การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณอะลูมินัมในรังนก

สุวรรณี ศรีสุวรรณ ศรีไพร เจียนพันธ์ นิตยา อินทร์จันทร์ อภิญญา ธานี

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะลูมินัม (Al) ในรังนกด้วยเทคนิค ICP-MS โดยการศึกษาในครั้งนี้ ได้ทำการตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือในหัวข้อ ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้ ค่าความไวของเครื่อง และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบ ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (LOQ) ความแม่น และ ความเที่ยงของการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการเดียว ผลการศึกษาพบว่า ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง 0-2500 µg/L ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ คือ 0.9995 ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้ คือ 1.819 µg/L ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบของตัวอย่าง คือ 4-200 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบของตัวอย่าง คือ 2 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณของตัวอย่างตับและเนื้อ คือ 4 mg/kg ผลการทดสอบความถูกต้องจากการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) แบบ simultaneously in single study ด้วยการหาค่า %RSD ที่ได้จากการทดสอบ spiked sample ที่ระดับความเข้มข้น 4, 100 และ 200 mg/kg มีค่าเฉลี่ย %Recovery อยู่ในช่วง 96.85-102.05 ค่า %RSDr และ %RSDi มีค่าน้อยกว่า PRSD และค่า HORRAT ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกระดับความเข้มข้นทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่น และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมินัมในรังนกครอบคลุมค่า ML ที่ศึกษา

คำสำคัญ : อะลูมินัม, อะลูมิเนียม, ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี, รังนก

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

Method Validation of Aluminum in Edible Bird's Nest

Suwannee Srisuwan Sriphrai Jeanpan Nittaya Injan Apinya Thanee

Abstract

This study aimed to validate aluminum using ICP-MS in edible bird's nest. The study examined the efficiency of the instrument in the following areas: linear range of calibration curve, instrument detection limit (IDL) and also examined the validity of the method, linearity of the working range, limit of detection (LOD), limit of quantitation (LOQ), accuracy include trueness and precision of the analysis within a single laboratory. The study found that concentration ranges that give a linear standard curve was 0-2500 µg/L. The correlation coefficient was 0.9995. The instrument detection limit (IDL) was 1.819 µg/L. The linearity of the working range of sample was 4-200 mg/kg. The limit of detection (LOD) was 2 mg/kg in both matrices. The limit of quantitation (LOQ) was 4 mg/kg. Trueness 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 4, 100, and 200 mg/kg showed the average %recovery was in the range of 96.85-102.05. Both $\%RSD_r$ (repeatability) and $\%RSD_i$ (intermediate precision) were less than predicted RSD (PRSD) at all concentration levels while $HORRAT_r$ and $HORRAT_i$ values were less than 2 at all concentration levels. These results demonstrate that the method was accurate and suitable for the analysis of aluminum in Edible Bird's Nest.

Keywords : Aluminum, Aluminium, ICP-MS, edible bird's nest

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

การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณอะลูมินัมในรังนก

บทนำ

คำว่า “รังนก” หมายถึง รังของนกอีแอ่น ซึ่งเรียกกันหลายอย่าง เช่น นกอีแอ่น นกนางแอ่น นกแอ่นกินรัง (edible nest swiftlets) ซึ่งเป็นรังนกที่กินได้ (edible bird’s nest, EBN) หรือเรียกว่า คิวบิโลส (cubilose) (กมลศักดิ์ เลิศไพบูลย์ และ ภวิกา มหาสวัสดิ์, 2564) ซึ่งจากนี้จะใช้คำว่า “รังนก” แทนคำว่า “รังนกที่กินได้”

รังนก ถูกสร้างขึ้นจากสารคัดหลั่งจากต่อมน้ำลายของนกแอ่นในระหว่างการผสมพันธุ์ (Fan et al., 2022) สารที่ขับออกมามีลักษณะเป็นเส้นบาง ๆ คล้ายวุ้น สานทอเป็นรังรูปครึ่งถ้วยยึดติดกับผนังถ้ำหรือผนังบ้านหรือเพดานของอาคารเหมือนซีเมนต์ที่แห้งเร็ว ลักษณะรังเมื่อแห้งจะแข็ง รังมีรูพรุนมีเศษขนละเอียดบ้าง (บังอร บุญชู, 2547) รังนกที่ผ่านการทำความความสะอาดแล้วจะเป็นผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีราคาตลาดสูงที่สุดในโลกเนื่องจากเป็นสินค้าที่มีมูลค่าสูง มีการบริโภครังนกมาเป็นเวลายาวนานกว่าศตวรรษ ในหลายประเทศ โดยเชื่อว่าเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีสรรพคุณทางยา เนื่องด้วยมูลค่าทางเศรษฐกิจที่สูงของรังนกจึงเป็นแรงดึงดูดให้ลงทุนและมีส่วนร่วมในอุตสาหกรรมรังนก ปัจจุบันจีนเป็นผู้นำเข้ารายใหญ่ที่สุด ขณะที่ประเทศในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่ อินโดนีเซีย มาเลเซีย และไทย เป็นสามประเทศผู้ส่งออกรังนกรายใหญ่ที่สุด (Zulkefle et al., 2024)

ในปี พ.ศ. 2557 ประเทศไทยและสาธารณรัฐประชาชนจีนได้มีการทำข้อตกลงพิธีสารว่าด้วยข้อกำหนดการตรวจสอบกักกันโรคและสุขอนามัยสำหรับการนำเข้าผลิตภัณฑ์รังนกจากประเทศไทยไปสาธารณรัฐประชาชนจีน โดยทางการจีนอนุญาตให้นำเข้ารังนกจากประเทศไทย เฉพาะรังนกที่มีสีขาว เหลือง หรือทอง ซึ่งรังนกดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการผลิตและการทำความสะอาดภายใต้หลักปฏิบัติที่ดีในการผลิตอาหาร (Good manufacturing practice, GMP) ซึ่งรับรองโดยกรมปศุสัตว์ และสถานประกอบการนั้นต้องได้รับการขึ้นทะเบียนสถานประกอบการเพื่อส่งออกสินค้ารังนกไปสาธารณรัฐประชาชนจีนจากสำนักงานศุลกากรแห่งสาธารณรัฐประชาชนจีน (General Administration of People’s Republic of Chaina, GACC) (นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์ และ วลัยกร ศรีเจริญ, 2564) และปี พ.ศ 2567 ได้มีการจัดทำร่างร่างพิธีสารว่าด้วยข้อกำหนดการตรวจสอบกักกันโรคและสุขอนามัยสำหรับการส่งออกรังนกดิบที่ไม่ผ่านการทำความสะอาดและรังนกเพื่อการบริโภคจากไทยไปสาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งเป็นการปรับปรุงแก้ไขจากพิธีสารฯฉบับเดิม โดยมีเนื้อหาเพิ่มเติมที่สำคัญคือ กำหนดให้มีการตรวจวิเคราะห์ Aluminum ในรังนก โดยวิธีวิเคราะห์ต้องผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีและต้องได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025

ห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ เป็นหน่วยงานในสังกัดกรมปศุสัตว์ที่มีหน้าที่รับผิดชอบในการตรวจวิเคราะห์สารปนเปื้อนโลหะหนักในตัวอย่างรังนก กิจกรรม 4.6 รังนกเพื่อการส่งออก จึงต้องทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณ Aluminum ในสินค้าปศุสัตว์ เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีที่วิเคราะห์ให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้อง สร้างความน่าเชื่อถือให้กับประเทศคู่ค้า และความมั่นใจด้านความปลอดภัยของสินค้าปศุสัตว์ให้กับผู้บริโภค

1. วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมินัมในรังนกด้วยเทคนิค Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)

2. ขอบข่าย

ตรวจสอบความใช้ได้ของทดสอบปริมาณอะลูมินัม (Al) ในรังนกด้วยเทคนิค ICP-MS เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างได้ตรงตามวัตถุประสงค์การใช้งานครอบคลุมตามค่า maximum limit (ML) ที่กำหนด

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีทดสอบที่สามารถตรวจวิเคราะห์หาปริมาณอะลูมินัม (Al) ในรังนกด้วยเทคนิค ICP-MS และใช้ในการทดสอบหาปริมาณอะลูมินัมในรังนกตามกิจกรรม 4.6 รังนกเพื่อการส่งออก เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดในพิธีสารข้อกำหนดการตรวจสอบกักกันโรคและสุขอนามัยสำหรับรังนกดิบที่ไม่ผ่านการทำความสะอาดและรังนกเพื่อการบริโภคส่งออกสาธารณรัฐประชาชนจีนของไทย

3.2 ทำให้ผู้ใช้ผลการวิเคราะห์เกิดความมั่นใจ และเชื่อถือในผลวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้อง แม่นยำ และเป็นการเฝ้าระวังอะลูมินัมตกค้างในรังนก สามารถส่งออกรังนกไปสาธารณรัฐประชาชนจีน นอกจากนี้ยังเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศเพื่อไม่ให้ได้รับอะลูมินัมจากการบริโภครังนกที่มีการปนเปื้อน

3.3 ใช้เป็นข้อมูลในการยื่นขอรับรอง ISO/IEC 17025:2017 ในรายการทดสอบหาปริมาณอะลูมินัม (Al) ในรังนกด้วยเทคนิค ICP-MS

4. อุปกรณ์และสารเคมี

4.1 เครื่องมือ

4.1.1 เครื่อง ICP-MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น7700x

4.1.2 Microwave: ยี่ห้อ CEM รุ่น MARS 6

4.1.3 เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม: Sartorius รุ่น 5200 D

4.2 อุปกรณ์ที่ใช้

4.2.1 Adjustable pipette: ขนาด 10-100, 100-1000, 1000-5000 µL

4.2.2 ขวดวัดปริมาตร Class A : ขนาด 10, 25, 50, 100, 1000, 2000 mL

4.2.3 กรวยกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 35-45 mm.

4.2.4 ช้อนพลาสติกสีขาวสำหรับตักตัวอย่าง

4.2.5 ขวดพลาสติกชนิด Low Density Polyethylene (LDPE) ขนาด 60 หรือ 125 mLพร้อมฝาเกลียว

4.2.6 หลอด Polypropylene ขนาด 16 mm od

4.3 สารเคมี

4.3.1 Conc. Nitric acid (HNO3), 65% (w/v), Trace element Grade

4.3.2 Conc. Hydrochloric acid (HCl), 30-37 % (w/v), AR grade

4.3.3 Tuning Solution (Ce, Co, Li, Tl, Y), 1 µg/L

4.3.4 Tuning Solution (Ce, Co, Li, Tl, Y), 10 µg/L

4.3.5 Internal Standard Mix (Bi, Ge, In, Li, Lu, Rh, Sc, Tb) 100 mg/L

4.3.6 น้ำบริสุทธิ์สูง (High purity water)ที่มีความต้านทานไม่น้อยกว่า 18.2 M.cm-1

4.4 สารมาตรฐาน

4.4.1 Stock standard solution

สารละลายมาตรฐาน aluminium ความเข้มข้น 1002 µg/mL ใน 2% HNO3 ยี่ห้อ Agilent Technologies Lot no.0006658293

4.4.2 การเตรียม Aluminium - intermediate standard solution

4.4.2.1 ความเข้มข้น 100 µg/mL: ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Aluminium ความเข้มข้น 1000 µg/mL ปริมาตร 10 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 mL เติม Conc. nitric acid จำนวน 2 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงให้ครบ 100 mL เสร็จแล้วถ่ายใส่ขวดพลาสติกขนาด 125 mL

4.4.2.2 ความเข้มข้น 10 µg/mL: ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Aluminium ความเข้มข้น 1000 µg/mL ปริมาตร 1 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตร 100 mL เติม Conc. Nitric acid จำนวน 2 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงให้ครบ 100 mL เสร็จแล้วถ่ายใส่ขวดพลาสติกขนาด 125 mL

4.4.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานระดับใช้งาน working standard solution Al ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 30, 40, 50, 60, 100, 150, 200, 300, 500, 600, 625, 900, 1000, 1200, 1250, 1500, 1875, 2000, 2100 และ 2500 µg/L ดังนี้

4.4.3.1 ปิเปต aluminium - intermediate standard solution ความเข้มข้น 100 µg/mL (ข้อ 4.4.2) มา 0, 10, 150, 300, 625 และ 1875 µL ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 mL ต่างใบกัน ปรับปริมาตรด้วย 2% HNO_3 (v/v)

4.4.3.2 ปิเปต aluminium - intermediate standard solution ความเข้มข้น 100 µg/mL (ข้อ 4.4.2) มา 15, 20, 25, 30, 50, 100, 250, 300, 450, 500, 600, 750, 1000, 1050 และ 1250 µL ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 50 mL ต่างใบกัน ปรับปริมาตรด้วย 2% HNO_3 (v/v)

5. วิธีดำเนินการ

5.1 การเตรียมตัวอย่าง

5.1.1 บดตัวอย่างด้วยเครื่องบด และร่อนตัวอย่างผ่านตะแกรงขนาด 1.0 mm เก็บตัวอย่างในหลอด centrifuge tube ชนิด PP ปิดฝาให้สนิท จัดเก็บที่อุณหภูมิห้อง

5.1.2 ชั่งตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 5.1.1 น้ำหนัก 0.500 ± 0.010 กรัม สำหรับเป็น sample blank และ spike sample

5.2 การย่อยตัวอย่างด้วย Microwave

5.2.1 นำตัวอย่างในข้อ 5.1 วางใน Hood เติม Conc. HNO_3 acid ปริมาตร 6 mL

5.2.2 นำตัวอย่างที่เติมกรดแล้วมาย่อยด้วยเครื่อง Microwave ยี่ห้อ CEM รุ่น MARS 6

5.2.3 เมื่อย่อยเสร็จแล้วนำตัวอย่างออกมา และทำการถอดอุปกรณ์ต่าง ๆ ใน hood โดยปฏิบัติตามขั้นตอนวิธีใช้เครื่องย่อยตัวอย่างด้วยคลื่น Microwave ยี่ห้อ CEM รุ่น MARS 6

5.2.4 เปิด cover ชะล้างด้านบนของหลอดย่อย ด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงประมาณ 15 mL

5.2.5 เทสารภายในหลอดย่อยลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL ผ่านกรวยกรอง ใช้น้ำบริสุทธิ์สูงชะด้านในหลอดประมาณ 5 mL แล้ว rinse กรวยกรองให้ทั่ว

5.2.6 ปรับปริมาตรตัวอย่างให้ครบ 50 mL ปิดฝาเขย่าให้เข้ากัน

5.2.7 ถ่ายตัวอย่างใส่ขวดพลาสติกขนาด 60 หรือ 125 mL

5.3 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง ICP-MS

5.3.1 การตรวจสอบเครื่อง ICP-MS ให้มีความพร้อมในการใช้งาน

ตรวจสอบเครื่อง ICP-MS ยี่ห้อ Agilent รุ่น 7700x ก่อนการใช้งานด้วย tuning solution ความเข้มข้น 1 µg/L และกำหนด Mass (m/z) ของ Aluminum ที่จะทำการวิเคราะห์คือ ^{27}Al และใช้ ^{25}Sc เป็น internal standard

5.3.2 การหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (linear Range)

5.3.2.1 Linear Range เป็นช่วงความเข้มข้นของสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงหาความสัมพันธ์เชิงเส้นโดยการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Correlation Coefficient, R^2) ซึ่งห้องปฏิบัติการได้ทำการทดสอบ ดังนี้

1) เตรียมสารละลายมาตรฐาน Aluminum ที่ระดับความเข้มข้น 0, 150, 300, 625, 1250, 1875 และ 2500 µg/L

2) วัดสัญญาณของ Ratio (Count per Second, CPS of Element, / Count per Second, CPS of Internal Standard)

3) นำค่า Ratio ของสารละลายมาตรฐานที่วัดได้จากแต่ละระดับความเข้มข้นมาสร้างกราฟ โดยกำหนดให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้น (Conc.) และแกน y เป็นค่า Ratio

4) คำนวณหาค่า R หรือ r^2

5.3.3 การทดสอบยืนยันความเป็นเส้นตรง

5.3.3.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน Aluminium ที่ระดับความเข้มข้น 150, 300, 600, 900, 1200, 1500, 2100 และ 2500 µg/L ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

5.3.3.2 วัดสัญญาณของ Ratio (Count per Second, CPS of Element, / Count per Second, CPS of Internal Standard)

5.3.3.3 นำค่า Ratio ของสารละลายมาตรฐานที่วัดได้จากแต่ละระดับความเข้มข้นมาสร้างกราฟ โดยกำหนดให้แกน x เป็นค่าความเข้มข้น (Conc.) และแกน y เป็นค่า Ratio

5.3.3.4 คำนวณหาค่า R หรือ r^2

5.3.3.5 พล็อตค่า y-residual บนแกน y และค่า x บนแกน x เพื่อยืนยันความเป็นเส้นตรง

5.3.4 การหาค่า Instrument Detection Limit (IDL)

5.3.4.1 วัดสัญญาณ Ratio ของ 2 %HNO_3 (v/v) ซ้ำ 10 ครั้ง เทียบกับ กราฟมาตรฐาน จากสารละลายมาตรฐาน Aluminum ที่มีความเข้มข้นในช่วง 0-2500 µg/L

5.3.4.2 คำนวณค่า Mean, SD และ IDL

IDL (µg/L) = Mean Conc. of blank + $3SD_{Blank}$

เมื่อ SD_{blank} = ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ blank

5.4 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

5.4.1 การทดสอบ matrix effect

เป็นการทดสอบความใช้ได้ของวิธีว่า matrix มีผลกับการทดสอบหรือไม่ โดยการทำ matrix standard solution แบบ A และ แบบ B เทียบกับ Standard Solution ของ aluminium

5.4.1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐาน 7 ระดับความเข้มข้น

ปิเปต aluminium - intermediate standard solution ความเข้มข้น 100 µg/mL (ข้อ 4.4.2.1) ปริมาตร 0, 10 (ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 mL), 25, 50, 250, 500 และ 1000 µL ใส่ในขวดวัด

ปริมาตรขนาด 50 mL แล้วปรับปริมาตรด้วย 2 % HNO_3 ซึ่งจะมีความเข้มข้นในสารละลายเท่ากับ 0.0, 10, 50, 100, 500, 1000 และ 2000 μg/L ตามลำดับ

5.4.1.2 การเตรียม matrix standard solution แบบ A

1) ชั่ง sample blank จำนวน 7 ซ้ำ

2) เตรียม matrix standard 7 ระดับความเข้มข้น โดยการปิเปต aluminium - intermediate standard solution ความเข้มข้น 10 μg/ml (ข้อ 4.4.2.1) ปริมาตร 0, 50 μl และปิเปต aluminium - intermediate standard solution ความเข้มข้น 100 μg/ml (ข้อ 4.4.2.2) ปริมาตร 25, 50, 250, 500 และ 1000 μl ลงใน sample blank ก่อนการย่อยและการเตรียมตัวอย่างตามวิธีทดสอบข้างต้น โดยปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 50 ml ซึ่งจะมีความเข้มข้นในสารละลาย matrix standard เท่ากับ 0, 10, 50, 100, 500, 1000 และ 2000 μg/l ตามลำดับ

5.4.1.3 การเตรียม Matrix Standard Solution แบบ B

1) เตรียม Sample Blank จำนวน 7 ซ้ำ ทำการย่อยและเตรียมตัวอย่างตามวิธีทดสอบข้างต้น เมื่อปรับปริมาตรเป็น 50 mL แล้วนำสารละลาย Sample blank มาผสมรวมกัน

2) ปิเปต Aluminium - Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 10 μg/mL (ข้อ 4.4.2.1) ปริมาตร 50 μL และปิเปต Aluminium - Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 100 μg/mL (ข้อ 4.4.2.2) ปริมาตร 25, 50, 250, 500 และ 1000 μL mL แล้วปรับปริมาตร ด้วยสารละลาย Sample Blank ที่ผสมเข้ากันดีแล้ว แต่ละขวดให้ครบปริมาตร 50 mL ซึ่งจะมีความเข้มข้นในสารละลาย Matrix Standard เท่ากับ 10, 50, 100, 500, 1000 และ 2000 μg/L และจะใช้สารละลาย Sample Blank เป็นสารละลาย Matrix Standard ที่ความเข้มข้น 0 μg/L

5.4.1.4 การทดสอบสารละลายด้วยเครื่อง ICP-MS

1) วัดสัญญาณ Ratio ระหว่างสารละลายมาตรฐาน Aluminum แต่ละระดับความเข้มข้นที่เตรียมได้ในข้อ 5.4.1.1 กับ Internal standard solution

2) วัดสัญญาณ Ratio ระหว่างสารละลาย Matrix Standard ที่เตรียมได้ใน ข้อ 5.4.1.2 และ 5.4.1.3 กับ Internal standard solution

5.4.1.5 การประเมินผล Matrix effect

1) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ระหว่าง สารละลาย Standard กับ Matrix Standard แบบ A และ แบบ B โดยใช้สถิติ Paired t-test

2) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ระหว่าง Matrix Standard แบบ A และแบบ B โดยใช้สถิติ Paired t-test

$$t = |\bar{d}| / (S_d / \sqrt{n})$$ เมื่อ n = จำนวนคู่ตัวอย่าง

เมื่อ $\bar{d}$ คือ ค่าเฉลี่ยของความแตกต่างระหว่างผลความเข้มข้นที่ได้ จาก 2 แบบ

S_d คือ Standard deviation ของความแตกต่าง

3) พล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า Ratio ของสารละลายมาตรฐาน (บนแกน x) กับค่า Ratio ของสารละลาย Matrix Standard (บนแกน y)

4) ทดสอบความเป็นเส้นตรง โดยพิจารณาจากค่า R^2

5.4.2 Limit of Detection (LOD) & Limit of Quantitation (LOQ)

5.4.2.1 ชั่ง Sample Blank จำนวน 10 ซ้ำ แล้วทำตามขั้นตอนการย่อยและทดสอบตามข้อ 5.2-5.3

5.4.2.2 หาค่าความเข้มข้นของ Aluminum โดยอ่านค่าเทียบกราฟมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้น 0 - 2000 μg/L

5.4.2.3 คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของผลทดสอบ

5.4.2.4 คำนวณค่า LOD และค่า LOQ ตาม EURACHEM (2025)

ให้ใช้สูตรดังนี้

$$S_0' = S_0\sqrt{\frac{1}{n}+\frac{1}{n_b}}$$

เมื่อ S_0 = Standard deviation จากการทดสอบซ้ำ

n = จำนวนทดสอบซ้ำในงาน routine

n_b = จำนวน reagent blank ในงาน routine

จากนั้นนำค่า S'_0 มาใช้คำนวณค่า LOD และค่า LOQ โดยที่

$LOD = 3S'_0$ $LOQ = 10S'_0$

เมื่อได้ผลการทดสอบค่า LOD และ LOQ จากการคำนวณแล้ว ทำการทดสอบยืนยันเฉพาะค่า LOQ เท่านั้น เนื่องจากในการรายงานผลทดสอบ Aluminum ในตัวอย่างรังนกจะแสดงผลทดสอบเป็นตัวเลข เมื่อผลการทดสอบอ่านค่าได้ตั้งแต่ระดับ LOQ ขึ้นไป

5.4.2.5 การทดสอบยืนยันค่า LOQ

การทดสอบยืนยันค่า LOQ โดยตรวจสอบความแม่น (Trueness) ด้วยการวัดความลำเอียง (bias) จาก %recovery และความเที่ยง (precision) จาก %RSD ของตัวอย่างที่เติมสาร (spiked sample) เท่ากับหรือใกล้เคียงค่า LOQ โดยผลทดสอบนั้นต้องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

1) ชั่ง Sample Blank จำนวน 13 ซ้ำ

2) นำ Sample Blank มาเติมสารละลายมาตรฐาน ข้อ 4.4.2.1 จำนวน 10 ซ้ำ ดังตารางที่ 1 แล้วทำตามขั้นตอนการย่อยและทดสอบตามข้อ 5.2-5.3

ตารางที่ 1 การเตรียม Spike Sample สำหรับการทดสอบยืนยันค่า LOQ ในตัวอย่างรังนก

Analyte	Standard Solution (μg/mL)	ปริมาตรที่เติม (μL)	ปริมาณความเข้มข้นรวมทั้งหมดที่มีในตัวอย่าง (mg/kg)
Aluminium	100	12.5	4.000

3) ทดสอบ sample blank (SB) และ spike sample (SPK) 10 ซ้ำ หาค่าความเข้มข้นโดยอ่านค่าเทียบกราฟมาตรฐานที่ช่วงความเข้มข้น 0 - 20 μg/L (As, Cd, Pb) และ 0 - 1000 μg/L (Al)

4) คำนวณหาค่า %recovery เฉลี่ยตาม AOAC(2023). Appendix F และ %RSD

โดยที่

%Recovery = [CF/(CA+CU)] x 100 (AOAC, 2023)

โดย CF (conc. found) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่มีการเติม

CU (conc. unspiked) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่ไม่ได้เติม

CA (conc. added) คือ ความเข้มข้นของสารที่เติมลงไป

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

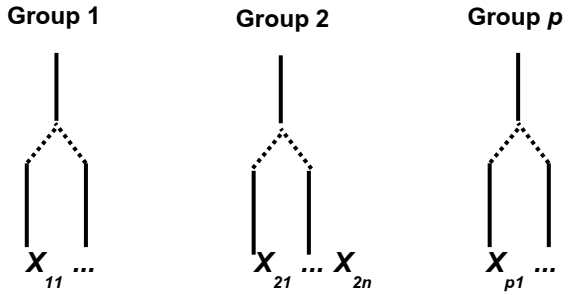
5) ประเมินความลำเอียง (Bias) ค่า % recovery เฉลี่ยต้องอยู่ในช่วงเกณฑ์กำหนดของ CODEX (2025) คือ 60-115 % และ 80-110 %

6) ประเมินความเที่ยง (Precision) แบบ Repeatability แสดงค่าในรูปของ RSD_r ต้องไม่เกินเกณฑ์จาก Predicted RSD_r ที่คำนวณได้จาก Horwitz equation และ ถ้า RSD จากการทดสอบมากกว่า Predicted RSD_r ให้หาค่า $HORRAT_r$ ค่ายอมรับ $HORRAT_r < 2$ (EU 2024/1045)

5.4.3 การทดสอบความแม่น (accuracy) ประกอบด้วยความถูกต้อง (trueness) และความเที่ยง (precision)

วิเคราะห์ตัวอย่าง SPK แล้วประเมินค่าความถูกต้องจาก %MR และประเมินความเที่ยงแบบทวนซ้ำได้ (repeatability) และแบบทำซ้ำได้ (intermediate precision) ด้วยการศึกษาแบบ simultaneously in single study มีขั้นตอน ดังนี้

5.4.3.1 วิเคราะห์ SPK อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ครอบคลุมค่า ML (4, 100, 200 mg/kg) แต่ละระดับความเข้มข้นวิเคราะห์ 8 กลุ่ม (p) โดยนักวิเคราะห์ 4 คน วิเคราะห์คนละ 2 ซ้ำ (n) และวิเคราะห์ 2 วัน ตาม nested design ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 Nested design (ที่มา: Eurachem Guide, 2025), ในที่นี้ p = 8, n=2, N=16

5.4.3.2 คำนวณค่า mean square between groups (MS_b) และ mean square within group (MS_w) จาก One-way ANOVA โดยใช้ data analysis จาก MS Excel ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ดังตารางที่ 2

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

Source of variation	Sum of squares (SS)	v	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)

$$S_r=\sqrt{MS_w} \qquad \text{(สมการที่ 1)}$$

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

$$S_{between} = \sqrt{\frac{MS_b - MS_w}{n}} \qquad \text{(สมการที่ 2)}$$

Intermediate precision (S_I)

$$S_I=\sqrt{S_r^2+S_{between}^2} \qquad \text{(สมการที่ 3)}$$

5.4.3.3 เปรียบเทียบค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (ต่างนักวิเคราะห์ ต่างวัน) กับค่าความแปรปรวนภายในกลุ่ม จากค่า F และ F_{crit}

5.4.3.4 คำนวณค่า repeatability standard deviation (S_r) และ intermediate precision standard deviation (S_I) ตามสมการที่ 1-3 จากนั้นคำนวณหา $\%RSD_r$ และ $\%RSD_i$ เพื่อพิจารณาความเที่ยงจากการคำนวณหาค่า HORRAT

$$\%RSD_r = \frac{S_r \times 100}{\text{Mean of CF}}$$

$$\%RSD_i = \frac{S_I \times 100}{\text{Mean of CF}}$$

$$\%PRSD_i = 0.66 \times 2C^{-0.1505}$$

เมื่อ C คือ concentration ratio

$$HORRAT_i = \frac{RSD_i}{PRSD_i}$$

5.4.3.5 คำนวณค่า %MR ประเมินตามเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025)

5.4.4 การทดสอบความเป็นเส้นตรงจาก Working range

เป็นการทดสอบความสามารถของวิธี ที่จะให้ผลการวิเคราะห์ซึ่ง Response แปรตามปริมาณสารที่สนใจในตัวอย่าง ภายในช่วงที่กำหนด ห้องปฏิบัติการจึงได้กำหนดการทดสอบ Range of Linearity ของวิธีทดสอบจากสารละลาย Spiked Sample ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน ดังนี้

5.4.4.1 เตรียม Spiked sample 7 ระดับความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ โดยปิเปต Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 100 µg/mL (ข้อ 4.4.2.1) ตามตารางที่ 3 ลงใน Sample blank แล้วทำตามขั้นตอนการย่อยและการเตรียมตัวอย่างตามวิธีทดสอบข้างต้น ปรับปริมาตรสุดท้ายก่อนวิเคราะห์เป็น 50 mL

ตารางที่ 3 การเตรียม Spiked sample (SPK) 7 ระดับความเข้มข้น

Level of SPK	ปริมาณความเข้มข้นในตัวอย่าง (mg/kg)	ความเข้มข้นสุดท้ายในสารละลายตัวอย่าง (µg/L)	ปริมาตรของสารละลายที่เติม (µL) Intermediate Standard Solution ความเข้มข้น 100 µg/mL
1	4.000	40	20
2	30.000	300	150
3	60.000	600	300
4	90.000	900	450
5	120.000	1200	600
6	150.000	1500	750
7	200.000	2000	1000

5.4.4.2 ทดสอบสารละลายตัวอย่างด้วยเครื่อง ICP-MS โดยอ่านค่าความเข้มข้นเทียบกับกราฟมาตรฐาน 0 – 2500 µg/L

5.4.4.3 พล็อตกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นของ Spiked sample ที่วัดได้ (Measured conc.) เป็นแกน y กับค่าความเข้มข้นในตัวอย่างในหน่วยต่อน้ำหนัก (Conc. in sample) เป็นแกน x

5.4.4.4 หาค่า R^2 ระหว่าง Measured conc. กับ Conc. in sample โดยกำหนดค่า $R^2 \geq 0.990$

5.4.4.5 ทำ residual plot ด้วยการ plot ค่า y-residual บนแกน y และค่า x บนแกน x เพื่อยืนยันความเป็นเส้นตรง

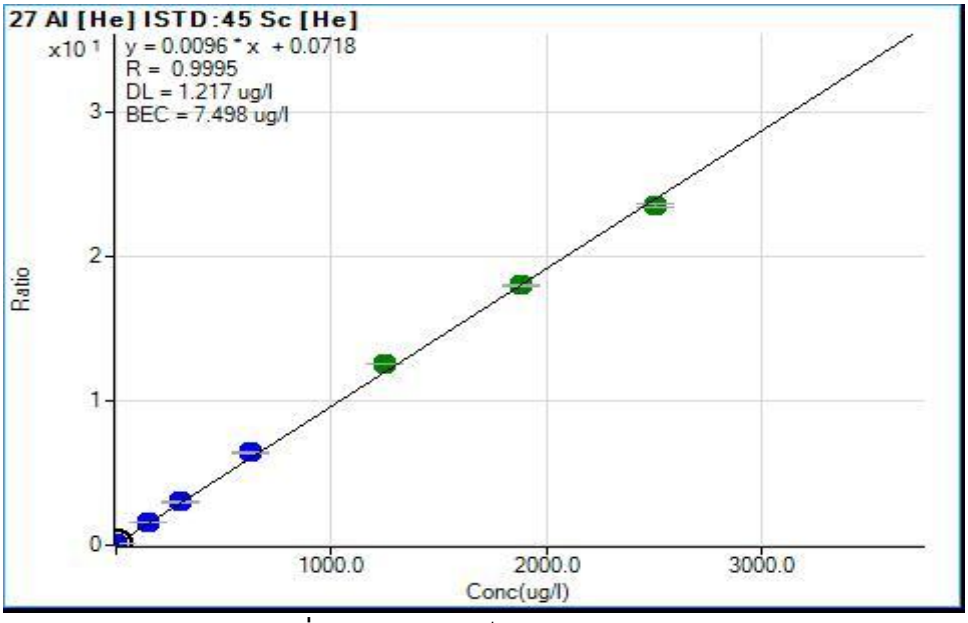
6. ผลการทดสอบ

6.1 การตรวจสอบประสิทธิภาพของเครื่อง ICP-MS

6.1.1 ผลการหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (Linear Range of Calibration Curve)

ตารางที่ 4 ผลทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linear range of calibration curve)

No.	Concentration μg/L (ppb)	Ratio ครั้งที่			Mean
		1	2	3	
1	0.0	0.0695	0.0763	0.0696	0.0718
2	150	1.5842	1.5420	1.5657	1.5640
3	300	3.0058	2.9907	2.9902	2.9956
4	625	6.3000	6.4701	6.5369	6.4357
5	1250	12.5095	12.6735	12.5513	12.5781
6	1875	17.9004	18.1272	18.0802	18.0359
7	2500	23.8913	23.3447	23.6396	23.6252



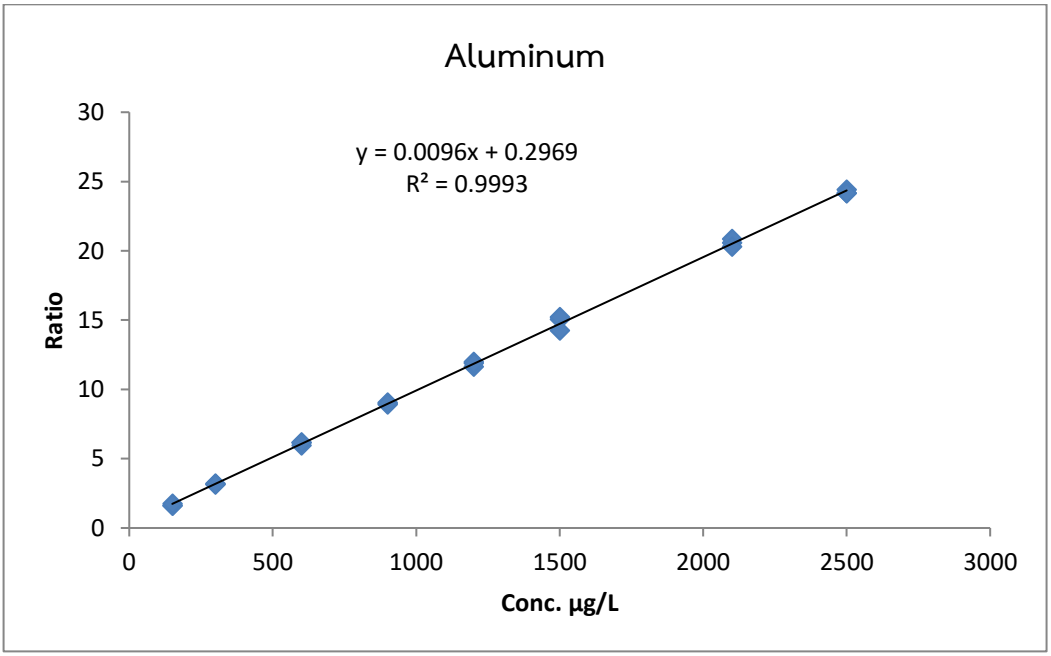
รูปที่ 2 กราฟความเป็นเส้นตรงของอะลูมินัม

จากรูปที่ 2 พบว่าที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Aluminum ระหว่างความเข้มข้น 0 - 2500 μg/L ให้กราฟเป็นเส้นตรง มีค่า R เท่ากับ 0.9995 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($R \geq 0.995$)

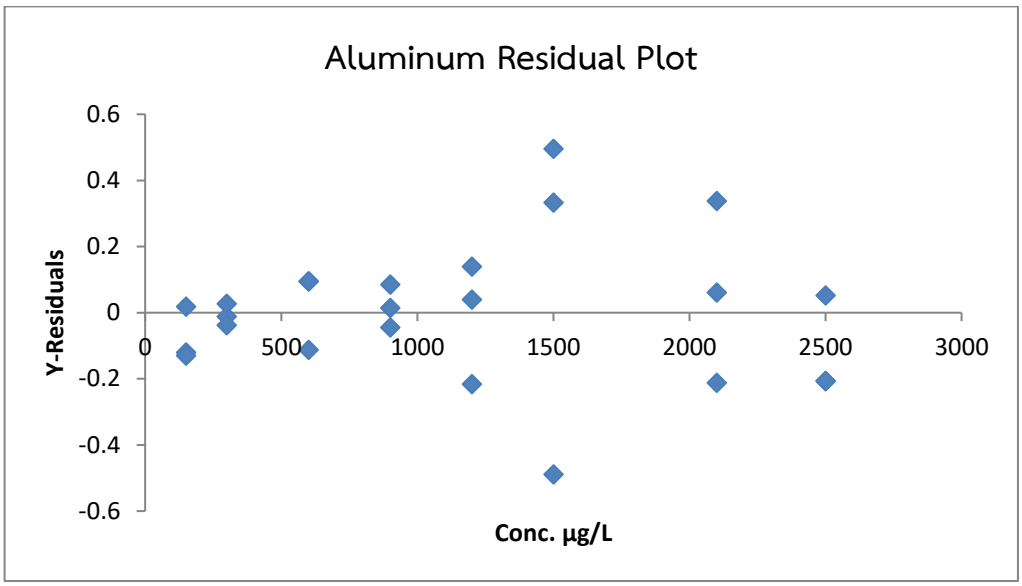
6.1.2 ผลการทดสอบยืนยันความเป็นเส้นตรง

ตารางที่ 5 ผลทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานด้วยการทำ residual plot

No	Conc. (µg/L)	Ratio	mean	R^2
1	150	1.6197	1.6628	
	150	1.6103		
	150	1.7584		
2	300	3.1718	3.1763	0.9954
	300	3.2111		
	300	3.1459		
3	600	5.9583	6.0967	0.9985
	600	6.1660		
	600	6.1657		
4	900	8.9138	8.9762	0.9994
	900	9.0427		
	900	8.9722		
5	1200	11.6296	11.8330	0.9994
	1200	11.9846		
	1200	11.8849		
6	1500	15.0653	14.8453	0.9982
	1500	15.2276		
	1500	14.2429		
7	2100	20.5670	20.5684	0.9989
	2100	20.8442		
	2100	20.294		
8	2500	24.4079	24.2352	0.9993
	2500	24.1493		
	2500	24.1483		



รูปที่ 3 กราฟยืนยันความเป็นเส้นตรงของอะลูมินัม



รูปที่ 4 การทำ residuals plot เพื่อยืนยันช่วงความเป็นเส้นตรง

จากภาพที่ 3 และ 4 ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานระหว่างความเข้มข้น 0 - 2500 µg/L มีค่าการกระจายของ y-residual รอบๆ ค่าศูนย์ แสดงว่ากราฟมีความเป็นเส้นตรง

6.1.3 ผลการหาค่า Instrument Detection Limit (IDL)

ตารางที่ 6 ผลการหาค่า Instrument Detection Limit (IDL)

ครั้งที่	Conc.(ppb)
1	0.775
2	1.310
3	1.106
4	1.474
5	1.092
6	1.263
7	1.321
8	1.279
9	0.962
10	0.859
Mean	1.144
SD	0.225
IDL from Al	1.819
IDL (µg/L) =	**1.144+3(0.225)**
	1.819

จากผลทดสอบในตารางที่ 6 แสดงว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของปรอทที่เครื่อง ICP-MS สามารถวัด (Instrument Detection limit, IDL) มีค่าเท่ากับ 1.819 µg/L

6.2 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

6.2.1 การทดสอบหาค่า LOD และ LOQ

จากการวิเคราะห์ SB 10 ซ้ำ สามารถคำนวณค่า LOD และประมาณค่า LOQ เปรียบเทียบกับ ได้ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการทดสอบหาค่า LOD และประมาณค่า LOQ

Sample ID	Conc.(mg/kg)
Reagent Blank	0.000
SB 1	2.048
SB 2	1.194
SB 3	1.368
SB 4	1.271
SB 5	1.239
SB 6	1.493
SB 7	1.715
SB 8	1.161
SB 9	1.618
SB 10	1.537
mean	1.464
SD	0.278037
LOD = mean+3SD =	2.299
LOQ = mean+10SD =	4.245
S_0' =	0.393203
LOD = 3 S_0' =	1.180
LOQ = 10 S_0' =	3.932

จากตารางที่ 7 พบค่า LOD ที่ได้จากการคำนวณคือ 1.180 mg/kg จึงกำหนดให้ใช้ค่าความเข้มข้นของ LOD โดยปัดตัวเลขเป็น 2 mg/kg ซึ่งมีค่าน้อยกว่า LOD limit เป็นไปตามเกณฑ์ของ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024) ส่วนค่า LOQ ได้จากการคำนวณคือ 3.932 mg/kg จึงกำหนดความเข้มข้นที่ใช้สำหรับยืนยัน LOQ เป็น 4 mg/kg เมื่อวิเคราะห์ SPK ที่ 4 mg/kg เพื่อยืนยันค่า LOQ แสดงผลดังตารางที่ 8

6.2.2 ผลการยืนยันค่า LOQ

ตารางที่ 8 ผลการยืนยันค่า LOQ

n	Measured Concentration Al		
	Sample Blank	blank+ 2.5 mg/kg.	%Recovery
1	1.059	3.705	92.6
2	1.177	3.753	93.8
3	0.955	3.758	94.0
4	-	3.715	92.9
5	-	3.496	87.4
6	-	3.520	88.0
7	-	3.389	84.7
8	-	4.052	101.3
9	-	3.702	92.6
10	-	3.378	84.5
mean	1.064	3.647	91.2
SD	0.111082	0.2045	5.11
%RSD		5.61	5.61
%Mean recovery		91.17	80-110
Predicated Horwitz RSD_r		8.57	
HORRAT(Horwitz's ratio)		0.65	

จากตารางที่ 8 ผลการยืนยันค่า LOQ ในการวิเคราะห์หาปริมาณ aluminum ในตัวอย่างรังนก และพบว่ามีค่า %MR เฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ 80–110 % ค่า $\%RSD_r$ น้อยกว่า $PRSD_r$ และค่า $HORRAT_r < 2$ สรุปได้ว่าค่า LOQ รังนก ที่ 4 mg/kg มีความถูกต้องตามเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025) และความเที่ยงตามเกณฑ์ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024)

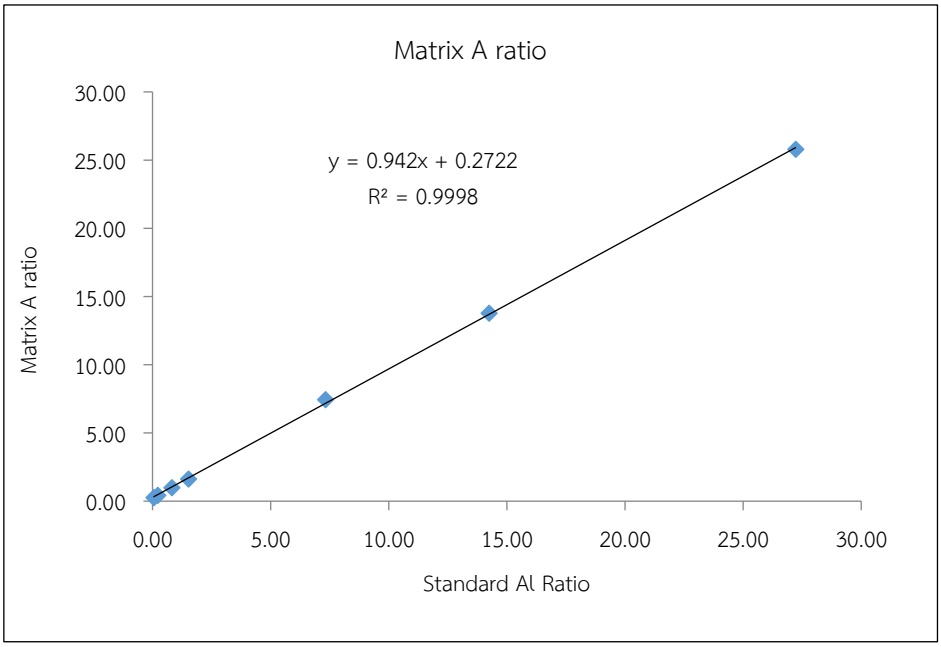
6.2.3 การทดสอบ Matrix effect

เป็นการทดสอบความใช้ได้ของวิธีว่า Matrix มีผลกับการทดสอบหรือไม่ โดยการทำ Matrix Standard Solution A (Spiked Std ก่อนย่อยตัวอย่าง) Matrix Standard B (Spiked Std หลังย่อยตัวอย่าง) เทียบกับ Standard Solution ให้ผลทดสอบดัง ตารางที่ 9

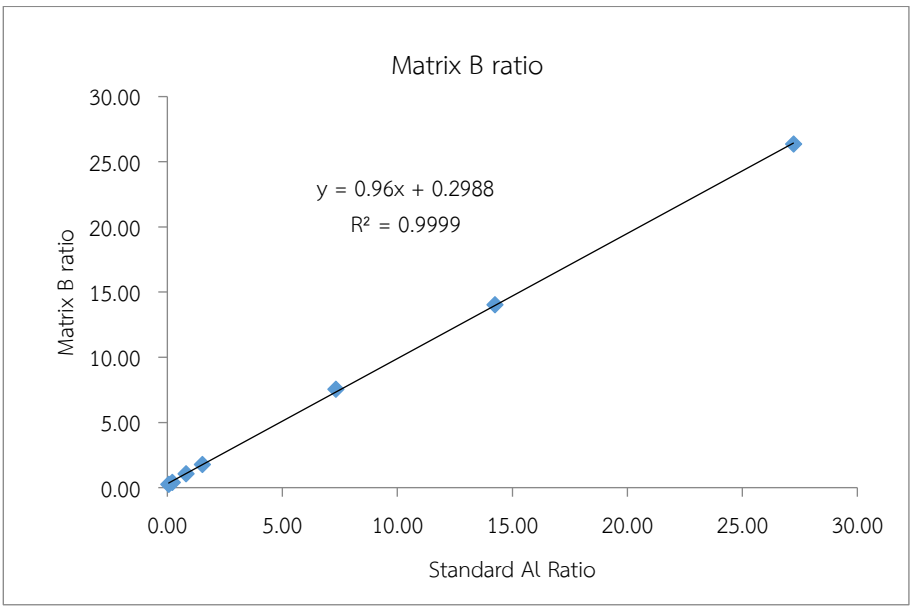
ตารางที่ 9 ความแตกต่างระหว่าง Std ratio และ Matrix A ratio และ Matrix B ratio

n	Std-ratio	Matrix A ratio	Matrix B ratio	Difference (d) Matrix A-Std	Matrix B-Std	Matrix A-Matrix B
1	0.0571	0.2543	0.2616	0.1972	0.2045	0.0073
2	0.2133	0.4202	0.4100	0.2069	0.1967	-0.0102
3	0.8114	0.9802	1.0501	0.1688	0.2387	0.0699
4	1.5168	1.6313	1.7857	0.1145	0.2689	0.1544
5	7.3257	7.4515	7.5493	0.1258	0.2236	0.0978
6	14.2456	13.7770	14.0235	-0.4686	-0.2221	0.2465
7	27.2192	25.7984	26.3457	-1.4208	-0.8735	0.5473
	$\bar{d} \pm S_d =$			- 0.153743± 0.6072	0.005257± 0.4227	0.1590± 0.1923
	t			0.67	0.03	2.19
	$t_{c(0.05,6)}$			2.45	2.45	2.45

จากตารางที่ 9 ผลการทดสอบ paired t-test พบว่า ค่า $t < t_c$ แสดงว่าผลวิเคราะห์ของสารละลายมาตรฐาน Aluminium ทั้ง 3 แบบ ไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ค่า Ratio ของสารละลาย Matrix Aluminium Standard แบบ A กับสารละลาย Aluminium Standard



รูปที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ค่า Ratio ของสารละลาย Matrix Aluminium Standard แบบ B กับสารละลายAluminium Standard

จากผลการทดสอบ Matrix Standard Solution ทั้งแบบ A และแบบ B เทียบกับสารละลายมาตรฐาน aluminum โดยใช้สถิติ Paired t-test พบว่า ค่า t ที่คำนวณได้นั้นมีค่าน้อยกว่า t_C สรุปได้ว่า matrix ไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ aluminum ในตัวอย่างรังนกห้องปฏิบัติการสามารถใช้ได้ทั้ง standard calibration curve และ matrix match calibration curve สำหรับวิธีทดสอบปริมาณ aluminum ในตัวอย่างรังนก

6.2.2 ความถูกต้อง (trueness) และความเที่ยง (precision)

การประเมินผลความถูกต้อง ความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability) และการทำซ้ำได้ (intermediate) ด้วยการศึกษาแบบ simultaneously in single study โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง SPK อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ครอบคลุมค่า ML ประเมินค่า bias จาก %MR ประเมินความเที่ยงด้วยการคำนวณค่า S_r และ S_I จากสมการที่ 1-3 และคำนวณค่า F จาก One-way ANOVA แสดงผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการทดสอบความถูกต้อง และความเที่ยงแบบ repeatability และ intermediate

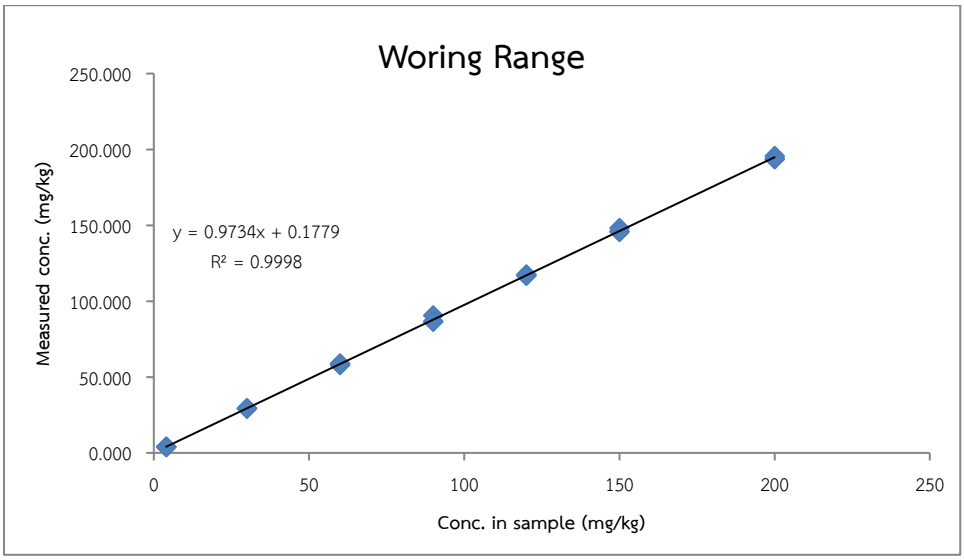
SPK (mg/kg)	%MR	S_r (mg/kg)	S_I (mg/kg)	RSD_r (%)	RSD_i (%)	$PRSD_i$ (%)	$HORRAT_r$	$HORRAT_i$	F	F_{crit}
4	98.17	0.051	0.067	1.295	1.707	8.594	0.151	0.199	2.476	3.5
100	102.05	0.831	0.974	0.814	0.955	5.263	0.155	0.181	1.753	3.5
200	96.85	1.944	2.101	1.003	1.085	4.779	0.210	0.227	1.338	3.5

จากตารางที่ 10 แสดงผลการประเมินความถูกต้องที่ระดับความเข้มข้น 4 mg/kg พิจารณาจาก % MR คือ 98.17 อยู่ในเกณฑ์ 80-110% และที่ระดับความเข้มข้น 100-200 mg/kg ค่า %MR อยู่ในช่วง 96.85-102.05 อยู่ในเกณฑ์ 90-107% ของ Codex (FAO and WHO, 2025) และผลการประเมินความเที่ยงแบบการทวนซ้ำและการทำซ้ำได้ พบว่าค่า HORRAT ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นครอบคลุมค่า ML ของตัวอย่าง

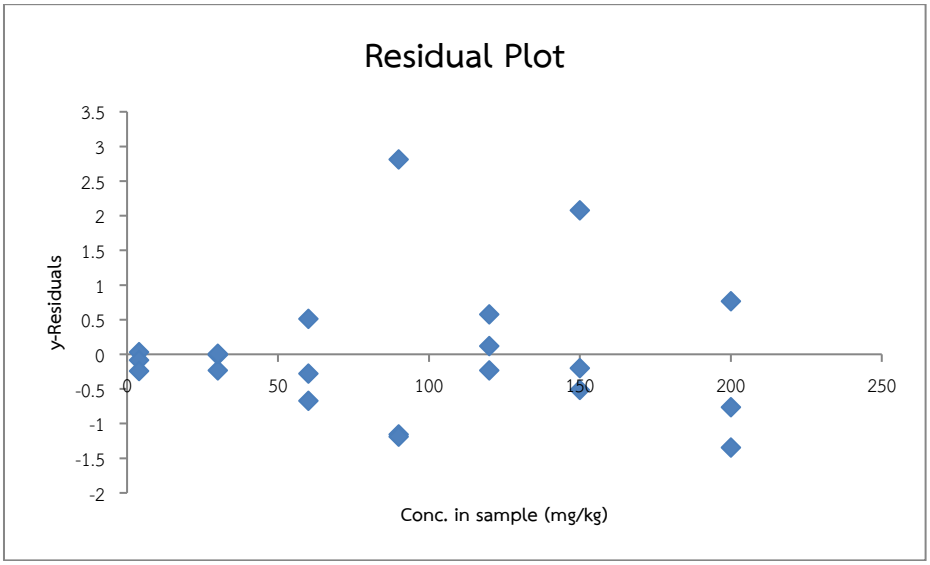
เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (ต่างนักวิเคราะห์ ต่างวัน) และความแปรปรวนภายในกลุ่ม พบว่าค่า F น้อยกว่า F_{crit} ในทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้ค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มสูงกว่าความแปรปรวนภายในกลุ่มอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สอดคล้องตามแนวทางการพิจารณาของ Eurachem Guide (Cantwell, 2025)

6.2.3 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงจาก working range

ผลการวิเคราะห์ SPK ของตัวอย่างรังนกที่ระดับความเข้มข้น 4, 30, 60, 90, 120, 150 และ 200 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (แกน y) กับค่าความเข้มข้นในตัวอย่าง (แกน x) เมื่อคำนวณสมการเส้นตรงและตรวจสอบค่า r^2 พบว่ากราฟมีความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้น 4-200 mg/kg โดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9998 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ($r^2 \geq 0.990$) แสดงดังกราฟรูปที่ 7 มีค่าการกระจายของ y-residual รอบๆ ค่าศูนย์ ดังรูปที่ 8 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้ มีความเป็นเส้นตรงของการวัด aluminum ในตัวอย่างรังอยู่ในช่วง 4-200 mg/kg



รูปที่ 7 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณอะลูมินัมในตัวอย่างรังนก



รูปที่ 8 การทำ residual plot ยืนยันความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัดปริมาณอะลูมินัมในตัวอย่างรังนก

7. สรุปผลการทดลอง

ผลการตรวจสอบความใช้ได้วิธีวิเคราะห์อะลูมินัมในตัวอย่างรังนก ด้วยเทคนิค ICP-MS พบว่า ช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐาน คือ 0-2500 µg/L ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ คือ 0.9995 ความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่เครื่องมือสามารถวัดได้ คือ 1.819 µg/L ความเป็นเส้นตรงของช่วงการทดสอบ คือ 4-200 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการตรวจพบ คือ 2 mg/kg ค่าขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ คือ 4 mg/kg ผลการทดสอบถูกต้องจากการวัดความลำเอียง (Bias) ที่พิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การกลับคืน (%Recovery) และความเที่ยง (Precision) แบบ simultaneously in single study ด้วยการหาค่า %RSD ที่ได้จากการทดสอบ spiked sample ที่ระดับความเข้มข้น 4, 100 และ 200 mg/kg %recovery อยู่ในช่วง 96.85-102.05 ค่า %RSDr และ %RSDi มีค่าน้อยกว่า PRSD และค่า HORRAT ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าน้อยกว่า 2 ทุกระดับความเข้มข้นทุกระดับความเข้มข้น แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่น และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมินัมในรังนกครอบคลุมค่า ML ที่ศึกษา

8. ข้อเสนอแนะ

นอกจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ aluminum ในตัวอย่างรังนก ด้วยเทคนิค ICP-MS แล้ว ควรประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) ของวิธีวิเคราะห์นี้ในแต่ละชนิดตัวอย่าง เพื่อบอกลักษณะการกระจายของค่าของสิ่งที่วัด โดยต้องระบุแหล่งความไม่แน่นอนจากปัจจัยต่าง ๆ ในการวัด เช่น การชั่งน้ำหนักตัวอย่างการเตรียมสารละลายมาตรฐาน เป็นต้น และพิจารณาแหล่งของความไม่แน่นอนที่มีผลกระทบต่อค่าของการวัด จึงควรหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด เพื่อให้สอดคล้องกับมาตรฐาน ISO/IEC 17025

9. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่สนับสนุนการศึกษาในครั้งนี้ คุณสราวุธ ชูกระชั้น หัวหน้างานเคมีอาหารสารตกค้างและสารปนเปื้อน ที่ให้คำปรึกษาในการดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี รวมทั้งเจ้าหน้าที่งานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ที่ช่วยในการศึกษาในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

10. เอกสารอ้างอิง

กมลศักดิ์ เลิศไพบูลย์ และ ภวิกา มหาสวัสดิ์. (2564). *โครงการวิจัย การบริโภครังนกแบบเป็นวิทยาศาสตร์*. สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม.

นุชนารถ ทิพย์มงคลศิลป์ และ วลัยกร ศรีเจริญ. (2564). *คู่มือการตรวจสอบและออกหนังสือรับรองสุขอนามัยเพื่อการส่งออกรังนกจากประเทศไทยไปสาธารณรัฐประชาชนจีน*. สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าปศุสัตว์.

บังอร บุญชู. (2547). *การตรวจพิสูจน์รังนกแท้*. โครงการวิทยาศาสตร์ชีวภาพ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

AOAC International. (2023). *Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirement. AOAC Official Methods of Analysis. 22nd ed*. Oxford University Press. New York.

Cantwell, H. (2025). *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 3rd ed. https://www.eurachem.org.

European Commission. (2024). Commission Implementing Regulation (EU) 2024/1045 of 9 April 2024 amending Regulation (EC) No 333/2007 as regards the methods of sampling and analysis for the control of levels of nickel in foodstuffs and amending certain references. *Official Journal of the European Union*, *L series*, 1-6.

Fan, Q., Liu, X., Wang, Y., Xu, D., & Guo, B. (2022). Recent advances in edible bird's nests and edible bird's nest hydrolysates. *Food Science and Technology*, *42*, e67422.

FAO and WHO. (2025). *Codex Alimentarius Commission Procedural Manual – Thirty-first edition.* Rome. https://doi.org/10.4060/cd7978en.

Zulkefle, N. N., Ibrahim, M. A., Azuan, N. F., Ch'ng, S. E., Ismail, N., Abu Bakar, M. Z., & Chan, K. W. (2024). *A review on the edible bird's nest quality and manufacturing standards of the three largest exporting countries in the world. Journal of Food Quality, 2024(1),* 5608357.