก

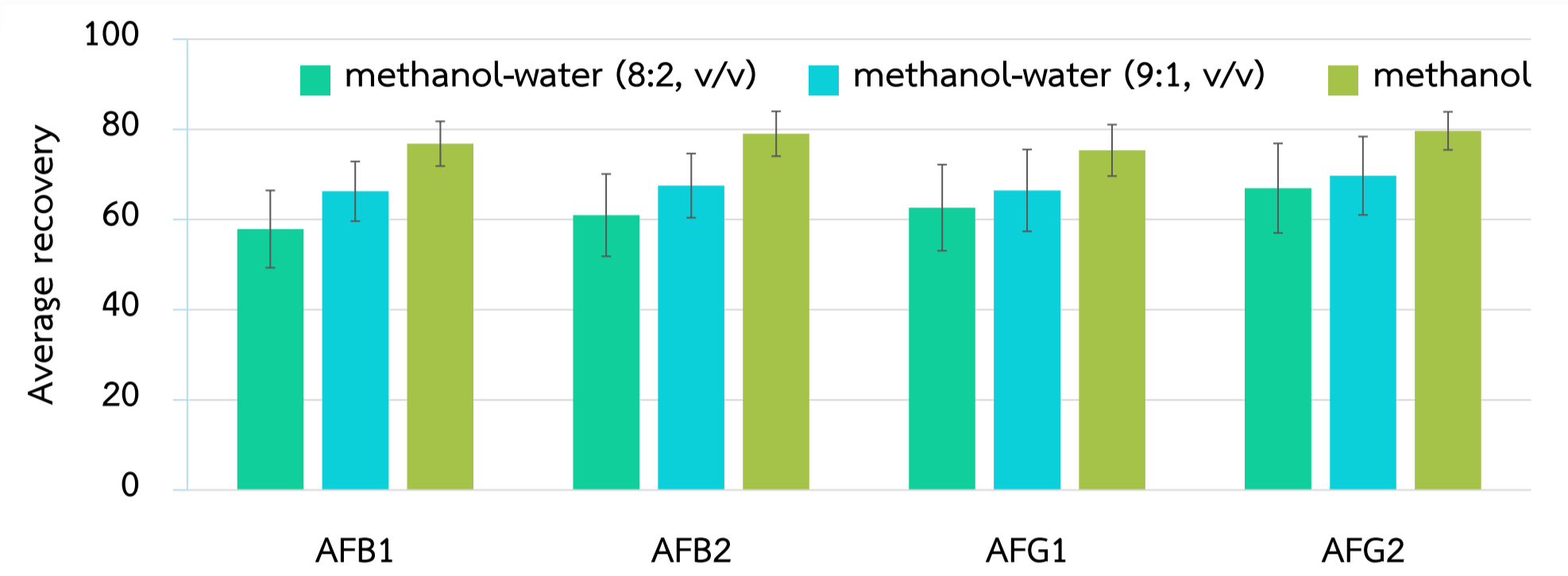


Fig. 2 Average recovery of AFB1, AFB2, AFG1 and AFG2 obtained by using different types of extraction solvent (n=6)

- ❑ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลัก

Table 2 Summary of method validation results of aflatoxin analysis in basil seed

Parameter	Conc.	Criteria	Type of aflatoxin			
			AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
Linearity	0.25-10 µg/L	r≥0.995	0.9980	0.9992	0.9982	0.9990
Working range	0.50-10 µg/kg	r≥0.995	0.9983	0.9983	0.9982	0.9985
LOD	-	-	0.25 µg/kg			
LOQ	-	-	0.50 µg/kg			
%Recovery	0.50 µg/kg	40-120%	88±8	92±6	89±9	88±9
	5.0 µg/kg	60-115%	83±5	84±4	82±6	84±4
	10 µg/kg	60-115%	86±3	85±3	86±5	87±4
%RSD <sub>r</sub>	0.50 µg/kg	≤30%	9.05	6.47	9.81	9.99
	5.0 µg/kg	≤21%	6.14	5.19	7.27	5.03
	10 µg/kg	≤21%	3.12	3.23	5.48	4.44

Table 3 Evaluation of measurement uncertainty of aflatoxin analysis in basil seed

Source of uncertainty	Relative standard uncertainty			
	AFB1	AFB2	AFG1	AFG2
Precision, u(P)	0.0657	0.0514	0.0773	0.0695
Trueness, u(R)	0.0903	0.0931	0.1003	0.0839
Combined uncertainty, u(C)	1.1168	1.0630	1.2664	1.0890
(at Concentration of 10 µg/kg)				
Expanded uncertainty at 95% confidence interval (k = 2)	2.234	2.126	2.533	2.178
Percentage of expanded uncertainty	22.34	21.26	25.33	21.78

Table 4 Occurrence of Aflatoxin in basil seed from domestic market (n=31)

Type of aflatoxin	No. of negative sample* (%)	No. of AF contamination sample (%)		
		0.25-10 µg/kg	>10-20 µg/kg	>20 µg/kg
AFB1	10 (32.3)	20 (64.5)	0 (0)	1 (3.2)
AFB2	24 (77.4)	7 (22.6)	0 (0)	0 (0)
AFG1	31 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
AFG2	31 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Total AF	10 (32.3)	19 (61.3)	1 (3.2)	1 (3.2)

Note: \* negative sample = not detected or below the measurable detection limit of 0.25 µg/kg

### สรุปผลการทดลอง

วิธีทดสอบที่พัฒนาขึ้นสามารถทดสอบปริมาณอะฟลาทอกซินในเมล็ดแมงลักได้ โดยมี LOD และ LOQ ต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนดของประเทศไทยและญี่ปุ่น มีความแม่นยำและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ และค่าความไม่แน่นอนของการวัดมีความเหมาะสมกับการนำไปใช้งาน