

บทคัดย่อ

เตโตรโดท็อกซินเป็นสารพิษที่พบในปลาปักเป้ามียันตรายต่อผู้บริโภคถึงชีวิต วิธีมาตรฐาน High-performance liquid chromatography (HPLC) และ Liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry (LC-MS/MS) ที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณสารพิษเตโตรโดท็อกซิน มีขีดจำกัดหลายอย่าง เช่น ต้องวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการอ้างอิง ใช้เครื่องมือราคาแพงในการวิเคราะห์ และต้องวิเคราะห์ด้วยบุคลากรที่มีความชำนาญ นอกจากนี้ยังพบว่าปลาปักเป้าที่จับได้และนำมาจำหน่ายในตลาด บางชนิดมีพิษ บางชนิดไม่มีพิษ และในปลาปักเป้าชนิดเดียวกันที่มีพิษ ยังพบว่าบางตัวมีพิษ บางตัวไม่มีพิษ การแยกชนิดปลาปักเป้า สามารถทำได้ด้วยการวิเคราะห์สารพันธุกรรม และการอ่านลักษณะมัดกล้ามเนื้อ จึงได้มีการวิจัยและพัฒนาเครื่องมือและวิธีการขึ้น 3 ชนิด เพื่อตรวจสอบสารพิษและชนิดของปลาปักเป้า ได้แก่ ชุดทดสอบ Tetrodotoxin-Immunochromatography (TTX-IC) สำหรับตรวจกรองสารพิษเตโตรโดท็อกซิน วิธี Polymerase Chain Reaction (PCR) สำหรับตรวจสอบสารพันธุกรรมปลาปักเป้า และการอ่านลักษณะมัดกล้ามเนื้อด้วยตาเปล่าเพื่อแยกชนิดปลาปักเป้า เมื่อต้องการนำเครื่องมือดังกล่าวไปใช้ประกอบการคุ้มครองผู้บริโภค จึงจำเป็นต้องมีการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือแต่ละชนิด ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือ และวิธีการดังกล่าวก่อนการนำไปใช้คุ้มครองผู้บริโภค โดยผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างปลาปักเป้าและปลาอื่นๆ ที่จังหวัดสมุทรสาครและสมุทรสงคราม โดยได้เก็บปลาปักเป้าชนิด *Lagocephalus spadiceus* (LS) จำนวน 363 ตัวอย่าง ปลาปักเป้าชนิด *Lagocephalus lunaris* (LL) จำนวน 387 ตัวอย่าง และปลาชนิดอื่นๆ ที่นิยมบริโภคและมีจำหน่ายในท้องตลาดจำนวน 100 ตัวอย่าง ผลการตรวจสอบสารพิษเตโตรโดท็อกซินด้วยชุดทดสอบ TTX-IC พบว่า ปลาปักเป้าชนิด LS และปลาชนิดอื่นๆ ทุกตัวอย่าง ให้ผลลบ (ไม่มีพิษ) ปลาปักเป้าชนิด LL พบมีพิษ 69 ตัวอย่าง (ร้อยละ 17.8) นอกจากนี้ยังได้มีการประเมินความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบ TTX-IC เปรียบเทียบกับการวิเคราะห์ปริมาณสารพิษเตโตรโดท็อกซินด้วยเครื่อง LC-MS/MS โดยใช้ตัวอย่าง ปลาปักเป้า จำนวน 339 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยตัวอย่างปลาที่ให้ผลบวกด้วยชุดทดสอบทั้งหมด (ปลาปักเป้าชนิด LL จำนวน 69 ตัวอย่าง) และสุ่มตัวอย่างปลาที่ให้ผลลบ จำนวน 270 ตัวอย่าง (ปลาปักเป้าชนิด LS จำนวน 125 ตัวอย่าง ปลาปักเป้าชนิด LL จำนวน 140 ตัวอย่าง ปลาชนิดอื่นๆ จำนวน 5 ตัวอย่าง) ผลการประเมินพบว่าชุดทดสอบ TTX-IC มีความไว ร้อยละ 94.0 และความจำเพาะ ร้อยละ 92.4 โดยพบสารพิษเตโตรโดท็อกซินสูงสุดในปลาปักเป้าชนิด LL ถึง 68.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

การตรวจสอบสารพันธุกรรมปลาปักเป้าด้วยวิธี PCR โดยวิเคราะห์ปลาปักเป้าชนิด LS จำนวน 263 ตัวอย่าง ปลาปักเป้าชนิด LL จำนวน 287 ตัวอย่าง พบว่าวิธี PCR มีความไว ร้อยละ 100 และความจำเพาะ ร้อยละ 100 ต่อการวิเคราะห์ปลาปักเป้าทั้งชนิด LL และ ชนิด LS

การแยกชนิดปลาปักเป้าโดยการอ่านลักษณะมัดกล้ามเนื้อด้วยตาเปล่า จากการสังเกตลักษณะสีแดงและตำแหน่งของกล้ามเนื้อค้ำจนครบหลังและครีบก้น พบว่าวิธีการอ่านลักษณะมัดกล้ามเนื้อด้วยตาเปล่าเพื่อการแยกปลาปักเป้าชนิด LS มีความไว ร้อยละ 81.3 และความจำเพาะ ร้อยละ 9.6 ส่วนการใช้วิธีนี้ในการแยกปลาปักเป้าชนิด LL มีความไว ร้อยละ 9.6 และความจำเพาะ ร้อยละ 81.3

นอกจากนี้ยังได้นำชุดทดสอบ TTX-IC และวิธี PCR ไปตรวจกรองสารพิษเตโตรโดทอกซิน และตรวจการปะปนของเนื้อปลาปักเป้าในผลิตภัณฑ์ปลาแปรรูป เช่น เนื้อปลาแล่ที่มีปลาหลายชนิดปนกัน ปลาเส้นโรยงา และลูกชิ้นปลา จากการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์สารพิษเตโตรโดทอกซินด้วยชุดทดสอบ และวิธี LC-MS/MS พบว่าตัวอย่างที่ชุดทดสอบให้ผลลบ เมื่อตรวจสารพิษเตโตรโดทอกซินด้วยวิธี LC-MS/MS พบว่าให้ผลสอดคล้องกัน (ปริมาณสารพิษเตโตรโดทอกซิน < 2 มิลลิกรัม/กิโลกรัม) และตัวอย่างที่วิเคราะห์ด้วยชุดทดสอบทั้งหมด ไม่พบผลลบปลอม แต่บางตัวอย่างพบเป็นผลบวกปลอม ดังนั้นการตรวจกรองด้วยชุดทดสอบ TTX-IC แล้วพบผลบวกต้องตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารพิษเตโตรโดทอกซินด้วยเทคนิค LC-MS/MS จากการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ปลาแปรรูป พบปริมาณสารพิษเตโตรโดทอกซินสูงสุด เท่ากับ 2.89 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ถ้าต้องการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์แปรรูปด้วยวิธี PCR ต้องใช้สภาวะใหม่ที่ต่างจากการวิเคราะห์เนื้อปลาสดแล้ว

Abstract

Tetrodotoxin (TTX) is a potent, non-protein toxin found in puffer fish. The toxin can cause human intoxication. Standard methods for determination of TTX, HPLC and LC-MS/MS have limitations. They require performing assays in the reference laboratory with expensive equipments by experienced personnel. However, not all puffer fish species that sold in the markets possess tetrodotoxin and not all puffer fish of the same species are toxic. Differentiation of puffer fish species can be done by examination of genetic materials and muscle patterns. To protect consumers, TTX-IC Rapid Test was developed for screening of tetrodotoxin, PCR and muscle pattern were developed for differentiation of puffer fish species. Before implementation for routine work, the efficiency of these 3 methods has to be evaluated. To do so, 363 of *Lagocephalus spadiceus* (LS), 387 of *Lagocephalus lunaris* (LL), 100 of other edible fishes were collected from Samut Sakorn and Samut Songkram provinces. Screening by TTX-IC Rapid Test found that, all LS and all edible fishes provided negative results, 69 from 387 (17.8%) of LL provided positive results. To evaluate sensitivity and specificity of TTX-IC test compared with the amount of TTX concentration from LC-MS/MS, 339 puffer fish were selected, all 69 LL positive samples and 270 sampling negative samples, 125 of LS, 140 of LL, and 5 edible fishes. The TTX-IC showed 94.0% sensitivity, 92.4% specificity. The highest TTX concentration found among LL was 68.6 mg/kg. Evaluation of PCR method compared with physiological differentiation, 263 LS and 287 LL were determined. PCR provided 100% sensitivity and 100% specificity for detection of both LS and LL. Differentiation of puffer fish by the characteristics of muscle pattern and their position of 251 LS and 280 LL showed the sensitivity and specificity for LS were 81.3% and 9.6%, respectively, whereas the sensitivity and specificity for LL were 9.9% and 81.3%, respectively. In addition TTX-IC, LC-MS/MS, and PCR were performed to detect suspected puffer fish-products, it was found that results from TTX-IC test related to results from LC-MS/MS, however positive results by TTX-IC test need to be confirmed by LC-MS/MS. The highest TTX value found in the products was 2.89 mg/kg. PCR conditions for detection of products need to be optimized.