

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบปริมาณปรอททั้งหมดในเนื้อเยื่อสัตว์

สุวรรณี ศรีสุวรรณ ศรีไพร เจียนพันธ์ นิตยา อินทร์จันทร์ อภิญญา ธาณี

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดด้วยเครื่อง direct mercury analyzer ตามเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy ในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ (ตับ และเนื้อ) โดยการศึกษาในครั้งนี้ ได้ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือในหัวข้อ ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้ ค่าความไวของเครื่อง และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบ ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) ความแม่นยำ และความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการเดียว ผลการศึกษาพบว่า ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี 2 ช่วง คือ 0.1-150 $\mu\text{g/L}$ และ 300-5000 $\mu\text{g/L}$ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจคือ 0.9924 และ 0.9971 ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้ คือ 0.3196 $\mu\text{g/L}$ ค่าความไวของเครื่อง คือ 1 $\mu\text{g/L}$ ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบของตัวอย่างตับและเนื้อ มี 2 ช่วง คือ 0.001-0.100 mg/kg และ 0.300-1.500 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของตัวอย่างตับและเนื้อ คือ 0.001 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของตัวอย่างตับและเนื้อ คือ 0.002 mg/kg การทดสอบความแม่นยำโดยใช้วัสดุอ้างอิงที่มีใบรับรอง พบว่าค่าเฉลี่ยของการทดสอบมีค่าไม่แตกต่างจากค่าอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ผลการทดสอบความแม่นยำจากการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) แบบ simultaneously in single study ด้วยการหาค่า %RSD ที่ได้จากการทดสอบ Spiked sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.02 และ 0.04 mg/kg สำหรับตัวอย่างตับ และ 0.002, 0.010 และ 0.020 mg/kg สำหรับตัวอย่างเนื้อ มีค่าเฉลี่ย %Recovery อยู่ในช่วง 98.13 – 100.19 ในตัวอย่างตับ และ 92.83 – 97.28 ในตัวอย่างเนื้อ ค่า %RSD_r และ %RSD_d มีค่าน้อยกว่า PRSD ทุกระดับความเข้มข้นทั้งในตัวอย่างตับ และตัวอย่างเนื้อ ดังนั้น วิธีนี้มีความเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ (ตับ และ เนื้อ)

คำสำคัญ : ปรอท, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, เนื้อเยื่อสัตว์

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์ ถ.ติวานนท์ ต.บางกะดี อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000; โทรศัพท์ 0-2967-9727

Method Validation of Mercury in Animal tissue

Suwannee Srisuwan Sriphrai Jeanpan Nittaya Injan Apinya Thanee

Abstract

This study aimed to validate total mercury using a direct mercury analyzer based on thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy technique in animal tissue (liver and meat). The study examined the efficiency of the instrument in the following areas: linear range of calibration curve, instrument detection limit (IDL), sensitivity of the instrument, and also examined the validity of the method, linearity of the working range, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ), accuracy and precision of the analysis within a single laboratory. The study found that two concentration ranges that give a linear standard curve: 0.1-150 µg/L and 300-5000 µg/L. The coefficients of determination were 0.9924 and 0.9971, respectively. The instrument detection limit (IDL) was 0.3196 µg/L. The sensitivity of the instrument was 1 µg/L. The linearity of the working range of liver and meat samples had two ranges: 0.001-0.100 mg/kg and 0.300-1.500 mg/kg. The limit of detection (LOD) was 0.001 mg/kg in both matrices. The limit of quantitation (LOQ) was 0.002 mg/kg in both matrices. Accuracy testing using certified reference materials revealed that the test mean values were not significantly different from the reference values at the 95% confidence level. Accuracy results from bias measurements, expressed in terms of %recovery, repeatability, and intermediate precision were determined simultaneously in a single study. %RSD values were from testing spiked sample concentration levels of 0.002, 0.02, and 0.04 mg/kg for liver samples and 0.002, 0.010, and 0.020 mg/kg for meat samples. The average %recovery was in the range of 98.13 – 100.19 for liver samples and 92.83–97.28 for meat samples. Both %RSD_r (repeatability) and %RSD_i (intermediate precision) were less than predicted RSD (PRSD) at all concentration levels in both matrices. These results demonstrate that the method was accurate and suitable for the analysis of total mercury in animal tissue (liver and meat).

Keywords : Mercury, Direct mercury analyzer, Method validation, Animal tissue

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products, Department of Livestock Development, Tivanont Road, Bangkadi Subdistrict, Muang District, Pathum Thani Province, 12000; Tel. 0 2967 9727

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการทดสอบปริมาณปรอททั้งหมดในเนื้อเยื่อสัตว์

บทนำ

ปรอท (mercury) เป็นธาตุโลหะหนักชนิดหนึ่ง มีสัญลักษณ์ทางเคมี คือ Hg และมีเลขอะตอม 80 โดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมสามารถพบปรอทได้ 3 ลักษณะ คือ 1) ปรอทบริสุทธิ์ (elemental or metallic mercury) มีลักษณะโลหะสีขาวมันวาว เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ในอดีตใช้ใน thermometer หลอดไฟ และสวิชไฟ 2) ปรอทอนินทรีย์ (inorganic mercury) พบได้มากในสิ่งแวดล้อมโดยส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแร่ซินนาบาร์และเมตาซินนาบาร์ และในรูปของสิ่งเจือปนในแร่ธาตุอื่นๆ มนุษย์สัมผัสกับปรอทอนินทรีย์จากทั้งการทำงานและสิ่งแวดล้อม อาชีพที่มีความเสี่ยงสูงต่อการสัมผัสปรอทได้แก่ การทำเหมืองแร่ อุตสาหกรรมอิเล็กทรอนิกส์ การแปรรูปโลหะและสารเคมีที่ใช้ปรอท คนทั่วไปอาจสัมผัสปรอทผ่านทางผิวหนังจากการใช้สบู่และครีม 3) ปรอทอินทรีย์ (organic mercury) ที่พบมากในสิ่งแวดล้อมและห่วงโซ่อาหาร คือ เมทิลเมอร์คิวรี (methylmercury) ซึ่งเป็นสารปรอทอินทรีย์ที่มีความเป็นพิษสูง (World health organization [WHO], 2021; United States Environmental Protection Agency [U.S.EPA.], 2024) ปรอทเป็นมลพิษซึ่งมีแนวโน้มที่จะสะสมในห่วงโซ่อาหาร โดยเฉพาะอาหาร fresh food เป็นแหล่งที่มาหลักของการได้รับปรอทของมนุษย์ เช่น สัตว์น้ำ โดยอาจมาจากแหล่งน้ำที่อยู่เขตอุตสาหกรรม ส่วนในอาหารประเภทสินค้าปศุสัตว์ เช่น เนื้อไก่ เนื้อโค ถึงแม้จะมีแนวโน้มของการปนเปื้อนสารปรอทที่ต่ำกว่า แต่ยังสามารถตรวจพบปริมาณปรอทอยู่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาและวิธีการเลี้ยง การตรวจสอบการปนเปื้อนปรอทยังเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อป้องกันสุขภาพของผู้บริโภค (Nava *et al*, 2023)

ปรอทมีความเป็นพิษสูง มีต่อสุขภาพทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง หากหายใจสูดไอบปรอทเข้าไปในร่างกาย ทำให้เกิดอาการไอ หอบเหนื่อย แน่นหน้าอก หาวสั้น ไข้ อ่อนเพลีย การหลั่งน้ำลายเพิ่มขึ้น ปวดท้อง ท้องเสีย ลิ้นได้รับรสโลหะ กรณีรุนแรงเกิดเนื้อเยื่อปอดอักเสบ ปวดศีรษะ และการมองเห็นผิดปกติ หรือการได้รับสารปรอทอินทรีย์ เช่น methyl mercury เป็นเวลานาน จะทำให้เกิดอาการทางระบบประสาทเรื้อรัง เช่น กลืนยาก เดินเซ มีอาการชาตามปลายมือปลายเท้า อ่อนเพลีย สมรรถภาพทางเพศลดลง การผลิตอสุจิผิดปกติ การได้ยินเสื่อมลง ปวดตามตัว และหลงลืม จนถึงเป็นอัมพาต หมดสติ และถึงแก่ชีวิต ซึ่งอาการเหล่านี้เรียกว่า โรคมินามาตะ (Minamata disease) (WHO, 2021; U.S.EPA., 2024)

เนื่องจากปรอทเป็นโลหะที่มีความเป็นพิษสูง ความรุนแรงของอาการขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของปรอทที่สัมผัส ดังนั้นจึงมีหลายประเทศได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานการปนเปื้อนของปรอทในอาหารไว้ เช่น สหภาพยุโรปมีการกำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนสารปรอท ตาม COMMISSION REGULATION (EU) No 2018/73 of 16 January 2018 ค่าปริมาณที่อนุญาตให้ปนเปื้อนได้ในสินค้าประเภทยานพาหนะจากสัตว์-สัตว์บก (products of animal origin-terrestrial animals) ไม่เกิน 0.02 mg/kg สำหรับตับ ไต และเครื่องใน ส่วนของเนื้อ ไม่เกิน 0.01 mg/kg

ประเทศไทยมีการส่งออกสัตว์ปีก ไปยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป และสหภาพยุโรปมีการกำหนดให้ต้องมีการเฝ้าระวังสารตกค้างในสินค้าปศุสัตว์ โดยวิธีที่ใช้วิเคราะห์ต้องผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี และห้องปฏิบัติการต้องได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025 กรมปศุสัตว์ซึ่งมีอำนาจหน้าที่ในการกำกับ ดูแลและรับรองการส่งออกของประเทศที่มีการส่งออกสินค้าปศุสัตว์ จึงกำหนดแผนการเฝ้าระวังสารตกค้างในสินค้าปศุสัตว์ประจำปี ห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ซึ่งมีหน้าที่ในการตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ จึงต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในสินค้าปศุสัตว์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้อง สร้างความน่าเชื่อถือให้กับประเทศคู่ค้า และความมั่นใจด้านความปลอดภัยของสินค้าปศุสัตว์ให้กับผู้บริโภค

1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเครื่อง direct mercury analyzer ตามเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy ในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ (ตับ และเนื้อ)

2. ขอบข่าย

ดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเครื่อง direct mercury analyzer ตามเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy ในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ โดยใช้เนื้อไก่ และตับไก่ เป็นตัวแทน ตามแนวทางของ Eurachem (2025) เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ตรงตามวัตถุประสงค์การใช้งานครอบคลุมตามค่า MRLs ที่กำหนดไว้

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีวิเคราะห์หาปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy ในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ของห้องปฏิบัติการงานเคมีอาหาร สารตกค้าง และสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์

3.2 ใช้เป็นข้อมูลสำหรับประกอบขอการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 รายการทดสอบปรอททั้งหมดใน เนื้อสัตว์ และตับสัตว์

4. อุปกรณ์และสารเคมี

4.1 เครื่องมือ

4.1.1 เครื่อง Direct Mercury Analyzer ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 evo

4.1.2 เครื่องชั่ง ความละเอียด 0.0001 กรัม ยี่ห้อ Ohaus รุ่น AX224 ที่มีสายเชื่อมต่อกับเครื่อง Direct Mercury Analyzer

4.2 อุปกรณ์ที่ใช้

4.2.1 Adjustable pipette ขนาด 1-10 μL , 10-100 μL , 100 -1000 μL และ 500-5000 μL

4.2.2 ขวดวัดปริมาตรขนาด 10, 50, 100, 1000 mL

4.2.3 Sample Boat ชนิด Quartz ปริมาตร 1.5 mL

4.2.4 ขวดพลาสติกชนิด Low Density Polyethylene (LDPE) ขนาด 60 mL พร้อมฝาเกลียว

4.2.5 ที่คีบ (Forcep)

4.2.6 ซ้อนตักตัวอย่าง

4.3 สารเคมี

4.3.1 Nitric acid (HNO_3), conc. 69 % (w/v): supra grade (for trace analysis)

4.3.2 Hydrochloric acid (HCl), conc. 34 - 37 % (w/v): Trace Metal Grade

4.3.3 น้ำบริสุทธิ์สูง (High purity Water) ที่มีค่าความต้านทานไม่น้อยกว่า $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$

4.3.4 แก๊สออกซิเจนความบริสุทธิ์ $\geq 99.95 \%$

4.4 สารมาตรฐาน

4.4.1 สารละลายมาตรฐาน Mercury ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/mL}$ ใน 2% HNO_3 ยี่ห้อ Accu Standard, lot no. 221065171

4.4.2 สารละลายมาตรฐาน Mercury ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/mL}$ ใน 2% HNO_3 ยี่ห้อ Accu Standard, lot no. 223035027

4.4.3 เตรียม Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 5 µg/mL ใน 2% HNO₃

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Mercury ความเข้มข้น 1000 µg/mL ปริมาตร 0.5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL เติมกรดไนตริกเข้มข้น 2 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงให้ครบ 100 mL เสร็จแล้วถ่ายใส่ขวดพลาสติกขนาด 125 mL ด้วย 1% HCl

4.4.4 เตรียม Working Standard Solution ที่ระดับความเข้มข้น 1-2500 µg/L สำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน และสำหรับการทดสอบ Linearity of Calibration curve โดยปิเปต Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 5 µg/mL (ข้อ 4.4.3) ใส่ขวดวัดปริมาตร และปรับปริมาตรด้วย 1% HCl

5. วิธีดำเนินการ

5.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ ได้แก่ ตับไก่ และเนื้อไก่ เตรียมตัวอย่างสำหรับทดสอบโดยใช้มีดเลาะไขมัน พัง ผิดเส้นเลือดออกให้หมด แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำมาบดให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องบดอาหาร ตัวอย่างที่นำมาใช้ทดสอบปริมาณปรอททั้งหมด เลือกตัวอย่างที่มีปริมาณปรอทต่ำ ๆ สำหรับเป็น Sample blank ในการศึกษาครั้งนี้

5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณปรอท ชั่งตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 5.1 น้ำหนัก $100 \text{ mg} \pm 1 \text{ mg}$ ลงใน Sample Boat ที่ผ่านการทำความสะอาดและเผาที่อุณหภูมิ 650 องศาเซลเซียส นานอย่างน้อย 2 ชั่วโมง

5.3 สภาวะของเครื่อง Direct Mercury Analyzer ที่ใช้ในการทดสอบ

Wavelength :	253.65 nm
แก๊สออกซิเจน :	4 bar (ประมาณ 60 psi)
Thermal process :	

	Time (min)	Temperature (°C)
Drying	00:01:00	200
Decomposition	00:01:00	650

5.4 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง

5.4.1 การหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (Linear Range of Calibration Curve) โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1, 2, 5, 10, 20, 100, 50, 150, 300, 600, 750, 1000, 1500, 2500 และ 5000 µg/L ความเข้มข้นละ 100 µL ปิเปตลงใน sample boat แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้น สร้างกราฟด้วยโปรแกรมควบคุมการทำงานของเครื่องวัดปรอท โดยให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้น (Conc) และแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Correlation of determination, R²)

5.4.2 การหาค่า Instrument Detection Limit (IDL) โดยเตรียมสารละลาย 1% (v/v) HCl จากกรด HCl ชนิด Trace metal grade จากนั้นปิเปตสาร 1 % (v/v) HCl ปริมาตร 100 µL ใส่ Sample boat จำนวน 10 ข้ว แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานในช่วง 0 - 5000 µg/L คำนวณค่า Mean, SD และ IDL

$$\begin{aligned} \text{IDL} &= \text{Mean Conc. of blank} + 3\text{SD}_{\text{Blank}} \\ \text{SD}_{\text{blank}} &= \text{ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank} \end{aligned}$$

5.4.3 การหาค่าความไว (Sensitivity) ด้วยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท 2 ระดับความเข้มข้น คือ 0.3 (0.03 ng) และ 1 µg/L (0.1 ng) โดยการปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทที่เตรียมได้ ปริมาตร 100 µL ใส่ Sample boat แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวิเคราะห์ปรอท ความเข้มข้นละ 10 ข้ว และพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นใดมีค่าสูงกว่า 0.003 Abs (อ้างอิงจากการปนเปื้อนของระบบเครื่องมือต้องไม่สูงกว่า 0.003 Abs)

5.5 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

5.5.1 การทดสอบความเป็นเส้นตรงจาก Working range

เป็นการทดสอบความสามารถของวิธีที่จะให้ผลการวิเคราะห์ซึ่ง Response แปรตามปริมาณสารที่สนใจในตัวอย่าง โดยทดสอบ Spiked sample ที่มีความเข้มข้นของปรอท 0.001, 0.002, 0.005, 0.010, 0.020, 0.050, 0.100, 0.300, 0.500, 0.750, 1.000, 1.250 และ 1.500 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐาน สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างแกน x เป็นค่าความเข้มข้น (ng) และแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสง (Abs) และตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Correlation of determination, R^2)

5.5.2 การทดสอบค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ Limit of Detection (LOD) และค่าต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณได้แม่นยำ Limit of Quantitation (LOQ) โดยวิเคราะห์ Sample blank ตัวอย่างตบโก และเนื้อโก ชนิดละ 10 ซ้ำ คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของผลทดสอบ จากสูตร

$$LOD = 3S_0' \quad \text{และ} \quad LOQ = 10S_0'$$

$$\text{เมื่อ } S_0' = \frac{S_0}{\sqrt{n}} \quad \text{และ } S_0 = \text{standard deviation จากการทดสอบซ้ำ}$$

n = จำนวนซ้ำในการทดสอบตัวอย่าง Routine (ในวิธีทดสอบ $n = 1$)

ยืนยันค่า LOQ โดยวิเคราะห์ Sample blank ตัวอย่างตบโก เนื้อโก ชนิดละ 2 ซ้ำ และเติมสารละลายมาตรฐานลงใน Sample blank ให้มีความเข้มข้นระดับ LOQ ชนิดละ 10 ซ้ำ ตรวจสอบความแม่นยำ (Trueness) ด้วยการวัดความลำเอียง (Bias) จาก %Recovery เฉลี่ยต้องอยู่ในช่วงเกณฑ์กำหนดของ CODEX (2024) และความเที่ยง (Precision) จาก %RSD ของแต่ละชุดความเข้มข้นแสดงค่าในรูปของ RSDr ต้องไม่เกินเกณฑ์จาก Predicted RSDr (PRSDr) ที่คำนวณได้จาก Horwitz equation และถ้า RSD จากการทดสอบมากกว่า PRSDr ให้หาค่า HORRATr ค่ายอมรับ HORRATr < 2 (EU No. 2024/1045)

$$\%Recovery = \frac{CF}{(CA + CU)} \times 100$$

$$\%RSD = \frac{SD \times 100}{\text{mean of CF}}$$

โดย CF (Conc. Found) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่มีการเติม
CU (Conc. Unspiked) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่ไม่ได้เติม
CA (conc. added) คือ ความเข้มข้นของสารที่เติมลงไป

5.5.3 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision)

5.5.3.1 ประเมินผลการวิเคราะห์วิธีทดสอบว่ามีความแม่นยำ (Accuracy) พิจารณาจากการประเมิน Trueness ของตัวอย่าง CRM ชนิด Skimmed milk powder (BD150) โดยชั่งน้ำหนัก 25 ± 2 mg (เนื่องจากมี ลักษณะเป็นผงแห้ง) ใน Sample boat จำนวน 10 ซ้ำ ทำการวิเคราะห์โดยอ่านค่าปริมาณปรอทเทียบกับ Calibration Curve คำนวณค่าเฉลี่ย และ standard deviation เปรียบเทียบกับค่าจริงของ CRM โดยใช้สถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 โดยค่าที่คำนวณได้ต้องไม่เกิน ค่า t_{cr} จากตาราง t-distribution คำนวณค่า t จาก

$$t = \frac{(\bar{x} - \mu) / (s / \sqrt{n})}{}$$

5.5.3.2 ประเมินผลความแม่นยำด้วยการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) แบบ simultaneously in single study ด้วยการวิเคราะห์ Spiked sample จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น ให้ครอบคลุมค่า MRL คือ ระดับ LOQ, 0.02 และ 0.040 mg/kg สำหรับตับไก่ และ LOQ, 0.01 และ 0.020 mg/kg สำหรับเนื้อไก่ ทดสอบความเข้มข้นละ 8 group ($p=8$) โดยวิเคราะห์ group ละ 2 ซ้ำ ($N= 16$) (ต่างนักวิเคราะห์ และต่างวัน)

ตารางที่ 1 กำหนดความเข้มข้นของ Spiked sample และผู้ทดสอบ

Conc (mg/kg)	วันที่	ผู้ทดสอบ			
0.002 (LOQ)	1	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4
	2	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4
0.02 (ตับไก่), 0.01 (เนื้อไก่)	1	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4
	2	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4
0.04 (ตับไก่), 0.02 (เนื้อไก่)	1	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4
	2	ผู้วิเคราะห์ 1	ผู้วิเคราะห์ 2	ผู้วิเคราะห์ 3	ผู้วิเคราะห์ 4

ประเมินความแม่นยำ (Accuracy) ค่า %Recovery (%Rec) เหนี่ยจาก Spiked sample แต่
ละชุดต้องอยู่ในช่วงเกณฑ์กำหนดของ CODEX (2024) คำนวณหาค่า %Recovery ของแต่ละชุดความ
เข้มข้น จากสูตร

$$\% Recovery = \frac{(CF - CU)}{CA} \times 100$$

ประเมินความเที่ยง (Precision) โดยคำนวณค่า repeatability standard
deviation และ between-group standard deviation จาก ANOVA แล้วประมาณค่า repeatability
standard deviation (S_r) และ intermediate precision standard deviation (S_I) จากสมการที่ 1-3

ตารางที่ 2 Anatomy of a table for a one-way ANOVA

Source of variation	Sum of squares (SS)	ν	Mean square (MS)	F	P	F_{crit}
Between groups	SS_b	$p-1$	$MS_b = SS_b/(p-1)$	MS_b/MS_w		
Within group (residuals)	SS_w	$N-p$	$MS_w = SS_w/(N-p)$			
Total	$SS_{tot} = SS_b + SS_w$	$N-1$				

repeatability standard deviation (S_r)

$$S_r = \sqrt{MS_w} \tag{สมการ 1}$$

Total variation from the grouping factor ($S_{between}$)

$$S_{between} = \sqrt{\frac{MS_b - MS_w}{n}} \tag{สมการ 2}$$

Intermediate precision (S_I)

$$S_I = \sqrt{S_r^2 + S_{between}^2} \tag{สมการ 3}$$

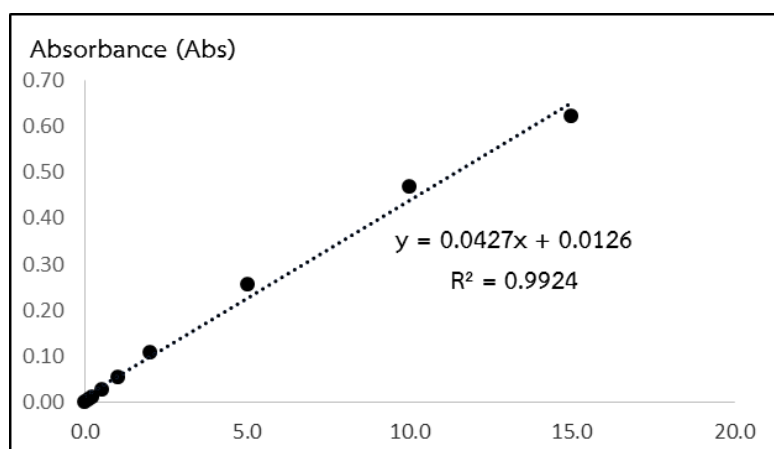
6. ผลการทดสอบ

6.1 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง

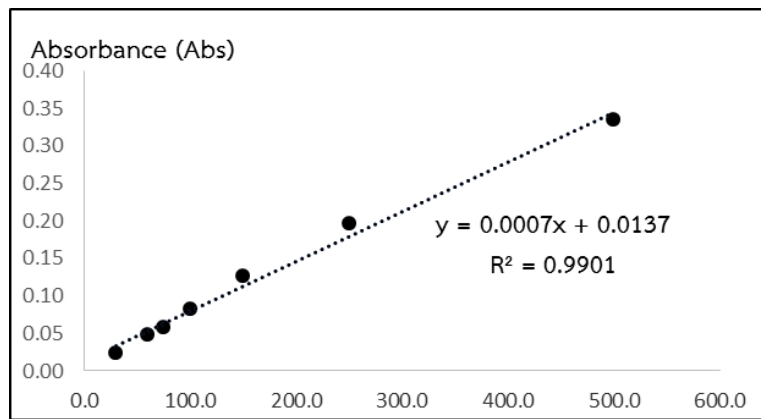
6.1.1 ผลการหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (Linear Range of Calibration Curve)

ตารางที่ 3 ผลการหา Linear Range ของสารมาตรฐานปรอท

Conc. (µg/L)	Hg mass (ng)	Cell	Abs	R ²
0	0.0	1	0.0010	0.9924
1	0.1	1	0.0063	
2	0.2	1	0.0119	
5	0.5	1	0.0283	
10	1.0	1	0.0535	
20	2.0	1	0.1077	
50	5.0	1	0.2552	
100	10.0	1	0.4693	
150	15.0	1	0.6217	
300	30.0	2	0.0238	0.9901
600	60.0	2	0.0476	
750	75.0	2	0.0581	
1000	100.0	2	0.0814	
1500	150.0	2	0.1257	
2500	250.0	2	0.1955	
5000	500.0	2	0.3339	



กราฟที่ 1 Linear Range ของ Hg ช่วงความเข้มข้น 0-150 µg/L (Cell 1)



กราฟที่ 2 Linear Range ของ Hg ช่วงความเข้มข้น 300-5000 µg/L (Cell 2)

6.1.2 ผลการหาค่า Instrument Detection Limit (IDL)

ตารางที่ 4 ผลการหาค่า Instrument Detection Limit (IDL) จากกรด HCl

Instrument Detection Limit (IDL)	
ครั้งที่	Conc. (µg/L) of 1 % HCl
1	0.2382
2	0.2110
3	0.1172
4	0.1402
5	0.1044
6	0.0914
7	0.0924
8	0.2250
9	0.0923
10	0.1094
Mean (ppb)	0.1422
SD	0.0592
IDL (µg/L)	0.3196

จากผลทดสอบในตารางที่ 4 แสดงว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของปรอทที่เครื่อง Direct Mercury Analyzer สามารถวัด (Instrument Detection limit, IDL) ได้จาก 1%HCl (v/v) จากกรด HCl ชนิด Trace metal grade มีค่าเท่ากับ 0.3196 µg/L

6.1.3 ผลการหาค่าความไว (Sensitivity)

ตารางที่ 5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 0.3 µg/L (0.03 ng)

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Absorbance	0.0031	0.0025	0.0023	0.0024	0.0024	0.0025	0.0023	0.0022	0.0021	0.0021
mean (Abs)	0.0024									
SD (Abs)	0.0003									

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/L}$ (0.1 ng)

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Absorbance	0.0061	0.0059	0.0058	0.006	0.0059	0.0058	0.0061	0.0058	0.0063	0.0061
mean (Abs)	0.0060									
SD (Abs)	0.0002									

จากผลทดสอบในตารางที่ 5 และ ตารางที่ 6 พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของปรอทที่เครื่อง Direct Mercury Analyzer สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้สูงกว่า 0.003 Abs คือ 1 $\mu\text{g/L}$ (0.1 ng) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0060 Abs ดังนั้น ค่าความไวของเครื่องวิเคราะห์ปรอท DMA-80 evo จากการทดสอบด้วยสารละลายมาตรฐานปรอท คือ ที่ระดับความเข้มข้น 1 $\mu\text{g/L}$

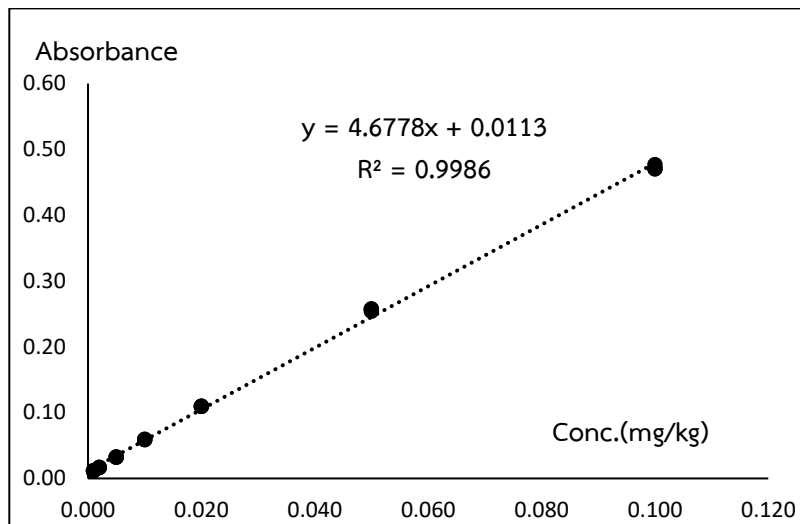
6.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

6.2.1 การทดสอบความเป็นเส้นตรงจาก Working range

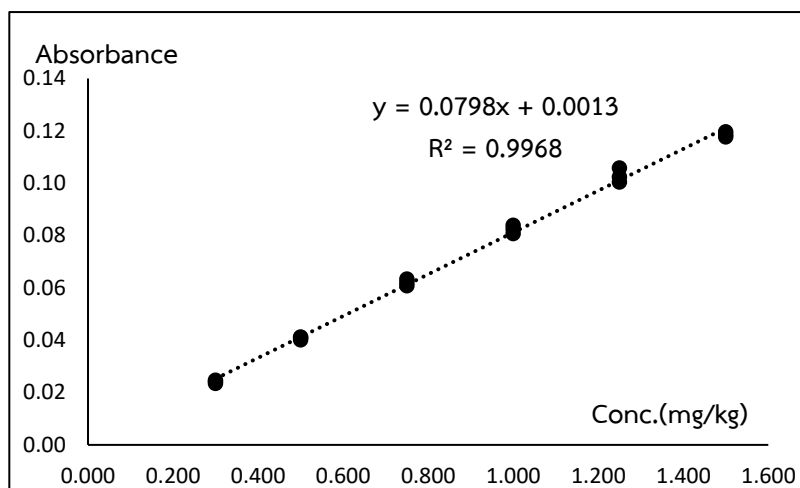
6.2.1.1 ผลการทดสอบ Working Range ของตัวอย่างตับ

ตารางที่ 7 ผลการหา Working Range ของ Spiked Liver sample

SPK Conc. (mg/kg)	Hg (ng)	Cell	Absorbance			R ²
			1	2	3	
0.001	0.1	1	0.0114	0.0119	0.0116	0.9986
0.002	0.2	1	0.0167	0.0167	0.0166	
0.005	0.5	1	0.0322	0.0326	0.0323	
0.010	1.0	1	0.0590	0.0594	0.0590	
0.020	2.0	1	0.1096	0.1094	0.1097	
0.050	5.0	1	0.2575	0.2542	0.2575	
0.100	10.0	1	0.4706	0.4769	0.4704	
0.300	30	2	0.0243	0.0235	0.0247	0.9968
0.500	50	2	0.0410	0.0402	0.0413	
0.750	75	2	0.0620	0.0634	0.0608	
1.000	100	2	0.0825	0.0808	0.0839	
1.250	125	2	0.1005	0.1058	0.1024	
1.500	150	2	0.1197	0.1186	0.1177	



กราฟที่ 3 Linearity ของ Working range ของตัวอย่างดับ ระหว่างความเข้มข้น 0.001 – 0.100 mg/kg



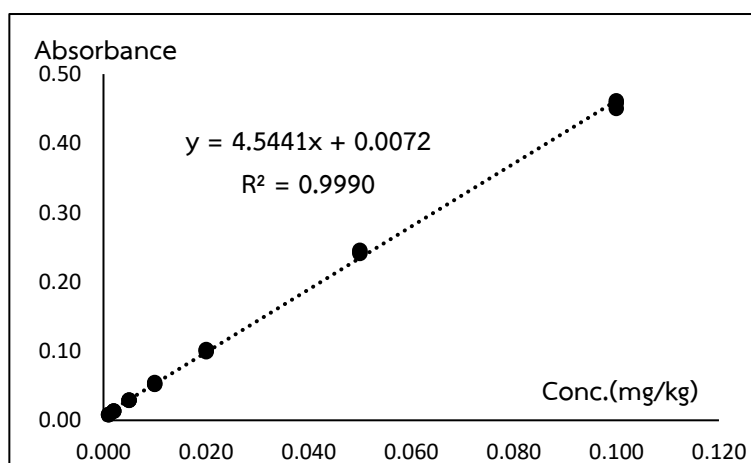
กราฟที่ 4 Linearity ของ Working range ของตัวอย่างดับ ระหว่างความเข้มข้น 0.300 – 1.500 mg/kg

จากข้อมูลในตารางที่ 7 เมื่อนำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ เพื่อพิจารณาความเป็นเส้นตรงของ working range ของ การทดสอบปริมาณปรอทในตัวอย่างดับ พบว่าช่วงความเข้มข้นของสาร Spiked sample ระหว่างความเข้มข้น 0.001-0.100 mg/kg (เครื่องอ่านค่าจาก cell 1) และ 0.300 – 1.500 mg/kg (เครื่องอ่านค่าจาก cell 2) ให้กราฟเป็นเส้นตรง มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9986 และ 0.9968 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($R^2 \geq 0.990$) แสดงว่าวิธีทดสอบนี้ ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามปริมาณปรอทในตัวอย่างดับสัตว์ ตั้งแต่ 0.001-0.100 mg/kg และ 0.300 – 1.500 mg/kg

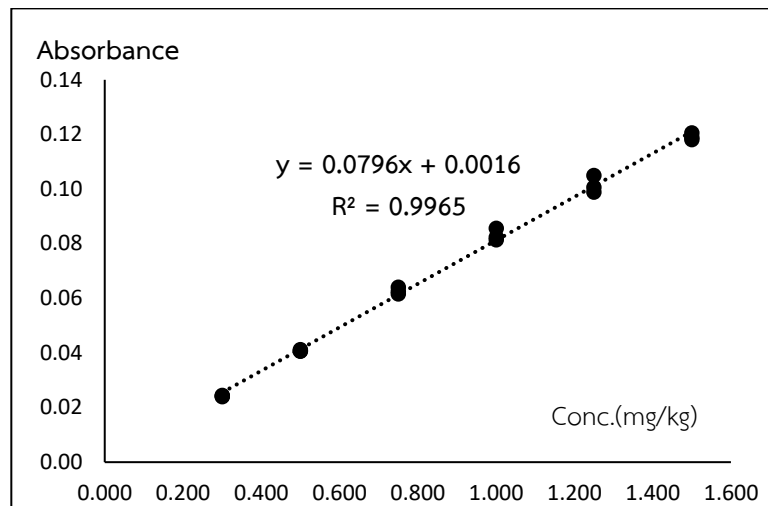
6.2.1.2 ผลการทดสอบ Working Range ของตัวอย่างเนื้อ

ตารางที่ 8 ผลการหา Working Range ของ Spiked meat sample

SPK Conc. (mg/kg)	Hg (ng)	Cell	Absorbance			R ²
			1	2	3	
0.001	0.1	1	0.0086	0.0810	0.0830	0.9990
0.002	0.2	1	0.0132	0.0134	0.0133	
0.005	0.5	1	0.0290	0.0294	0.0292	
0.010	1.0	1	0.0547	0.0521	0.0524	
0.020	2.0	1	0.1012	0.1022	0.0990	
0.050	5.0	1	0.2410	0.2433	0.2457	
0.100	10.0	1	0.4584	0.4504	0.4613	
0.300	30.0	2	0.0240	0.0242	0.0244	0.9965
0.500	50.0	2	0.0406	0.0407	0.0412	
0.750	75.0	2	0.0616	0.0625	0.0641	
1.000	100.0	2	0.0814	0.0823	0.0856	
1.250	125.0	2	0.0989	0.1050	0.1006	
1.500	150.0	2	0.1181	0.1205	0.1189	



กราฟที่ 5 Linearity ของ Working range ของตัวอย่างเนื้อ ระหว่างความเข้มข้น 0.001 – 0.100 mg/kg



กราฟที่ 6 Linearity ของ Working range ของตัวอย่างเนื้อ ระหว่างความเข้มข้น 0.300 – 1.500 mg/kg

จากข้อมูลในตารางที่ 8 เมื่อนำมาสร้างกราฟหาความสัมพันธ์ เพื่อพิจารณาความเป็นเส้นตรงของ working range ของการทดสอบ ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเนื้อ พบว่าช่วงความเข้มข้นของสาร Spiked sample ระหว่างความเข้มข้น 0.001-0.100 mg/kg (เครื่องอ่านค่าจาก cell 1) และ 0.300 – 1.500 mg/kg (เครื่องอ่านค่าจาก cell 2) ให้กราฟเป็นเส้นตรง มีค่า R^2 เท่ากับ 0.9990 และ 0.9965 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($R^2 \geq 0.990$) แสดงว่าวิธีทดสอบนี้ ค่าการดูดกลืนแสงแปรผันตามปริมาณโปรตีนในตัวอย่างเนื้อ ตั้งแต่ 0.001-0.100 mg/kg และ 0.300 – 1.500 mg/kg

6.2.2 ผลการทดสอบ Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบ LOD และ LOQ ในตับ

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Conc. (mg/kg)	0.0011	0.0007	0.0007	0.0007	0.0007	0.0007	0.0007	0.0006	0.0006	0.0006
mean	0.00071									
SD	0.00014									
$S_0' =$	0.00014									
$LOD = 3 S_0' =$	0.0004									
$LOQ = 10 S_0' =$	0.0014									

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบ LOD และ LOQ ในเนื้อ

ครั้งที่	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Conc. (mg/kg)	0.0005	0.0004	0.0002	0.0002	0.0002	0.0002	0.0001	0.0002	0.0001	0.0001
mean	0.00022									
SD	0.00013									
$S_0' =$	0.00013									
$LOD = 3 S_0' =$	0.0004									
$LOQ = 10 S_0' =$	0.0013									

จากตารางที่ 9-10 แสดงผลการทดสอบค่า Limit of Detection (LOD) ของตัวอย่างตับ เนื้อ เท่ากับ 0.0004 mg/kg ซึ่งกำหนดให้ใช้ค่า LOD เป็น 0.001 mg/kg ส่วนค่า Limit of Quantitation (LOQ) ของตัวอย่างตับ เนื้อ เท่ากับ 0.0014, 0.0013 mg/kg ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้กำหนดให้ใช้ค่า LOQ เป็น 0.002 mg/kg ที่จะทำการทดสอบยืนยันค่า LOQ

ตารางที่ 11 ผลการยืนยันหาค่า Limit of Quantitation (LOQ) ในตับ

ครั้งที่	Measured Concentration (mg/kg)		% Recovery
	SB	SB + SPK 0.0020 mg/kg	
1	0.0008	0.0019	95.0
2	0.0007	0.0019	95.0
3		0.0019	95.0
4		0.0018	90.0
5		0.0019	95.0
6		0.0019	95.0
7		0.0018	90.0
8		0.0018	90.0
9		0.0020	100.0
10		0.0019	95.0
mean		0.0019	94.0
SD		0.00006	
%RSDr		3.36	
เกณฑ์ % Recovery		60 - 115	
PRSDr		27.15	
HORRATr		0.12	

จากตารางที่ 11 พบว่า Sample blank + Standard ที่มีปริมาณปรอท 0.002 mg/kg มีค่า % Recovery เฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ 60 - 115 %, %RSD อยู่ในเกณฑ์ PRSD_r และค่า HORRAT_r < 2 แสดงว่าการทดสอบปริมาณปรอททั้งหมดในตับด้วยวิธีนี้มีค่า LOQ อยู่ที่ปริมาณ 0.002 mg/kg

ตารางที่ 12 ผลการยืนยันหาค่า Limit of Quantitation (LOQ) ในเนื้อ

ครั้งที่	Measured Concentration (mg/kg)		% Recovery
	SB	SB + SPK 0.0020 mg/kg	
1	0.0020	0.0020	100.0
2	0.0020	0.0022	110.0
3		0.0021	105.0
4		0.0021	105.0
5		0.0019	95.0
6		0.0019	95.0
7		0.0019	95.0
8		0.0021	105.0
9		0.0020	100.0
10		0.0020	100.0
mean		0.0020	101.0
SD		0.00010	
%RSDr		5.11	
เกณฑ์ % Recovery		60 – 115	
PRSDr		26.86	
HORRATr		0.19	

จากตารางที่ 12 พบว่า Sample blank + Standard ที่มีปริมาณปรอท 0.002 mg/kg มีค่า % Recovery เฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ 60 – 115 %, %RSD_r อยู่ในเกณฑ์ PRSD_r และค่า HORRAT_r < 2 แสดงว่าการทดสอบปริมาณปรอททั้งหมดในเนื้อด้วยวิธีนี้มีค่า LOQ อยู่ที่ปริมาณ 0.002 mg/kg

6.2.3 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision)

6.2.3.1 ความแม่นยำ (Accuracy) จากการประเมิน Trueness ของตัวอย่าง CRM ชนิด Skimmed milk powder (BD150)

ตารางที่ 13 การประเมิน Trueness

no	Measured conc. (mg/kg)
1	0.0616
2	0.0615
3	0.0589
4	0.0609
5	0.0605
6	0.0633
7	0.0601
8	0.0594
9	0.0586
10	0.0613
mean =	0.0606
SD =	0.00142
n =	10
true value =	0.060 ± 0.007
$t_{cal} =$	1.354
$t_{crit} (0.05,9) =$	2.262

ผลการทดสอบวัสดุอ้างอิงรับรอง และผลการเปรียบเทียบกับค่า t_{crit} จากตาราง t-distribution โดย $df = n-1 (=9)$ และ $p = 0.05$ ได้ค่า $t_{crit} = 2.262$ พบว่าค่า t ที่คำนวณได้ (1.354) มีค่าน้อยกว่าค่า t_{crit} (2.262) แสดงว่าค่าการประเมินผลความแม่นยำจากค่าลำเอียง (Bias) ของปริมาณปรอททั้งหมดที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างจาก Certified value ระดับความเชื่อมั่น 95 %, $k=2$

6.2.3.2 ผลความแม่นยำจากการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) ทั้ง Repeatability และ Intermediate Precision ศึกษาแบบ simultaneously in single study

ตารางที่ 14 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของปรอทในตับ

Spiked Conc.		0.002 mg/kg	0.020 mg/kg	0.040 mg/kg
Day		24-25/12/2567	24-25/12/2567	24-25/12/2567
Number of result (N), group (p)		16, 8	16, 8	16, 8
% Recovery เฉลี่ย		98.13	100.19	98.14
Repeatability	%RSD _r	3.1204	2.3673	1.5482
Intermediate Precision	%RSD _i	3.6983	2.5281	1.5981
PRSD		26.9778	19.0172	17.1866
HORRAT		0.1157	0.1245	0.0901
เกณฑ์ HORRAT		< 2	< 2	< 2
เกณฑ์ % Recovery		60 - 115	60 - 115	60 - 115
ANOVA	F	1.80952	1.28095	1.13101
	F _{crit}	3.50046	3.50046	3.50046

ตารางที่ 15 สรุปผลการทดสอบ Accuracy และ Precision ของปรอทในเนื้อ

Spiked Conc.		0.002 mg/kg	0.010 mg/kg	0.020 mg/kg
Day		17-18/12/2567	17-18/12/2567	17-18/12/2567
Number of result (N), group (p)		16, 8	16, 8	16, 8
% Recovery เฉลี่ย		92.83	97.12	97.28
Repeatability	%RSD _r	5.2161	2.4146	3.0865
Intermediate Precision	%RSD _i	6.5980	2.8364	4.2336
PRSD		27.2047	21.2071	19.1016
HORRAT		0.1917	0.1139	0.1616
เกณฑ์ HORRAT		< 2	< 2	< 2
เกณฑ์ % Recovery		60 - 115	60 - 115	60 - 115
ANOVA	F	2.200	1.7597	2.7628
	F _{crit}	3.50046	3.50046	3.50046

ผลทดสอบความแม่นยำจากการประเมิน %Recovery และ ความเที่ยงจากการหาค่า %RSD ที่ได้จากการทดสอบ Spiked sample ของตัวอย่างตับ เนื้อ ครอบคลุมค่า target value หรือค่า Maximum contaminant level ที่ 0.02 mg/kg และ 0.01 mg/kg ตามลำดับ จำนวนชนิดละ 8 group (group ละ 2 ซ้ำ) โดยมีผู้ปฏิบัติการทดสอบ 4 คน ซึ่งผลทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั้ง Accuracy และ Precision แบบ repeatability และ within laboratory reproducibility (Intermediate precision) ดังตารางที่ 14 และ ตารางที่ 15

7. สรุปผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมด ในเนื้อเยื่อสัตว์ (ตับ และเนื้อ) ด้วยเครื่อง direct mercury analyzer ตามเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy พบว่า ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี 2 ช่วง คือ 0.1-150 µg/L และ 300-5000 µg/L ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจคือ 0.9924 และ 0.9971 ตามลำดับ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้คือ 0.3196 µg/L ค่าความไวของเครื่อง คือ 1 µg/L ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบของตัวอย่างตับและเนื้อ มี 2 ช่วง คือ 0.001-0.100 mg/kg และ 0.300-1.500 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของตัวอย่างตับและเนื้อ คือ 0.001 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของตัวอย่างตับและเนื้อ คือ 0.002 mg/kg การทดสอบความแม่นยำโดยใช้วัสดุอ้างอิงที่มีใบรับรอง พบว่าค่าเฉลี่ยของการทดสอบมีค่าไม่แตกต่างจากค่าอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ผลการทดสอบความแม่นยำจากการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) แบบ simultaneously in single study ด้วยการหาค่า %RSD ที่ได้จากการทดสอบ Spiked sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.02 และ 0.04 mg/kg สำหรับตัวอย่างตับ และ 0.002, 0.010 และ 0.020 mg/kg สำหรับตัวอย่างเนื้อ มีค่าเฉลี่ย %Recovery อยู่ในช่วง 98.13 – 100.19 ในตัวอย่างตับ และ 92.83 – 97.28 ในตัวอย่างเนื้อ ค่า% RSDr และ %RSDi มีค่าน้อยกว่า PRSD ทุกระดับความเข้มข้นทั้งในตัวอย่างตับ และตัวอย่างเนื้อ ดังนั้นวิธีนี้มีความเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดในตัวอย่างเนื้อเยื่อสัตว์ (ตับ และ เนื้อ)

8. ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากเครื่องวิเคราะห์ปรอท มี 2 cell สำหรับวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยเครื่องจะอ่านค่าผ่าน cell 1 ไปยัง cell 2 โดยที่ cell 1 มีความสามารถในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารไม่เกิน 0.85 Abs ถ้าสารที่วัดมีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า 0.85 Abs เครื่องจะทำการอ่านค่าจาก cell 2 แทนโดยอัตโนมัติ ซึ่งความเข้มข้นของปรอทที่ประมาณ 0.200 mg/kg เป็นช่วงคาบเกี่ยวระหว่าง cell 1 และ cell 2 ไม่อยู่ในช่วงที่เป็น linearity ดังนั้น ในการทดสอบตัวอย่าง ถ้าพบปริมาณปรอทในช่วงระหว่างความเข้มข้น 0.100 – 0.300 mg/kg ต้องมีการตรวจสอบยืนยันค่า โดยลดหรือเพิ่มน้ำหนักตัวอย่างให้อยู่ในช่วง Working Range

9. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ คุณวิภาดา สิริสมภพชัย ผู้เชี่ยวชาญด้านการตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ และคุณสรารัฐ ชูกระชั้น หัวหน้างานเคมีอาหารสารตกค้างและสารปนเปื้อน ที่ให้คำปรึกษาในการดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่ช่วยในการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

10. เอกสารอ้างอิง

European Commission. 2018. Commission Regulation (EU) 2018/73 of 16 January 2018 amending Annexes II and III to Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards maximum residue levels for mercury compounds in or on certain products. *Official Journal of the European Union*. L 13: 8-20.

Eurachem Guide. 2025. The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics., Third edition.

- United States Environmental Protection Agency. 2007. Method 7473 (SW-846) Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry, revision 0. Washington, DC.
- United States Environmental Protection Agency. 2024. Basic information about mercury. [Online]. Available: <https://www.epa.gov/mercury/basic-information-about-mercury#overview>. Accessed July 21, 2025.
- WHO (World health organization). 2021. Mercury and human health: educational course. WHO Regional Office for Europe. Copenhagen, Denmark. 174 pages.