

การทวนสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ อะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ โดยวิธี Fluorometry

ลักษณ์กนก สินธุ์ประสพชัย* พนม ไสยจิตร ละณี สุขถิ่นไทย

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เกษตรกลาง เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้เขียนผู้รับผิดชอบ โทร. 02-5798908-14, โทรสาร 02-5798919 E-mail : najuner_9@thaimail.com

บทคัดย่อ

ทำการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ โดยวิธี Fluorometry ในตัวอย่างอ้างอิง (maize T 0463 FAPAS[®]) ที่มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวม 7.36 ± 0.24 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ซ้ำ มีความแม่นยำ ประเมินจาก % recovery ที่มีค่าเท่ากับ 98.10% อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (เกณฑ์ 60-115%) และมีค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์เมื่อเทียบกับค่าจริงไม่แตกต่างกัน ($t_{cal} < t_{crit.}$; $t_{cal} = 1.16$, $t_{crit. 0.025, 9} = 2.26$) ความเที่ยงประเมินจาก %RSD ของการทดสอบเทียบกับ Predicted Horwitz RSD ด้วยสมการ Horrat มีค่าเป็น 0.24 (เกณฑ์ ≤ 2) ซึ่งแสดงว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์การยอมรับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อนำวิธี Fluorometry ที่ทวนสอบแล้วไปวิเคราะห์หาอะฟลาทอกซินรวมในอาหารสัตว์ 39 ตัวอย่าง ระหว่าง ธันวาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 พบว่ามีการปนเปื้อนอะฟลาทอกซิน 26 ตัวอย่าง (66.67%) โดยมีค่าเฉลี่ย 7.36 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ค่าต่ำสุด 2.1 ค่าสูงสุด 43) และตรวจไม่พบ 13 ตัวอย่าง (33.33%) มี %recovery อยู่ในช่วง 87.67-111.85% ผลการศึกษาสรุปได้ว่า Fluorometry เป็นวิธีตรวจหาอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ให้ผลแม่นยำ เที่ยงตรง เชื่อถือได้ และสามารถควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ได้แม้จะดำเนินการตรวจในช่วงที่ยาวนานถึง 10 เดือน

คำสำคัญ : การทวนสอบความใช้ได้ Fluorometry อะฟลาทอกซิน อาหารสัตว์

บทนำ

ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตภูมิภาคร้อนชื้น มีสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราในผลผลิตทางการเกษตร โดยเชื้อราสามารถผลิตอะฟลาทอกซิน ซึ่งเป็นสารพิษที่ทำให้อาหารสัตว์มีคุณภาพต่ำ เมื่อนำไปเลี้ยงสัตว์จะก่อให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพและผลผลิตของสัตว์เช่น อัตราการเจริญเติบโตต่ำ ผลผลิตเนื้อ นม ไข่ ลดลง คุณภาพไข่ลดลง (เบญจมาศ, 2543) นอกจากนี้ อะฟลาทอกซินสามารถแพร่กระจายตามกระแสโลหิต เป็นผลให้เกิดการสะสมในเนื้อเยื่อ เมื่อคนบริโภคผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพจากการสะสมของอะฟลาทอกซิน (อนงค์, 2546) โดยเหตุที่ภาครัฐตระหนักถึงอันตรายของอะฟลาทอกซินที่ปนเปื้อนในอาหารจึงกำหนดมาตรฐานการปนเปื้อนทั้งในอาหารทั่วไปและในอาหารสัตว์ นอกจากข้อกำหนดดังกล่าวแล้วควรเฝ้าระวังการปนเปื้อนของอะฟลาทอกซิน โดยสุ่มตัวอย่างวัตถุดิบและอาหารสัตว์ตรวจวิเคราะห์ โดยเลือกใช้วิธีตรวจที่เป็นมาตรฐาน ให้ผลการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ มีความแม่นยำ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล วิธีการที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติใช้ตรวจคือวิธี Thin Layer Chromatography, TLC (AOAC International, 1995) ซึ่งมีข้อเสีย คือใช้เวลาในการตรวจนาน ทำให้ไม่สามารถแก้ไขปัญหาได้ทันเหตุการณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการตรวจเป็นสารก่อมะเร็ง ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน ดังนั้นจึงนำวิธี Fluorometry มาใช้ โดยสกัดตัวอย่างด้วยอิมมูโนแอฟฟิไนต์คอลัมน์ (Scott and Trucksess, 1997) แล้ววัดด้วยเครื่อง Fluorometer ซึ่งมีข้อดี คือมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก ให้ผลรวดเร็ว สามารถตรวจหลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน ทำให้ประหยัดเวลา และปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานเนื่องจากไม่มีสารก่อมะเร็ง

อย่างไรก็ตามเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นมาตรฐาน มีความถูกต้องให้ผลเชื่อถือได้และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ก่อนนำมาใช้จึงจำเป็นต้องทำการทวนสอบความใช้ได้ของวิธี Fluorometry การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธี Fluorometry เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่างอ้างอิง (maize T 0463 FAPAS[®]) มีปริมาณอะฟลาทอกซินรวม 7.36 ± 0.24 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 10 ถุง

ตัวอย่างอาหารสัตว์สำเร็จรูปจากฟาร์ม 19 แห่ง จาก 13 จังหวัดที่ส่งตรวจอะฟลาทอกซินที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ระหว่างเดือนธันวาคม 2548 ถึง กันยายน 2549 จำนวน 39 ตัวอย่าง

สารเคมีและอุปกรณ์

สารมาตรฐานไมโคทอกซินสำเร็จรูป (Mycotoxin calibration standard), เมทานอลและน้ำ เป็นเกรดที่ใช้กับเครื่อง HPLC, โซเดียมคลอไรด์, อิมมูโนแอฟฟิไนต์คอลัมน์ชนิด Aflatest –P column และ Aflatest developer, เครื่องแก้ว เช่น กระบอกตวง, ปีกเกอร์, กรวยกรอง เป็นต้น กระดาษกรอง no.1, กระดาษกรองใยแก้วขนาดรูพรุน 1.5 ไมโครเมตร, หลอดวัดตัวอย่าง (cuvette)

เครื่องมือ

เครื่อง Fluorometer series 4 ยี่ห้อ Vicam, เครื่องบดปั่น (Waring[®], USA), เครื่องชั่ง ทศนิยม 3 ตำแหน่ง

วิธีการ

การวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิงและตัวอย่างอาหารสัตว์

วิเคราะห์ตัวอย่างตามวิธีของ Vicam (Aflatest Instruction manual, 1999) โดยชั่งตัวอย่าง 50 ± 0.1 กรัม เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 กรัม สกัดด้วย 80% เมทานอล 100 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง no.1 เจือจางสารละลายตัวอย่างที่กรองได้ด้วยน้ำ 5 เท่า โดยดูดสารตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ 40 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน กรองผ่านกระดาษกรองใยแก้ว นำตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ผ่านลงใน อิมมูโนแอฟฟิไนต์คอลัมน์จนหมด จากนั้นล้างคอลัมน์ด้วยน้ำ 5 มิลลิลิตร 2 ครั้งเป่าน้ำออกให้แห้ง แล้วชะ(elute) คอลัมน์ด้วย 100 % เมทานอล 1 มิลลิลิตร รวบรวมสารที่ได้ลงใน cuvette แล้วเติม aflatest developer 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นวัดด้วยเครื่อง Fluorometer ที่ปรับตั้งแล้วทันที

การทวนสอบความใช้ได้ของวิธี

ทำการทวนสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ตามหลักเกณฑ์ของ Eurachem Guide (1998) ดังนี้

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy)

ทำการวิเคราะห์ผลการตรวจตัวอย่างอ้างอิง จำนวน 10 ซ้ำ นำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, SD) แล้วประเมินความแม่นยำด้วยเปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง (%recovery) ผลที่ได้ควรอยู่ในช่วงมาตรฐาน (60-115%) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้กับค่าจริงของตัวอย่างอ้างอิงด้วยสถิติ t-test ชนิด two-tailed test ผลที่ได้จะต้องน้อยกว่าค่า t ที่เปิดจากตาราง

การทดสอบความเที่ยง (Precision)

ทำการวิเคราะห์ผลการตรวจตัวอย่างอ้างอิง จำนวน 10 ซ้ำ (ใช้ข้อมูลเดียวกับการทดสอบความแม่นยำ) โดยคำนวณร้อยละของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative standard deviation, RSD) เปรียบเทียบกับ Predicted Horwitz RSD ด้วยสมการ Horrat เพื่อประเมินผลการวิเคราะห์ซ้ำภายในวันเดียวกัน บุคคลเดียวกัน เครื่องมือ และสภาวะเดียวกัน ผลที่ได้ควรอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (≤ 2)

ผล

การทวนสอบความใช้ได้ของวิธี

จากการวิเคราะห์หาปริมาณอะฟลาทอกซินของตัวอย่างอ้างอิง (maize T 0463) จำนวน 10 ซ้ำ ด้วยวิธี Fluorometry พบว่ามีค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) เท่ากับ 7.22 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 0.38 และ %RSD เท่ากับ 5.26% นำผลมาประเมินความแม่นยำและความเที่ยงได้ผลดังนี้

การทดสอบความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์พบว่า % recovery ของการวิเคราะห์ตัวอย่างอ้างอิง เท่ากับ 98.10% และผลการทดสอบความแม่นยำด้วยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าจริงในตัวอย่างอ้างอิง (7.36 ± 0.24) กับค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์ (7.22 ± 0.38) ด้วย t-test พบว่าค่า t ที่คำนวณได้เท่ากับ 1.16 ซึ่งน้อยกว่า t ที่เปิดจากตาราง ($t_{0.025, 9} = 2.26$)

การทดสอบความเที่ยงของการวิเคราะห์ซ้ำ พบว่าผลการเปรียบเทียบ % RSD ที่คำนวณได้ (5.26) กับค่า predicted Horwitz RSD (22.18) มีค่าเท่ากับ 0.24 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ผลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงตามตารางที่ 1

การวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์สำเร็จรูป

ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินรวมในตัวอย่างอาหารสัตว์สำเร็จรูปด้วยวิธี Fluorometry

จำนวน 39 ตัวอย่าง พบการปนเปื้อน จำนวน 26 ตัวอย่าง (66.67%) ค่าต่ำสุดที่ตรวจพบคือ 2.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าสูงสุด 43 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าเฉลี่ย 7.36 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตรวจไม่พบจำนวน 13 ตัวอย่าง (33.33 %) โดยมีค่า % recovery อยู่ในช่วง 87.67-111.85%

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์อะฟลาทอกซินรวม การประเมินความแม่นยำและความเที่ยงของตัวอย่างอ้างอิง โดยวิธี Fluorometry

ค่าที่ตรวจพบ (ไมโครกรัม/กิโลกรัม)			ความแม่นยำ		ความเที่ยง	
$\bar{X}$	SD	%RSD	%recovery	t-test		Predicted Horwitz
				t_{cal}	$t_{critical}$	RSD
7.22	0.38	5.26	98.10	1.16	2.26	22.18
						Horrat
						0.24

วิจารณ์

ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์โดยวิธี Fluorometry โดยใช้ตัวอย่างอ้างอิง พบว่า % recovery เท่ากับ 98.10% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ (60-115%) ตาม AOAC Peer verified method program (1993) แสดงว่าวิธี Fluorometry มีความถูกต้องแม่นยำสูง เมื่อใช้สถิติ t-test เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลที่วิเคราะห์ได้ ($\bar{X}=7.22\pm0.38$ ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) กับค่าจริงของตัวอย่างอ้างอิง เพื่อตรวจสอบความเที่ยง พบว่า ค่า t ที่คำนวณได้มีค่าเท่ากับ 1.16 เมื่อเทียบกับค่า tวิกฤตจากตาราง t distribute (2.26) ซึ่งอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับคือ $t_{cal} < t_{crit}$ แสดงว่าค่าเฉลี่ยที่ได้จากการวิเคราะห์และค่าจริงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % (กัลยา, 2539) แสดงให้เห็นถึงความแม่นยำของวิธี Fluorometry ส่วนผลการตรวจสอบความเที่ยงของวิธีดังกล่าว โดยการเปรียบเทียบ % RSD ที่ได้จากการวิเคราะห์ (5.26) กับ predicted Horwitz RSD (22.18) พบว่ามีค่าเท่ากับ 0.24 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ≤ 2 (Horwitz et.al, 1980 และ AOAC International, 2002) ซึ่งให้เห็นว่าวิธี Fluorometry มีความเที่ยงตรง ให้ผลการวิเคราะห์ซ้ำมีความใกล้เคียงกันสูง จากการวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน ผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน และสภาวะแวดล้อมเดียวกัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินรวมจากตัวอย่างอาหารสัตว์จำนวน 39 ตัวอย่าง โดยวิธี Fluorometry พบว่าค่าเฉลี่ยของการปนเปื้อนเท่ากับ 7.39 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในระหว่าง

การวิเคราะห์ที่ได้ควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control) ของผลการวิเคราะห์โดยเติมสารมาตรฐานที่ทราบค่าลงในตัวอย่างควบคุม พบว่ามีค่า %recovery อยู่ในช่วง 87.67-111.85 % ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดสอบ นอกจากนี้เพื่อเป็นการควบคุมคุณภาพและยืนยันผลการวิเคราะห์ของวิธี Fluorometry ได้ทำการควบคุมคุณภาพภายนอก (External quality control) โดยเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ(Proficiency Testing) กับ FAPAS[®] ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการทางชีวเคมีระดับสากล โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับหน่วยงานดังกล่าวจากการตรวจซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าค่า z-score ของผลการวิเคราะห์มีค่าเท่ากับ -0.2 และ 1.2 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับความถูกต้อง ($z\text{-score} \leq 2$) ตาม FAPAS[®] (2004 และ 2005) แสดงว่าผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการชีวเคมีและพิษวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ มีผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ไม่แตกต่างจากห้องปฏิบัติการมาตรฐาน มีความแม่นยำเที่ยงตรง และสามารถควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์ได้ แม้จะดำเนินการตรวจในช่วงที่ยาวนานถึง 10 เดือน (ระหว่างเดือนธันวาคม 2548 ถึง กันยายน 2549)

สรุป

จากการทวนสอบความใช้ได้ของวิธี Fluorometry ในการตรวจวิเคราะห์อะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์ โดยศึกษาความแม่นยำ ความเที่ยง และเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับห้องปฏิบัติการมาตรฐาน สรุปได้ว่า Fluorometry เป็นวิธีที่ให้ผลแม่นยำ เชื่อถือได้ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากลเหมาะที่จะใช้ในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารอะฟลาทอกซินในอาหารสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอขอบคุณ สัตวแพทย์หญิงรื่นฤดี บุญยโหดระ และสัตวแพทย์หญิง ดร.พรเพ็ญ พัฒนโสภณ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำและแก้ไขต้นฉบับ พร้อมทั้งสถาบันอาหารที่ให้การอนุเคราะห์ จัดซื้อตัวอย่างอ้างอิงจาก FAPAS[®] ครั้งที่ 2 ปี 2005 (FAPAS[®] Proficiency test 0478 , Laboratory No. 025)

เอกสารอ้างอิง

- กัลยา วาณิชย์ปัญญา. 2539. การวิเคราะห์สถิติ. สถิติสำหรับการบริหารและวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 6. ภาควิชาสถิติ คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. หน้า 96-106, 519.
- เบญจมาศ มโหสถนันท์. 2543. การปนเปื้อนของสารพิษเชื้อราอะฟลาทอกซินในน้ำมัน. การแก้ไข ปัญหาอะฟลาทอกซินในอาหารโคนมตามโครงการแก้ปัญหอะฟลาทอกซินในอาหารและ อาหารสัตว์แบบครบวงจรในส่วนรับผิดชอบของกรมปศุสัตว์ปีงบประมาณ 2539-2543 กอง ควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์. หน้า 161-166.
- อนงค์ บิณทวิหค. 2546. สารพิษจากเชื้อราอะฟลาทอกซิน. พิมพ์ครั้งที่ 1. ภาควิชาเภสัชวิทยา คณะ สัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ. 322 หน้า
- Aflatest Instruction Manual. 1999. Aflatest[®] Fluorometer procedure for corn, milo, grain and feed (0-300 ppb, 0.2 grams sample equivalent). Vicam, L.P. Pleasant Street Watertown, USA. p. 34-35.
- EURACHEM Guide. 1998. "The fitness for purpose of analytical methods, A laboratory guide to method validation and related topics". First English Edition. p. 61. [Online]. Available : [http:// www. eurachem. bam. de/ guides/ vald. pdf](http://www.eurachem.bam.de/guides/vald.pdf)
- AOAC Peer verified method program. 1993. "Manual on policies and procedures", AOAC International Arlington, VA, USA. p. 22. [Online]. Available : [http://www. labcompliance. com](http://www.labcompliance.com)
- AOAC International. 1995. Official methods of analysis 16th ed. Chapter 49 Natural Toxins. AOAC International Arlington, Virginia, USA. 8-10 p.

AOAC International. 2002. Official methods of analysis. 17th ed. Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis.

AOAC International Arlington, Virginia, USA. 8-9 p.

FAPAS[®]. 2004. Aflatoxin analysis FAPAS[®] Series 4 Round 59, January-March 2004. Report No. 0459. p. 27.

FAPAS[®]. 2005. FAPAS[®] Proficiency Test 0478. Aflatoxins in Animal Feed, August-September 2005 Report. p. 29.

Horwitz W., Kamps L.R. and Boyer K.W. 1980. Quality assurance in the analysis of food for trace constituents. J. Assoc. off. Anal. Chem. 63(6) : 1344 - 1354.

Scott P.M. and Trucksess M.W. 1997. Application of immunoaffinity columns to mycotoxin analysis. J. Assoc. off. Anal. Chem. 80: 941-949.

Verification of Aflatoxin Analysis in feed by Fluorometry method

Lakkanok Sinprasopchai^{*} Phanom Saijit Lanee Sookthinthai

National Institute of Animal Health, Kasetklang, Jatujuk, Bangkok 10900

^{*}Corresponding author Tel. 02-5798908-14, Fax 02-5798919 E-mail : najuner_9@thailmail.com

Abstract

Verification of Fluorometry method for analysis of aflatoxin in animal feed was conducted by measuring a reference sample (maize T 0463 FAPAS[®]) containing 7.36 ± 0.24 microgram/kg aflatoxin for 10 times. The accuracy was evaluated by % recovery of the test which gave 98.10% and within the standard (standard at 60-115%) and no statistical difference by t-test ($t_{cal} < t_{crit}$; $t_{cal} = 1.16$, $t_{crit\ 0.025, 9} = 2.26$). The precision was evaluated by %RSD of average recovery which compared with predicted Horwitz RSD by Horrat formula and the result was 0.24 (standard at ≤ 2). Hence all of the parameters were passed the standard at 95% confidential. When used Fluorometry method for detection of aflatoxin in 39 animal feed samples during December 2005 to September 2006, it was found that 26/39 (66.67%) were positive with average at 7.36 microgram/kg, ranging from 2.1 to 43 microgram/kg. While 13/39 (33.33%) of the tested samples were negative. The %recovery was 87.67-111.85%. Result of the studies indicated that Fluorometry method for analysis of aflatoxin in animal feed provided accuracy and precision and can be passed the verification even though 10-month period performed.

keywords : Verification, Fluorometry, aflatoxin, animal feed