

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

สุนีย์ คณาพิพัฒน์ จารุนันท์ อัจจุตมานัส พงษ์พิพัฒน์ สุวพัฒน์ สุกัญญา พวงเสียง
ประภาพร วรรณาเขียว พรชนิตว์ พรหมคุณ

บทคัดย่อ

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบหาปริมาณตะกั่วในอาหารสัตว์ ด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) ได้ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน AOAC 984.27 (2016) โดยนำตัวอย่างมาย่อยด้วยกรดไนตริกและกรดเปอร์คลอริก จนกระทั่งเกิดควันสีขาวและได้สารละลายใส ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออน กรองและนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES

ผลการศึกษาพบว่า สารละลายมาตรฐานตะกั่ว ที่ระดับความเข้มข้น 0.01-1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง มีค่า Regression coefficient (R^2) เท่ากับ 1 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection) ในอาหารสัตว์ เท่ากับ 0.20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณต่ำสุดที่หาปริมาณได้ (Limit of Quantitation) ในอาหารสัตว์เท่ากับ 0.70 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเมินความแม่นยำ พบว่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนเฉลี่ยของตะกั่วอยู่ในช่วงร้อยละ 88.84-94.93% ทำการประเมินความเที่ยงจากการทดสอบซ้ำต่างวันพบว่า ได้ค่า RSD_R อยู่ในช่วงร้อยละ 4.29-8.33 ดังนั้นสามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

คำสำคัญ : ตะกั่ว การทดสอบความใช้ได้ อาหารสัตว์ ICP-OES

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ กรมปศุสัตว์

Method Validation for Determination of Lead in Feed by ICP-OES

Sunee Kanapipat Charunan Ajjutamanus Phongpipat Suwapat Sukanya Puangsiang
Prapaporn Wunnakhieo Phonchanit Prommakun

Abstract

Method validation of lead analytical in feed by using Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES) has been developed by modifying from standard method AOAC 984.27 (2016). Samples were digested with nitric acid and perchloric acid until white fumes and clear solution, made volume with deionised water, filtered and analysed by ICP-OES.

The study showed that the regression correlation (R^2) of the lead standard solution at level 0.01-1.00 mg/L was 1. Limit of Detection in feed was 0.20 mg/kg and Limit of Quantitation in feed was 0.70 mg/kg. Accuracy was evaluated by the mean of percent recovery of lead was 88.84-94.93%. Precision by Reproducibility precision (RSD_R) was 4.29-8.33%. The method can be used for determination of lead in feed.

Keywords : Lead, Method validation, Feed, ICP-OES

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

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

สุนีย์ คณาพิพัฒน์ จารุพันธ์ อัจจุตมานัส พงษ์พิพัฒน์ สุวพัฒน์ สุกัญญา พวงเสียง
ประภาพร วรรณเชียว พรชนิตว์ พรหมคุณ

บทนำ

โลหะ (metal) คือ ธาตุหรือสารซึ่งอยู่ในรูปบริสุทธิ์ (element) เป็นของแข็งหรือผลึก ณ อุณหภูมิห้อง ยกเว้นปรอทที่เป็นของเหลว สามารถนำความร้อนและนำไฟฟ้าได้ ในรูปสารประกอบจะเป็นประจุบวกหรือแคตไอออน (cation) แบ่งเป็นโลหะแอลคาไล (alkali metal) หรือธาตุหมู่ 1 ยกเว้นไฮโดรเจน โลหะแอลคาไลน์เอิร์ท (alkaline earth metal) หรือธาตุหมู่ 2 โลหะทรานซิชัน (transition metal) และโลหะอื่น สารบางชนิดเป็นโลหะแต่มีสมบัติบางอย่างคล้ายโลหะเรียกว่า สารคล้ายโลหะ (metalloid) เช่น ซิลิคอน (silicon) สารหนู (arsenic) โลหะก่อกพิษส่วนมากเป็นโลหะหนัก (heavy metal) มีน้ำหนักมากกว่าน้ำ 5 เท่าขึ้นไป หรือมีค่าความถ่วงจำเพาะมากกว่า 5 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร เช่น ปรอท แคดเมียม โครเมียม โคบอลต์ นิกเกิล เหล็ก แมงกานีส และตะกั่ว เป็นต้น การหายใจเอาผงโลหะเข้าไปก่อภาวะฝุ่นจับปอด โลหะเมื่อถูกความร้อนจะเกิดไอซึ่งเป็นพิษต่อทางเดินหายใจ บางคนอาจเกิดภาวะผื่นภูมิแพ้ต่อผลิตภัณฑ์ที่ทำจากโลหะ เช่น สายนาฬิกา สร้อย แหวน สารประกอบโลหะอนินทรีย์หรือเกลือมีความสามารถละลายในไขมันได้น้อยจึงผ่านเข้าสู่ร่างกายได้น้อย ยกเว้นเลียนแบบธาตุที่จำเป็นของร่างกายเข้าสู่ช่องทางพิเศษ เช่น ตะกั่วกับช่องทางผ่านของแคลเซียม (calcium channel) เป็นต้น สารประกอบโลหะอินทรีย์ละลายในไขมันได้ดีจึงถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ เมื่อเข้าสู่ร่างกายจะสะสมในเนื้อเยื่อไขมันและอวัยวะที่มีไขมันมาก เช่น สมอง บางส่วนย่อยสลายเป็นโลหะอนินทรีย์สะสมในกระดูกและฟัน และแพร่กระจายไปตามกระแสเลือดก่อพิษโดยเฉพาะที่ไต และแปรสภาพเป็นโลหะอินทรีย์ที่ตับทำให้เกิดความเป็นพิษที่ตับอีกด้วย (วีรวรรณ, 2558)

ตะกั่ว (Lead, Pb) ในรูปสารบริสุทธิ์เป็นโลหะหนักที่มีลักษณะนิ่ม สีเทาเป็นมันวาว มีจุดหลอมเหลว 327.46 องศาเซลเซียส ใช้เป็นบัดกรี (solder) หรือโลหะเชื่อมรอยต่อหรือรอยรั่วอุปกรณ์โลหะ เช่น แผงวงจรไฟฟ้า แม่พิมพ์ตัวอักษร เป็นต้น นอกจากนี้ยังใช้ตะกั่วเป็นส่วนผสมของ สี น้ำหมึก แบตเตอรี่ เป็นต้น ร่างกายสามารถรับตะกั่วได้ 3 ทาง คือ ทางการหายใจ ทางผิวหนัง และการปาก ซึ่งโดยส่วนมากสัตว์มักได้รับตะกั่วเข้าสู่ร่างกายทางปากจากการกินอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนตะกั่วเข้าไป และอาจได้รับตะกั่วจากภาชนะใส่อาหารหรือภาชนะใส่น้ำที่เคลือบด้วยสารที่มีตะกั่วผสมอยู่ อาการเป็นพิษจากตะกั่วส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารและระบบประสาท ในกรณีที่ได้รับตะกั่วระดับต่ำเป็นเวลานานมักเกิดอาการพิษเรื้อรัง มีความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร ขณะที่อาการทางระบบประสาทมักพบมากในสัตว์ที่ได้รับพิษเฉียบพลัน อาการที่พบได้ คือ อาเจียน ท้องร่วง ไม่อยากอาหาร ปวดท้อง ขยอกเนื่องจากหลอดอาหารไม่ทำงาน กระวนกระวาย ชัก ตาบอด (เนาวรัตน์, 2559; วีรวรรณ, 2558)

เมื่อกินตะกั่วเข้าไปจะถูกดูดซึมผ่านช่องทางแคลเซียม โดยความสามารถในการดูดซึมตะกั่วโดยปกติจะน้อยกว่าแคลเซียม แต่ในภาวะขาดแคลเซียม เหล็ก หรือสังกะสี หรือในช่วงที่มีความต้องการแคลเซียมปริมาณมาก ทางเดินอาหารจะดูดซึมตะกั่วเข้าสู่กระแสเลือดได้มากขึ้น เมื่อตะกั่วเข้าสู่กระแสเลือดจะไปสะสมที่กระดูกและฟัน ก่อให้เกิดเส้นตะกั่ว (lead line, Burton line) สีเทาในเนื้อฟันและกระดูก การสะสมตะกั่วในกระดูกจะ

ทำลายเนื้อกระดูกจนเกิดอาหารปวดกระดูก มีภาวะกระดูกพรุน ตะกั่วละลายในไขมันได้ดีจึงไปสะสมและทำลายสมองทำให้การมองเห็นและได้ยินผิดปกติ การทรงตัวและเคลื่อนไหวผิดปกติ และอาจเสียชีวิตจากภาวะพิษตะกั่วในสมอง (lead encephalopathy) นอกจากนี้ตะกั่วเป็นพิษต่อระบบประสาทส่วนปลาย ทำลายเส้นประสาทสั่งงาน (axon degeneration) และเส้นประสาทรับความรู้สึก (sensory nerve degeneration) และรบกวนการทำงานของสารสื่อประสาทที่มีแคลเซียมเกี่ยวข้องก่อให้เกิดอาการชา ไม่รับรู้สัมผัส (วีรวรรณ, 2558)

ตะกั่วเป็นพิษกับทุกเซลล์ โดยไปยับยั้งเอนไซม์โซเดียมโพแทสเซียมเอทีพีเอส (Na-K-ATPase) ในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเอนไซม์นี้ควบคุมการไหลของโซเดียมและน้ำเข้าสู่เซลล์ ก่อให้เกิดเซลล์บวม น้ำจันแตก พิษต่อระบบทางเดินอาหาร ตะกั่วก่อให้เกิดอาการปวดมวนท้อง (stomach cramp, lead colic) พิษต่อระบบเลือด ก่อให้เกิดภาวะโลหิตจาง (lead induced anemia) โดยไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์สร้างเฮโมโกลบิน ก่อให้เกิดภาวะพิษตะกั่วที่ไต (lead nephropathy) ทำลายเซลล์บุท่อหน่วยไตส่วนต้น เกิดการสูญเสียกรดอะมิโน กลูโคส และแร่ธาตุไปกับปัสสาวะ (วีรวรรณ, 2558)

การควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์เป็นสิ่งจำเป็นอันดับแรกในการผลิตสินค้าปศุสัตว์ที่ใช้การบริโภคเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดพิษที่มีปริมาณที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ซึ่งเป็นผู้บริโภคอันดับสุดท้ายตามห่วงโซ่อาหารได้ กลุ่มสหภาพยุโรปได้มีการกำหนดค่าปริมาณตะกั่วที่ยอมให้ปนเปื้อนในอาหารสัตว์ไว้ในระเบียบ Commission Regulation (EU) 1831/2003 ระบุว่าในวัตถุดิบอาหารสัตว์ไม่เกิน 10 mg/kg สิ่งปรุงแต่งไม่เกิน 100 mg/kg สารผสมล่องหนไม่เกิน 200 mg/kg อาหารเสริมสำหรับสัตว์ไม่เกิน 10 mg/kg อาหารสำเร็จรูปสำหรับสัตว์ไม่เกิน 5 mg/kg (European Commission, 2017)

ในกระบวนการจัดทำระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ข้อ 5.4.5.2 ได้กำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่ไม่เป็นมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนา/ออกแบบขึ้นเอง วิธีมาตรฐานที่ถูกใช้นอกขอบข่ายที่กำหนดไว้ และการขยายและการดัดแปลงวิธีมาตรฐานเพื่อยืนยันว่าวิธีนั้นเหมาะกับการใช้ตามที่ตั้งใจไว้ การตรวจสอบความใช้ได้ต้องมีขอบเขตเท่าที่จำเป็นเพื่อให้เป็นไปตามความต้องการของการใช้งานที่กำหนด หรือตามสาขาของการใช้งาน ห้องปฏิบัติการต้องบันทึกผลต่าง ๆ ที่ได้ ขั้นตอนที่ใช้ในการทดสอบความใช้ได้ และข้อความระบุว่าวิธีนั้น ๆ เหมาะกับการใช้ตามวัตถุประสงค์หรือไม่ ซึ่งห้องปฏิบัติการต้องเลือกวิธีที่เหมาะสม และผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบเพื่อการพิสูจน์ว่าวิธีที่ทดสอบที่ห้องปฏิบัติการเลือกใช้นั้นมีความเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน ทั้งช่วงใช้งาน ประเภทตัวอย่างที่ทดสอบ ทำให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือทั้งในด้านความถูกต้อง ความเที่ยง ความสอบกลับได้ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากล (วันดี และคณะ, 2560; สำนักมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2548)

1. วัตถุประสงค์

เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ว่ามีความแม่นยำ ความเที่ยง ความน่าเชื่อถือ ได้ช่วงการใช้งานของวิธีทดสอบ โดยมีการดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน AOAC 984.27 (2016)

2. ขอบข่าย

ดำเนินการทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES

3. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

3.1 ได้วิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ของสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์

3.2 เพื่อแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบดังกล่าวมีความน่าเชื่อถือ และตรงกับวัตถุประสงค์การใช้งาน

4. วิธีดำเนินการ

4.1 ตัวอย่าง

เป็นตัวอย่างอาหารสัตว์และวัตถุดิบอาหารสัตว์ (อาหารไก่ ข้าวโพดป่น และกากถั่วเหลือง) ที่ผ่านการบดแล้ว

4.2 สารเคมี

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

4.2.2 สารละลายกรดไนตริก 1% (v/v)

4.2.3 สารละลายกรดไนตริก 2% (v/v)

4.2.4 กรดเปอร์คลอริก (Perchloric acid, HClO_4) AR grade ความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 69%

4.2.5 น้ำขจัดไอออน ความต้านทานไม่น้อยกว่า $18 \text{ M}\Omega/\text{cm}^{-1}$

4.3 สารละลายมาตรฐาน

4.3.1 Stock Lead standard solution ความเข้มข้น 1000 mg/L

4.3.2 การเตรียม Intermediate Lead standard solution ความเข้มข้น 10 mg/L ปิเปต Stock Lead standard solution ความเข้มข้น 1000 mg/L ปริมาตร 1 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริก 1%

4.3.3 การเตรียม Working Lead standard solution ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.10, 0.50, และ 1.00 mg/L แล้วปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1% ดังนี้

4.3.3.1 Working Lead standard solution ความเข้มข้น 1.00 mg/L

ปิเปต Intermediate Lead standard solution เข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 10 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1%

4.3.3.2 Working Lead standard solution ความเข้มข้น 0.50 mg/L

ปิเปต Intermediate Lead standard solution เข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 5 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1%

4.3.3.3 Working Lead standard solution ความเข้มข้น 0.10 mg/L

ปิเปต Intermediate Lead standard solution เข้มข้น 10 mg/L ปริมาตร 1 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1%

4.3.3.4 Working Lead standard solution ความเข้มข้น 0.05 mg/L

ปิเปต Working Lead standard solution ความเข้มข้น 1.00 mg/L ปริมาตร 5 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1%

4.3.3.5 Working Lead standard solution ความเข้มข้น 0.01 mg/L

ปิเปต Working Lead standard solution ความเข้มข้น 1.00 mg/L ปริมาตร 1 mL ใส่ลงใน Volumetric flask ขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยกรดไนตริกความเข้มข้น 1%

4.4 อุปกรณ์และเครื่องมือ

4.4.1 เครื่องวิเคราะห์แร่ธาตุ (Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometer; ICP-OES) ยี่ห้อ Perkin Elmer รุ่น Optima 2100DV Flow gas: Plasma 15 L/min Auxiliary 0.2 L/min Nebulizer 0.80 L/min, Power 1300 watts, Plasma view: Axial, Sample flow rate 0.85 ml/min

4.4.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า ชั่งได้ละเอียด 0.0001 g

4.4.3 เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Dispenser) ขนาด 10 mL และ 50 mL

4.4.4 แผ่นความร้อน (Hot plate)

4.4.5 Micropipette ขนาด 10-100 μ L และ 100-1000 μ L

4.4.6 Erlenmeyer flask ขนาด 50 mL

4.4.7 Volumetric flask class A ขนาด 50, 100, 1000 และ 2,000 mL

4.4.8 Volumetric pipette Class A ขนาด 1, 5 และ 10 mL

4.4.9 Beaker

4.4.10 กระบอกตวง

4.4.11 Dropper

4.4.12 แท่งแก้วคนสาร

4.4.13 หลอดใส่ตัวอย่าง (Tube) ขนาด 50 mL พร้อมฝาปิด

4.4.14 กระจกครอบเบอร์ 5

4.5 ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

4.5.1 ชั่งตัวอย่าง 1-2 g ใส่ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 50 mL

4.5.2 เติมกรดไนตริกเข้มข้น ปริมาตร 10 mL และเติมกรดเปอร์คลอริก ปริมาตร 4 mL

4.5.3 นำไปย่อยบนแผ่นความร้อนจนหมดควันสีแดง แล้วเกิดควันสีขาว ยกออกจากแผ่นความร้อนแล้วทิ้งไว้ให้เย็น

4.5.4 ถ่ายใส่ Volumetric flask ขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำขจัดไอออน ผสมให้เข้ากัน แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 5

4.5.5 ตรวจสอบปริมาณตะกั่วในสารละลายด้วยเทคนิค Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry; ICP-OES ที่ความยาวคลื่น 220.353 นาโนเมตร

4.6 การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบหาปริมาณตะกั่วในอาหารสัตว์

4.6.1 การทดสอบหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (Linearity ranges)

4.6.1.1 เตรียมสารมาตรฐานตะกั่ว 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0.01, 0.05, 0.10, 0.50

และ 1.00 mg/L

4.6.1.2 ตรวจวัดสารละลายมาตรฐานตะกั่วด้วยเครื่อง ICP-OES ที่ความยาวคลื่น 220.353

นาโนเมตร

4.6.1.3 สร้างกราฟสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่วัดได้เพื่อหา Linearity

4.6.2 การหา Limit of Detection (LOD) และ Limit of Quantitation (LOQ)

ทำการวิเคราะห์ sample blank (ข้าวโพดป่น,กากั่วเหลือง,อาหารไก่) โดยชั่งตัวอย่างละ 1 กรัม จำนวน 10 ซ้ำ และปฏิบัติตามข้อ 4.5.2-4.5.5 แล้วคำนวณหา $\bar{x}$, SD เพื่อประมาณค่า LOD และค่า LOQ

โดยคำนวณจากสูตร

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

$$LOD = 3 SD'$$

$$LOQ = 10 SD'$$

เมื่อ SD = ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ sample blank 10 ซ้ำ

$n = 2$ เนื่องจากมีการทดสอบตัวอย่างอาหารสัตว์ 2 ซ้ำในงานทดสอบ

$n_b = 2$ เนื่องจากมีการทดสอบ blank 2 ซ้ำในงานทดสอบ

4.7 การยืนยัน LOQ ของการทดสอบ

4.7.1 ชั่งตัวอย่างอาหารสัตว์ 1 กรัม แล้วเติมสารมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้นเท่ากับ LOQ ที่คำนวณได้ในข้อ 4.6.2

4.7.2 ย่อยและวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์ตามข้อ 4.5.2-4.5.5 โดยทดสอบวันละ 1 ซ้ำ จนครบ 10 ซ้ำ

4.7.3 คำนวณหา $\bar{x}$, SD, %RSD_R และ %Recovery ในกรณีที่ LOQ ที่คำนวณได้ %Recovery ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ให้เพิ่มความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานตะกั่ว จนค่า LOQ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ จากนั้นให้ทดสอบวันละ 1 ซ้ำ จนครบ 10 ซ้ำ

4.8 การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

4.8.1 ชั่งตัวอย่างอาหารสัตว์ตามข้อ 4.5.1 แล้วเติมสารมาตรฐานตะกั่วให้มีความเข้มข้นในช่วง Linear range ครอบคลุมค่าต่ำ กลางและสูงของช่วงการทดสอบ

4.8.2 ย่อยและวิเคราะห์ตัวอย่างอาหารสัตว์ตามข้อ 4.5.2-4.5.5 โดยทดสอบวันละ 1 ซ้ำ จนครบ 10 ซ้ำ

4.8.3 คำนวณหา $\bar{x}$, SD, %RSD_R, %PRSD_R และ %Recovery

โดย

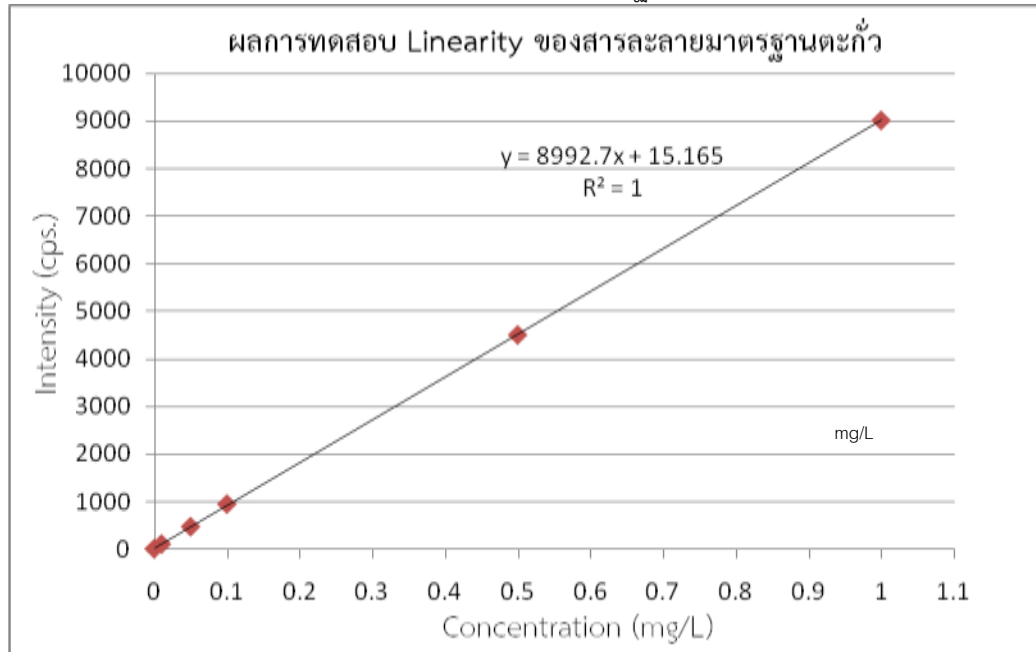
$$\%PRSD_R = 2^{(1-0.5 \log C)}$$

เมื่อ C = Concentration ratio

5. ผลการทดลอง

ผลการทดสอบ Linearity ของสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.01, 0.05, 0.10, 0.50 และ 1.00 mg/L พบว่า Relative of determination (R^2) เท่ากับ 1 เกณฑ์การยอมรับคือ >0.99

ภาพที่ 1 ผลการทดสอบ Linearity ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว



ตารางที่ 1 ความเข้มข้นของตะกั่วของ Sample blank (10 ซ้ำ)

	Sample (mg/kg)		
	Corn	Poultry feed	Soybean meal
$\bar{x}$	0.15	0.23	1.12
SD	0.0210	0.0424	0.0810
3 SD'	0.06	0.13	0.24
10 SD'	0.21	0.42	0.81

ค่า Limit of Detection (LOD) ของตัวอย่างอาหารสัตว์เท่ากับ 0.20 mg/kg

ค่า Limit of Quantitation (LOQ) ของตัวอย่างอาหารสัตว์เท่ากับ 0.80 mg/kg

ตารางที่ 2 การยืนยัน LOQ, การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision) ในตัวอย่างอาหารสัตว์ (10 ซ้ำ ต่างวัน)

ชนิดตัวอย่าง	ความเข้มข้น (mg/kg)	ค่าเฉลี่ย ($\bar{x}$)	ค่าเบี่ยงเบน มาตรฐาน (SD)	%RSD _R	%PRSD _R
Corn	0.7	0.63	0.0525	8.33	17.15
	5	4.63	0.3061	6.61	8.38
	10	9.49	0.6919	7.29	7.53
Poultry feed	0.7	0.62	0.0478	7.71	17.19
	5	4.56	0.1997	4.38	8.40
	10	9.27	0.4292	4.63	7.55
Soybean meal	0.7	0.63	0.0467	7.41	17.15
	5	4.60	0.1973	4.29	8.39
	10	9.42	0.6893	7.32	7.53

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย % recovery จากการทดสอบ

Sample	Mean of %Recovery		
	0.7 (mg/kg)	5 (mg/kg)	10 (mg/kg)
Corn	89.76	92.64	94.93
Poultry feed	88.84	91.16	92.68
Soybean meal	89.64	91.91	94.18

6. สรุปผลการทดลอง

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบตะกั่วในอาหารสัตว์ด้วยเครื่อง ICP-OES ตามวิธีที่ดัดแปลงมาจาก AOAC 984.27(2016) พบว่าได้ผ่านตามเกณฑ์การยอมรับตาม AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals โดยการทดสอบ Linearity ของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว Relative of determination (R^2) เท่ากับ 1 ความแม่นยำของวิธีประเมินได้จาก %Recovery เฉลี่ยของตะกั่วอยู่ในช่วง 88.84-94.93% ซึ่งเกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง 75-120% (AOAC International, 2002) ความเที่ยงประเมินจาก %RSD_R ซึ่ง %RSD_R ที่ได้จากการทดลองคือ 4.29-8.33% มีค่าไม่เกิน %PRSD_R ที่ได้จากการคำนวณ

7. ข้อเสนอแนะ

8. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายไพโรจน์ อารังโสภาส ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ และนางสุทธิพร พิริยาน รักษาการหัวหน้ากลุ่มตรวจสอบคุณภาพอาหารสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนการทำงานวิชาการและให้คำแนะนำแก้ไข

9. เอกสารอ้างอิง

9.1 ความรู้เกี่ยวกับสิ่งเป็นพิษ ตอนที่ 5 พ.ศ.2532 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หน้า1-8. เข้าถึงได้จาก http://webdb.dmssc.moph.go.th/ifc_toxic/a_txR_search.asp?info_id=41
เอกสารการฝึกอบรมแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว (A Practical Guide for Single Laboratory Method Validation of Chemical Method กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

9.2 เนาวรัตน์ สุธัฒนาพงษ์. 2559. พิษวิทยาทางการสัตวแพทย์. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

9.3 สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2548. ข้อกำหนดทั่วไปว่าด้วยความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบและห้องปฏิบัติการสอบเทียบ. มอก. 17025-2548.
AOAC 984.27 (2012)

9.4 วันดี ลือสายวงศ์, วีระ สอนไธสง และสุภาพร ไคว่นฤมิตร. 2560. เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร การตรวจสอบความสมเหตุสมผลของวิธีทางเคมี วันที่ 1 - 2 พฤศจิกายน 2560. กรมวิทยาศาสตร์บริการ, กรุงเทพฯ

9.5 วีรวรรณ เล็กสกุลไชย. 2558. ความเป็นพิษของสารและผลิตภัณฑ์เคมี. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

9.6 AOAC. 2016. AOAC Official Method 984.27 Calcium, Copper, Iron, Magnesium, Manganese, Phosphorus, Potassium, Sodium, and Zinc in Infant Formula Inductively Coupled Plasma Emission Spectroscopic Method. ch.50 pp. 17-18. AOAC Official Methods of Analysis. 20th ed. AOAC International. Gaithersburg. MD.

9.7 AOAC. 2002. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Association of Official Analytical Chemists. AOAC International. Arlington.

9.8 B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org.

9.9 European Commission. 2017. Commission Regulation (EU) 2017/2229 of 4 December 2017 amending Annex I to Directive 2002/32/EC of the European Parliament and of the Council as regards maximum levels for lead, mercury, melamine and decoquinate. Official Journal of the European Union L319:6-9.