การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

นายรัชชานนท์ รักชีพ นางสาวสุนีย์ คณาพิพัฒน์
นายพงษ์พิพัฒน์ สุวพัฒน์ นางสาวกนกวรรณ มงคล
นางสาวประภาพร วรรณาเขียว นางสาวสุกัญญา พวงเสียง

บทคัดย่อ

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) โดยขั้นตอนการเตรียมสารละลายตัวอย่างได้ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน AOAC 935.13 (2023) และนำสารละลายตัวอย่างมาตรวจวัดหาปริมาณโพแทสเซียมด้วยเครื่อง ICP-OES ผลการศึกษาพบว่าสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมที่ระดับความเข้มข้น 1 – 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) เท่ากับ 0.9999 ทำการทดสอบ spiked sample ในตัวอย่างอาหารไก่ อาหารสุกร และอาหารโค ที่ระดับความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำการประเมินความแม่น พบว่ามีเปอร์เซ็นค่าการกลับคืนได้เฉลี่ยอยู่ในช่วง 97.88 – 102.80 ประเมินความเที่ยงภายใต้สภาวะคงที่ (repeatability) พบว่า $\%RSD_r$ มีค่าน้อยกว่า $\%PRSD_r$ และประเมินความเที่ยงจากการทดสอบซ้ำต่างวัน (within-laboratory reproducibility) พบว่า $\%RSD_R$ มีค่าน้อยกว่า $\%PRSD_R$

คำสำคัญ: โพแทสเซียม การทดสอบความใช้ได้ของวิธี อาหารสัตว์ ICP-OES

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Method Validation of Potassium Analytical in Feed by ICP-OES

Ratchanon Rakcheep Sunee Kanapipat
Phongpipat Suwapat Kanokwan Mongkol
Prapaphon Wunnakhieo Sukanya Puangsiang

Abstract

Method validation of potassium analytical in feed by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES). Sample preparation was modified from AOAC 935.13 (2023), the aliquots of sample solution were analyzed for potassium with ICP-OES. The study showed that Coefficient of Correlation (r) of potassium standard solution at level 1 – 20 mg/L was 0.9999 The determination of potassium using spiked sample in chicken feed, swine feed and bovine feed at concentration level 1,000, 5,000, 10,000 and 20,000 mg/kg represented that accuracy by percent mean recovery was 97.88 – 102.80 Precision by repeatability showed $\%RSD_r$ less than $\%PRSD_r$ and precision by within-laboratory reproducibility showed $\%RSD_R$ less than $\%PRSD_R$

Keyword: Potassium, method validation, feed, ICP-OES

Feed Quality Control Laboratory Division, Bureau of Quality Control of Livestock Products. Department of Livestock Development

บทนำ

โพแทสเซียม (Potassium) เลขเชิงอะตอม 19 น้ำหนักเชิงอะตอม 39.0983 ± 0.0001 สัญลักษณ์ธาตุคือ K (Prohaska *et al*., 2022) โพแทสเซียมถือเป็นแร่ธาตุหลัก (macromineral) สามารถละลายน้ำได้ดี พบมากภายในเซลล์ซึ่งสูงกว่าในพลาสมา 25-30 เท่า โดยทำหน้าที่เป็นไอออนบวกหลักภายในเซลล์ และมีบทบาทสำคัญยิ่งต่อการรักษาศักย์เยื่อหุ้มเซลล์ (membrane potential) ผ่านกลไก Na^+/K^+-ATPase สมดุลออสโมซิสและกรด–ด่างในร่างกาย การนำสัญญาณประสาท การหดตัวของกล้ามเนื้อลายและกล้ามเนื้อหัวใจ ตลอดจนเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมพลังงานหลายชนิด ภาวะขาดโพแทสเซียม (hypokalaemia) แสดงอาการทางคลินิกที่สำคัญ ได้แก่ ภาวะเบื่ออาหาร การเจริญเติบโตชะงัก น้ำหนักลด กล้ามเนื้ออ่อนแรงจนถึงอัมพาต หัวใจเต้นผิดจังหวะ การเคลื่อนไหวของทางเดินอาหารผิดปกติ ผลผลิตน้ำนมลดลง และคุณภาพขนและผิวหนังเสื่อมลง ร่วมกับการลดลงของระดับโพแทสเซียมในพลาสมาและกล้ามเนื้อ และการเกิดภาวะกรดภายในเซลล์ ภาวะขาดโพแทสเซียมพบเด่นชัดในโคนมระยะหลังคลอดที่มีภาวะเบื่ออาหารร่วมกับความเครียดทางเมแทบอลิซึม โดยแสดงอาการกล้ามเนื้ออ่อนแรงรุนแรงจนสัตว์ไม่สามารถลุกยืนได้ (วรรณพร, 2560; Saha and Pathak, 2021) แต่โดยทั่วไปแล้วในอาหารสัตว์โดยเฉพาะที่ใช้วัตถุดิบจากถั่วและหญ้ามักมีโพแทสเซียมปริมาณสูง ทำให้ปัญหาการได้รับปริมาณมากเกินไปพบได้บ่อยและเป็นอันตรายมากกว่าการขาดโพแทสเซียม การได้รับโพแทสเซียมในปริมาณที่มากเกินไปอย่างรวดเร็ว สามารถรบกวนทำให้เยื่อหุ้มเซลล์สูญเสียความต่างศักย์ (depolarization) นำไปสู่ภาวพหัวใจเต้นผิดจังหวะและอาจทำให้หัวใจหยุดเต้นได้ ในสัตว์เคี้ยวเอื้อง โพแทสเซียมมากกว่าร้อยละ 50 ถูกดูดซึมที่กระเพาะรูเมนเข้าสู่ร่างกาย หากได้รับประมาณมากจะขัดขวางการดูดซึมโซเดียมและแมกนีเซียม ทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อภาวะขาดแมกนีเซียม (hypomagnesaemia tetany) และเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อความสมดุลของประจุในอาหาร (dietary cation-anion differences, DCAD) ซึ่งค่า DCAD ที่สูงเกินไปมีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะแคลเซียมในเลือดต่ำส่งผลให้เกิดโรค milk fever ในโคนมได้ (Suttle, 2021) สำหรับระดับทนทานสูงสุดและผลกระทบทางสรีรวิทยาของการได้รับโพแทสเซียมในอาหารสัตว์นั้น สภาวิจัยแห่งชาติสหรัฐฯ ได้เคยกำหนดระดับโพแทสเซียมสูงสุดที่ยอมรับได้ไว้ที่ 30,000 mg/kg สำหรับสัตว์ทุกชนิด แต่ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าไม่สามารถใช้เกณฑ์มาตรฐานเดียวครอบคลุมได้ทุกสภาวะ เนื่องจากความเป็นพิษขึ้นอยู่กับชนิดสัตว์ สภาวะเมแทบอลิซึม และประเภทของสารประกอบโพแทสเซียม โดยเกลือที่เป็นกลาง เช่น KCl จะได้รับความทนทานสูงกว่าเกลือที่ส่งผลต่อสมดุลกรด-เบส เช่น $KHCO_3$ การได้รับโพแทสเซียมเกิน 10,000 mg/kg ในสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง ส่งผลให้การกินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตลดลง รวมถึงเพิ่มการขับออกทางปัสสาวะ แม้สุกรจะสามารถทนได้สูงถึง 10 เท่าของความต้องการก็ตาม สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง โคนมระยะให้นม โดยเฉพาะในสภาวะความเครียดจากความร้อน มีความต้องการโพแทสเซียมสูงกว่า 15,000 mg/kg และทนได้ถึง 30,000 mg/kg อย่างไรก็ตาม การได้รับโพแทสเซียมสูงเกิน 15,000 mg/kg จำเป็นต้องเสริมแมกนีเซียมเพื่อป้องกันโรคเกร็งกระตุก (grass tetany) นอกจากนี้ โคนมระยะก่อนคลอดที่ได้รับโพแทสเซียมสูงมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไข้นม (hypocalcaemia)

จากสมดุลประจุบวกที่เพิ่มขึ้น (National Research Council, 2005) ตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ ปริมาณการใช้ และเงื่อนไขในการห้ามผลิต นำเข้า หรือขายอาหารสัตว์ พ.ศ. 2559 ได้กำหนดวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ในปริมาณที่เหมาะสมให้อาหารสัตว์มีคุณภาพปลอดภัยต่อสัตว์ และประชาชนผู้บริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ โดยกำหนดปริมาณโพแทสเซียมสูงสุดที่กำหนดให้มีในอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปสำหรับโค ไม่เกิน 30,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนสกุกร ไก่ และเป็ด กำหนดไว้ไม่เกิน 20,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ราชกิจจานุเบกษา, 2559)

ห้องปฏิบัติการงานเคมี กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 766.490 หรือ 769.900 นาโนเมตร อ้างอิงวิธีทดสอบ EN 15510 (CEN, 2017) ซึ่งเป็นเทคนิคที่อาศัยความร้อนจากพลาสมาที่มีอุณหภูมิสูงประมาณ 6,000-10,000 เคลวิน เหนี่ยวนำให้ตัวอย่างเกิดเป็นอะตอมอิสระเปลี่ยนจากสถานะพื้นเป็นสถานะถูกกระตุ้น อะตอมจะปลดปล่อยพลังงานในรูปแสงที่มีความยาวคลื่นเฉพาะตัวจามชนิดของธาตุ และมีความเข้มแสง (intensity) เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณธาตุในสารละลายตัวอย่าง (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2562) โดยใช้แนวทางการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตาม Cantwell (2025) เพื่อให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ เกิดความเชื่อมั่นในวิธีทดสอบที่พัฒนาขึ้น เป็นไปตามมาตรฐานสากล

1. วัตถุประสงค์

1.1 เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

1.2 เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES เป็นวิธีทดสอบที่เหมาะสมกับวัตถุประสงค์การใช้งานและผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือ เป็นที่ยอมรับความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC17025

2. ขอบข่าย

ดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ดังนี้

4.1 หาสภาวะของเครื่อง ICP-OES ที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นวิธีทดสอบ

4.2 ทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linearity)

4.3 ทดสอบ matrix effect

4.4 ความแม่น (accuracy)

4.5 ความเที่ยง (precision)

4.5.1 Repeatability

4.5.2 Within laboratory reproducibility

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ที่ผ่านการทดสอบความใช้ของวิธีทดสอบแล้ว เพื่อให้เป็นไปตามระบบ ISO/IEC 17025

3.2 เพื่อให้เกิดความเชื่อมั่นและยอมรับในวิธีทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์

4. เครื่องมือและวัสดุวิทยาศาสตร์

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

4.1.1 เครื่องวิเคราะห์แร่ธาตุ (Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometer; ICP-OES) ยี่ห้อ PerkinElmer รุ่น Avio 550 Max

4.1.2 เครื่องบดอาหารสัตว์ โดยตัวอย่างต้องบดผ่าน sieve ขนาด 1 มิลลิเมตร

4.1.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

4.1.4 ตัวดูดจ่ายสารละลาย (dispenser) ขนาด 10 mL และ 50 mL

4.1.5 แท่นความร้อน (hot plate)

4.1.6 Beaker ขนาด 100 mL

4.1.7 Volumetric flask class A ขนาด 50 ,100 และ 250 mL

4.1.8 Volumetric pipette class A ขนาด 0.5, 1, 2, 4, 3, 5 และ 10 mL

4.1.9 Dropper

4.1.10 หลอดใส่ตัวอย่าง (tube) ขนาด 50 mL พร้อมฝาปิด

4.1.11 กระดาษกรองเบอร์ 4

4.1.12 กระจกนาฬิกา

4.2 สารเคมี/สารมาตรฐาน

4.2.1 กรดไนตริก (nitric acid, HNO_3) AR grade ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 68%

4.2.2 สารละลายกรดไนตริก 2% (v/v)

4.2.3 กรดเปอร์คลอริก (perchloric acid, $HClO_4$) AR grade ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 69%

4.2.4 น้ำขจัดไอออน ความต้านทานไม่น้อยกว่า 18 MΩ•cm

4.2.5 สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ICP grade

4.3 สารมาตรฐาน (Standard)

4.3.1 Stock potassium standard solution ความเข้มข้น 1000 mg/L เก็บที่อุณหภูมิ 2 - 8°C

4.3.2 การเตรียม intermediate potassium standard solution ความเข้มข้น 100 mg/L ปิเปต stock potassium standard solution ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 10 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยสารละลายไนตริก 1% สารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ให้ถ่ายเทใส่หลอดใส่ตัวอย่าง เก็บที่อุณหภูมิ 2 - 8 °C มีอายุการใช้งาน 30 วัน

4.3.3 การเตรียม working potassium standard solution ความเข้มข้น 1, 5, 10, 15 และ 20 mg/L ก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C มีอายุการใช้งาน 30 วัน

4.3.3.1 Working potassium standard solution ความเข้มข้น 20 mg/L

ปิเปต intermediate potassium standard solution เข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 20 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

4.3.3.2 Working potassium standard solution ความเข้มข้น 15 mg/L

ปิเปต intermediate potassium standard solution เข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 15 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

4.3.3.3 Working potassium standard solution ความเข้มข้น 10 mg/L

ปิเปต intermediate potassium standard solution เข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 10 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

4.3.3.4 Working potassium standard solution ความเข้มข้น 5 mg/L

ปิเปต working potassium standard solution ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 5 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

4.3.3.5 Working potassium standard solution ความเข้มข้น 1 mg/L

ปิเปต working potassium standard solution ความเข้มข้น 100 mg/L ปริมาตร 1 mL ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

5. วิธีดำเนินการ

5.1 ชั่งตัวอย่าง 1.0000±0.0002 g ใส่ลงใน beaker ขนาด 100 mL

5.2 เติมกรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 20 mL เติมกรดเปอร์คลอริกเข้มข้นปริมาตร 10 mL นำไปย่อยบนแท่นความร้อนจนเกิดควันสีขาว ยกออกจากแท่นความร้อนแล้วทิ้งไว้ให้เย็น

5.3 ถ่ายใส่ volumetric flask ขนาด 250 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออน ผสมให้เข้ากัน แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 4

5.4 ทดสอบหาปริมาณโพแทสเซียมในสารละลายตัวอย่างด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma–Optical Emission Spectrometry (ICP–OES) โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 766.490 นาโนเมตร

5.5 หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES ที่จะใช้เป็นวิธีทดสอบ

5.6 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียม ในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

5.6.1 ทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linearity)

5.6.2 เตรียมสารมาตรฐานโพแทสเซียม 5 ระดับความเข้มข้น คือ 1, 5, 10, 15 และ 20 mg/L

5.6.3 ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง ICP-OES ที่ความยาวคลื่น 766.490 นาโนเมตร

5.6.4 สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม

5.7 การทดสอบความแม่น (accuracy)

5.7.1 เตรียม spiked sample โดยชั่งอาหารไก่ อาหารสุกร และอาหารโค 1.0000±0.0002 กรัม เติมสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม 4 ระดับ คือความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

5.7.1.1 ที่ระดับ 1,000 mg/kg ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 1 ml ลงใน sample blank

5.7.1.2 ที่ระดับ 5,000 mg/kg ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 5 ml ลงใน sample blank

5.7.1.3 ที่ระดับ 10,000 mg/kg ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 10 ml ลงใน sample blank

5.7.1.4 ที่ระดับ 20,000 mg/kg ปิเปตสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียม ความเข้มข้น 1,000 mg/L ปริมาตร 20 ml ลงใน sample blank

5.7.2 ทดสอบ sample blank ชนิดตัวอย่างละ 10 ซ้ำ และทดสอบ spiked sample แต่ละชนิดตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ

5.7.3 คำนวณค่าโพแทสเซียมเฉลี่ย ($\bar{x}$)

5.7.4 ประเมินค่าความแม่น (accuracy) โดยใช้ค่า %recovery ของค่าโพแทสเซียมเฉลี่ยเปรียบเทียบกับค่า spiked sample ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ โดยทุกระดับความเข้มข้นต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

5.7.5 ทดสอบตัวอย่าง Certified Reference Materials (CRM) DORM-5 ชนิดตัวอย่าง fish protein โดยทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ เพื่อแสดงว่าวิธีทดสอบมี trueness ใช้สมการ $t_{cal} = \frac{|\bar{x} - \mu| \cdot \sqrt{n}}{S}$ มีเกณฑ์ยอมรับคือ ค่า t_{cal} จากการคำนวณ (ไม่คิดเครื่องหมาย) เปรียบเทียบกับค่า t_{cirt} จากตาราง ที่ df = n-1 และ p = 0.05 โดย t_{cal} ต้องน้อยกว่า t_{cirt} และค่า %Mean recovery ต้องอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

5.8 ประเมินความเที่ยง (precision)

5.8.1 Repeatability มีเกณฑ์ยอมรับคือ คำนวณค่า $\%RSD_r$ ของแต่ละความเข้มข้นในชุดนั้น ๆ ผลทดสอบต้องมีค่าน้อยกว่า $\%PRSD_r$ (AOAC, 2023)

5.8.2 Within-laboratory reproducibility โดยทำการทดสอบซ้ำต่างวัน ห่างกัน 7 วัน และ 14 วัน และประเมินค่าความเที่ยง แบบ within- laboratory reproducibility มีเกณฑ์ยอมรับคือ คำนวณค่า $\%RSD_R$ ของแต่ละชุด ความเข้มข้นนั้น ต้องมีค่าน้อยกว่า $\%PRSD_R$ (AOAC, 2023)

6. ผลการทดลอง

6.1 ได้ศึกษาข้อมูลจากเอกสาร และวางแผนการทดลองเรียบร้อยแล้ว

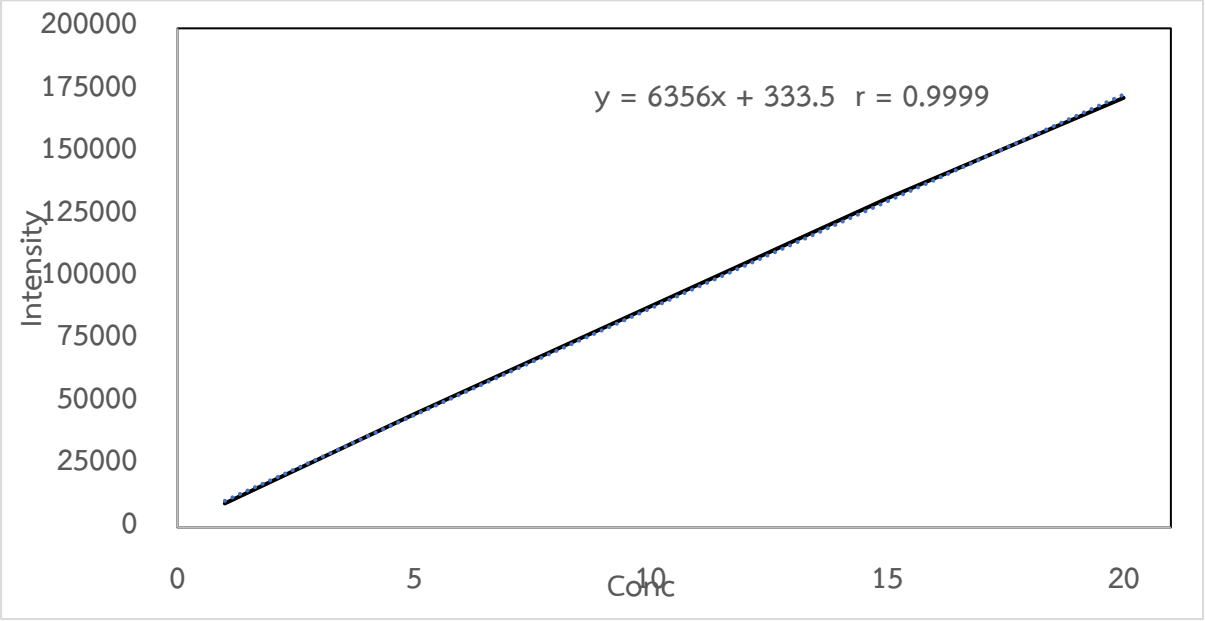
6.2 ได้จัดเตรียมอุปกรณ์ สารเคมี สารละลายมาตรฐาน และเตรียมตัวอย่างอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการทดสอบเรียบร้อยแล้ว

6.3 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES ในการทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ โดยตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 766.490 โดยมีสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ดังนี้

ตารางที่ 1 สภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES ในการทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์

Parameters	Conditions
RF Power	1500 watts
Flow gas: Plasma Gas Flow	 10 L/min
Auxiliary Gas Flow	0.2 L/min
Nebulizer Gas Flow	0.5 L/min
Plasma view	Radial
Speed pump	1 mL/min

6.4 ได้ทดสอบหา linearity โดยใช้สารมาตรฐานโพแทสเซียมที่ระดับความเข้มข้น 1, 5, 10, 15 และ 20 mg/L



ภาพที่ 1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง intensity (cps) และค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานโพแทสเซียมที่ความเข้มข้น 1 - 20 mg/L

6.5 การทดสอบความแม่น (accuracy)

6.5.1 ทดสอบความแม่นของวิธีทดสอบ โดยทดสอบ spiked sample ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมด 4 ระดับคือ 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่า %mean recovery พบว่าความเข้มข้น 1,000, 5,000 mg/kg มีเกณฑ์การยอมรับ %mean recovery อยู่ในช่วง 95 - 105% ความเข้มข้น 10,000, 20,000 mg/kg มีเกณฑ์การยอมรับ %mean recovery อยู่ในช่วง 97 - 103% ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023c) แสดงว่าวิธีทดสอบนี้มีความแม่นเป็นที่ยอมรับได้ ดังแสดงในตารางที่ 3 – 5

6.5.2 ทดสอบ CRM Material DORM-5 ชนิดตัวอย่าง fish protein จำนวน 10 ซ้ำ

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบโพแทสเซียมในตัวอย่าง CRM DORM-5 ชนิดตัวอย่าง fish protein จำนวน 10 ซ้ำ และประเมิน trueness และ %Recovery

	ผลการทดสอบโพแทสเซียม
$\bar{x}$ (mg/kg)	11,734
Standard Deviation (S) (mg/kg)	207.803
True value or Certified value (μ) (mg/kg)	11,600
t_{cal}	2.04
t_{cirt}	2.26
% mean recovery (เกณฑ์การยอมรับ 80 - 110)	101.16

หาค่า ค่า t_{cal} จากการคำนวณ (ไม่คิดเครื่องหมาย) เปรียบเทียบ t_{cirt} จากตาราง โดย df = n-1 และ p = 0.05

พบว่า $t_{cal} < t_{cirt}$ แสดงว่าวิธีทดสอบมี trueness และมี %Recovery อยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

6.6 การทดสอบความเที่ยง (precision)

6.6.1 ทดสอบความเที่ยงแบบทวนซ้ำได้ (repeatability) โดยทดสอบ spiked sample ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมด 4 ระดับคือ 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ แล้วคำนวณหาค่า $\%RSD_r$ และ $\%PRSD_r$ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นมีค่า $\%RSD_r$ น้อยกว่าค่า $\%PRSD_r$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ แสดงว่าวิธีทดสอบนี้มีความเที่ยงแบบทวนซ้ำได้เป็นที่ยอมรับได้ ดังแสดงในตารางที่ 3 – 5

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบโพแทสเซียมในตัวอย่าง spiked sample ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในตัวอย่างอาหารไก่

Rep.	Potassium in poultry feed							
	1,000 mg/kg		5,000 mg/kg		10,000 mg/kg		20,000 mg/kg	
	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery
1	963.10	96.31	5,052.10	101.04	10,092.10	100.92	20,512.10	102.56
2	965.10	96.51	5,043.10	100.86	10,292.10	102.92	19,412.10	97.06
3	1,000.10	100.01	5,064.10	101.28	9,822.10	98.22	20,512.10	102.56
4	992.10	99.21	5,072.10	101.44	9,912.10	99.12	20,192.10	100.96
5	981.10	98.11	5,037.10	100.74	10,062.10	100.62	20,512.10	102.56
6	972.10	97.21	5,168.10	103.36	10,112.10	101.12	19,662.10	98.31
7	984.10	98.41	5,088.10	101.76	10,242.10	102.42	20,552.10	102.76
8	983.10	98.31	5,051.10	101.02	10,242.10	102.42	20,262.10	101.31
9	970.10	97.01	5,074.10	101.48	9,802.10	98.02	19,712.10	98.56
10	977.10	97.71	5,061.10	101.22	10,082.10	100.82	20,592.10	102.96
mean (mg/kg)	978.80	-	5,071.10	-	10,066.10	-	20,192.10	-
%mean recovery	-	97.88	-	101.42	-	100.66	-	100.96
เกณฑ์การยอมรับ %mean recovery	-	95 - 105	-	95 - 105	-	97 - 103	-	97 - 103
SD (mg/kg)	11.738	-	37.354	-	172.897	-	437.340	-
RSD_r (%)	0.42	-	0.54	-	1.46	-	1.99	-
$PRSD_r$ (%)	3.73	-	2.93	-	2.64	-	2.38	-

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบโพแทสเซียมในตัวอย่าง spiked sample ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในตัวอย่างอาหารสุกร

Rep.	Potassium in swine feed							
	1,000 mg/kg		5,000 mg/kg		10,000 mg/kg		20,000 mg/kg	
	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery
1	992.60	99.26	5,063.60	101.27	10,134.60	101.35	19,554.60	97.77
2	1,012.60	101.26	5,054.60	101.09	9,864.60	98.65	19,644.60	98.22
3	1,018.60	101.86	5,132.60	102.65	9,874.60	98.75	19,594.60	97.97
4	1,005.60	100.56	5,089.60	101.79	9,904.60	99.05	19,514.60	97.57
5	1,019.60	101.96	5,083.60	101.67	9,804.60	98.05	19,644.60	98.22
6	992.60	99.26	5,049.60	100.99	9,984.60	99.85	19,714.60	98.57
7	1,001.60	100.16	5,011.60	100.23	9,774.60	97.75	19,634.60	98.17
8	975.60	97.56	5,108.60	102.17	9,904.60	99.05	19,714.60	98.57
9	1,023.60	102.36	5,028.60	100.57	9,754.60	97.55	19,674.60	98.37
10	1,037.60	103.76	5,013.60	100.27	9,734.60	97.35	19,664.60	98.32
mean (mg/kg)	1,008.00	-	5,063.60	-	9,873.60	-	19,635.60	-
%mean recovery	-	100.80	-	101.27	-	98.74	-	98.18
เกณฑ์การยอมรับ %mean recovery	-	95 - 105	-	95 - 105	-	97 - 103	-	97 - 103
SD (mg/kg)	18.13	-	40.23	-	120.41	-	64.88	-
RSD_r (%)	0.68	-	0.600	-	1.04	-	0.30	-
$PRSD_r$ (%)	3.73	-	2.93	-	2.64	-	2.38	-

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบโพแทสเซียมในตัวอย่าง spiked sample ที่ความเข้มข้นต่างๆ ในตัวอย่างอาหารโค

Rep.	Potassium in bovine feed							
	1,000 mg/kg		5,000 mg/kg		10,000 mg/kg		20,000 mg/kg	
	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery	Conc.	%Recovery
1	985.50	98.55	5,127.50	102.55	10,278.50	102.79	20,528.50	102.64
2	992.50	99.25	5,083.50	101.67	10,288.50	102.89	20,148.50	100.74
3	1,012.50	101.25	5,136.50	102.73	10,258.50	102.59	20,508.50	102.54
4	1,032.50	103.25	5,173.50	103.47	10,148.50	101.49	20,288.50	101.44
5	999.50	99.95	5,134.50	102.69	10,258.50	102.59	20,208.50	101.04
6	1,016.50	101.65	5,159.50	103.19	10,268.50	102.69	20,508.50	102.54
7	982.50	98.25	5,119.50	102.39	10,198.50	101.99	20,248.50	101.24
8	1,006.50	100.65	5,147.50	102.95	10,218.50	102.19	20,328.50	101.64
9	996.50	99.65	5,170.50	103.41	10,228.50	102.29	20,068.50	100.34
10	1,029.50	102.95	5,149.50	102.99	10,258.50	102.59	20,078.50	100.39
mean (mg/kg)	1,005.40	-	5,140.20	-	10,240.50	-	20,291.50	-
%mean recovery	-	100.54	-	102.80	-	102.41	-	101.46
เกณฑ์การยอมรับ %mean recovery	-	95 - 105	-	95 - 105	-	97 - 103	-	97 - 103
SD (mg/kg)	17.29	-	26.65	-	42.64	-	175.12	-
RSD_r (%)	0.65	-	0.39	-	0.7	-	0.800	-
$PRSD_r$ (%)	3.73	-	2.93	-	2.64	-	2.38	-

6.6.2 ผลทดสอบความเที่ยงแบบ within-laboratory reproducibility โดยทดสอบ spiked sample ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมด 4 ระดับความเข้มข้นคือ ความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จำนวน 3 ชุดการทดสอบ ต่างวัน 7 และ 14 วัน การคำนวณหาค่า $\%RSD_R$ และ $\%PRSD_R$ พบว่าทุกระดับความเข้มข้นมีค่า $\%RSD_R$ น้อยกว่าค่า $\%PRSD_R$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีทดสอบมีความเที่ยงแบบทำซ้ำได้เป็นที่ยอมรับได้ ดังแสดงในตารางที่ 6 - 7

ตารางที่ 6 แสดงการประเมินหาความเที่ยงแบบ within-laboratory reproducibility ของโพแทสเซียมในตัวอย่างอาหารไก่ และโค ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และทดสอบซ้ำห่างกัน 7 และ 14 วัน (รวมเป็น 3 ครั้ง)

	Potassium in Poultry feed (mg/kg)				Potassium in Bovine feed (mg/kg)			
	1,000	5,000	10,000	20,000	1,000	5,000	10,000	20,000
Mean (mg/kg)	982.63	5,045.00	10,057.63	20,141.97	997.53	5,046.77	10,027.20	20,067.53
SD (mg/kg)	18.01	114.83	14.76	311.30	20.87	97.66	175.46	332.67
RSD_R (%)	1.83	2.28	1.40	1.54	2.09	1.94	1.75	1.66
$PRSD_R$ (%)	5.66	4.44	4.00	3.60	5.66	4.44	4.00	3.60

ตารางที่ 7 แสดงการประเมินหาความเที่ยงแบบ within-laboratory reproducibility ของโพแทสเซียมในตัวอย่างอาหารสุกร ทดสอบความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ และทดสอบซ้ำห่างกัน 7 และ 14 วัน (รวมเป็น 3 ครั้ง)

	Potassium in Swine feed (mg/kg)			
	1,000	5,000	10,000	20,000
Mean (mg/kg)	994.27	4,957.90	9,920.33	19,912.33
SD (mg/kg)	22.81	92.66	120.32	269.18
RSD_R (%)	2.29	1.87	1.21	1.35
$PRSD_R$ (%)	5.66	4.44	4.00	3.60

7. สรุปผลการทดลอง

7.1 หาสภาวะที่เหมาะสมของเครื่อง ICP-OES สำหรับทดสอบโพแทสเซียมในอาหารสัตว์ ผลการทดสอบ linearity ของสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมพบว่า coefficient of correlation (r) เท่ากับ 0.9999 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ($r \geq 0.995$)

7.2 ผลการทดสอบความแม่นของวิธีทดสอบ spiked sample ในตัวอย่างอาหารสัตว์ ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมด 4 ระดับคือ 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ มีค่า %mean recovery ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023c)

7.3 ผลการทดสอบความเที่ยงของวิธีทดสอบ

7.3.1 ความเที่ยงแบบ repeatability จากการทดสอบ spiked sample ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียมทั้งหมด 4 ระดับ คือความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ มีค่า $\%RSD_r$ น้อยกว่าค่า $\%PRSD_r$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

7.3.2 ความเที่ยงแบบ within-laboratory reproducibility จากการทดสอบ spiked sample ที่มีความเข้มข้นของโพแทสเซียม ทั้งหมด 4 ระดับ คือความเข้มข้น 1,000, 5,000, 10,000 และ 20,000 mg/kg ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ จากนั้นทดสอบซ้ำห่างกัน 7 วัน และ 14 วัน (ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ) นำค่าทั้งหมดมาประเมินค่า $\%RSD_R$ พบว่า $\%RSD_R$ น้อยกว่าค่า $\%PRSD_R$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ AOAC (2023)

7.4 การทดสอบโพแทสเซียมอาหารสัตว์ มีการใช้งาน (working range) คือ 1,000 – 20,000 mg/kg วิธีทดสอบมีความแม่นและความเที่ยง

สรุปได้ว่าจากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบโพแทสเซียมอาหารสัตว์ มีความแม่นและความเที่ยงเหมาะสมจะใช้เป็นวิธีทดสอบต่อไป

8. เอกสารอ้างอิง

AOAC. 2023. **AOAC Official Method 935.13 Calcium in Animal Feed.** Ch.4. AOAC Official Methods of Analysis. 22nd ed. AOAC International. Gaithersburg. MD.

CEN. 2017. **EN 15510 Animal feeding stuffs. Methods of sampling and analysis. Determination of calcium, sodium, phosphorus, magnesium, potassium, iron, zinc, copper, manganese, cobalt, molybdenum and lead by ICP-AES.** European Committee for Standardization, Brussels.

European Commission. 2016. **COMMISSION IMPLEMENTING REGULATION (EU) 2017/2330 of 14 December 2017 concerning the authorisation of Iron(II) carbonate, Iron(III) chloride hexahydrate, Iron(II) sulphate monohydrate, Iron(II) sulphate heptahydrate, Iron(II) fumarate, Iron(II) chelate of amino acids hydrate, Iron(II) chelate of protein hydrolysates and Iron(II) chelate of glycine hydrate as feed additives for all animal species and of Iron dextran as feed additive for piglets and amending Regulations (EC) No 1334/2003 and (EC) No 479/2006 Official Journal of the European Union.** L182: 7-27.

Helen Cantwell. 2025. Eurachem Guide: **The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 3rd ed.**. Available from www.eurachem.org.

Meija, J., T. B. Coplen, M. Berglund, W. A. Brand, P. D. Bievre, M. Groning, N. E. Holden, J. Irrgeher, R. D. Loss, T. Walczyk and T. Prohaska. 2016. **Atomic weights of the elements 2013 (IUPAC Technical Report).** Pure Appl. Chem, 88(3): 265 – 291

National Research Council. 2005. **Mineral Tolerance of Animals: Second Revised Edition**. The National Academies Press, Washington, DC.

Prohaska, T., J. Irrgeher, J. Benefield, J.K. Böhlke, L.A. Chesson, T.B. Coplen, T. Ding, P.J.H. Dunn, M. Gröning, N.E. Holden, H.A.J. Meijer, H. Moossen, A. Possolo, Y. Takahashi, J. Vogl, T. Walczyk, J. Wang, M.E. Wieser,S. Yoneda, X. Zhu and J. Meija. 2022. **Standard atomic weights of the elements 2021 (IUPAC Technical Report).** Pure Appl. Chem, 94(5): 573–600.

Saha, S.K. and N. N. Pathak. 2021. **Fundamentals of Animal Nutrition**. Springer Nature, Singapore.

Suttle, N.F. 2021. **Mineral nutrition of livestock**. 5th ed. CAB International, Boston.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2562. **วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารเล่ม 7**. บริษัท เอ็นซี คอนเซ็ปต จำกัด, กรุงเทพฯ.

ราชกิจจานุเบกษา. 2559. เล่มที่ 113 ตอนพิเศษ 306 ง, หน้า 18 - 26.

วรรณพร ทะพิงค์แก. 2560. **อาหารและการให้อาหารสัตว์ (Feeds and Feeding).** ศูนย์บริหารงานวิจัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.