การพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ด้วยเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy

สุวรรณี ศรีสุวรรณ* ทิพย์สุดา วรรณอินทร์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดในตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ โดยใช้เครื่อง direct mercury analyzer ซึ่งอาศัยเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy ผลการพัฒนาวิธี พบว่าสภาวะที่เหมาะสมประกอบด้วยการทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 200 °C เป็นเวลา 60 วินาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 650 °C ภายใน 120 วินาที และทำการสลายตัวอย่างที่อุณหภูมิ 650 °C เป็นเวลา 60 วินาที ประสิทธิภาพของเครื่องมือมีค่าความไวเท่ากับ 1 µg/L ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีพบว่า กราฟมาตรฐานมีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้นต่ำ 0–15 ng และช่วงความเข้มข้นสูง 30–500 ng โดยมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจคือ 0.9924 และ 0.9901 ตามลำดับ ค่าขีดจำกัดของการตรวจหาเท่ากับ 0.001 mg/kg สำหรับตัวอย่างทุกชนิด และค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดปริมาณเท่ากับ 0.002 mg/kg สำหรับตัวอย่างทุกชนิด ยกเว้นรังนกและน้ำนมโคดิบมีค่าเท่ากับ 0.004 mg/kg ความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัดอยู่ในช่วง 0.001-0.100 mg/kg สำหรับเนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ และแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ 0.004-0.100 mg/kg สำหรับน้ำนมโคดิบ 0.002–0.100 mg/kg (ช่วงต่ำ) และ 0.300–1.500 mg/kg (ช่วงสูง) สำหรับรังนก การประเมินความถูกต้องโดยวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงที่มีใบรับรองชนิด skimmed milk powder ERM-BD150 พบว่าค่าเฉลี่ยที่วิเคราะห์ได้ไม่แตกต่างจากค่าอ้างอิงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ผลการประเมินความถูกต้อง ความเที่ยงแบบการทวนซ้ำ และการทำซ้ำดำเนินการพร้อมกันในการศึกษาแบบห้องปฏิบัติการเดียว โดยใช้ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐานปรอทที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.010, 0.020 mg/kg สำหรับเนื้อสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ และแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ 0.002, 0.020, 0.040 mg/kg สำหรับเครื่องในสัตว์ 0.004, 0.010, 0.020 mg/kg สำหรับน้ำนมโคดิบ และ 0.004, 0.150, 0.300, 0.450 mg/kg สำหรับรังนก ผลการศึกษาพบว่า ค่า %mean recovery อยู่ในช่วง 86.09–103.22 ขณะที่ค่า $HORRAT_r$ และ $HORRAT_i$ มีค่าน้อยกว่า 2 ในทุกระดับความเข้มข้น ผลการศึกษาสรุปได้ว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ โดยให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องและความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตลอดช่วงความเข้มข้นที่ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ และสามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบความปลอดภัยของอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : การพัฒนาวิธี การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี ปรอททั้งหมด Direct mercury analyzer

เลขทะเบียนวิชาการ : 69(2)-0304-018

กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์
91 หมู่ 4 ถนนติวานนท์ ตำบลบางกะดี อำเภอเมืองปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี 12000
*ผู้รับผิดชอบ, e-mail: aonsuwannee.sri@gmail.com

Development and validation of an analytical method for total mercury in animal tissue and animal products by thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy

Suwannee Srisuwan* Tipsuda Wanna-in

Abstract

This study aimed to develop and validate a method for the determination of total mercury in animal tissue and animal products, including meat, offal, honey, eggs, bird's nests, raw cow's milk, and edible insects, using a direct mercury analyzer based on thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy. The optimized analytical conditions consisted of drying at 200 °C for 60 sec, followed by a temperature increase to 650 °C within 120 sec, and decomposition at 650 °C for 60 sec. The Instrument a sensitivity was 1 µg/L. The calibration curve exhibited good linearity over the ranges of 0–15 ng (low range) and 30–500 ng (high range), with coefficients of determination (r^2) of 0.9924 and 0.9901, respectively. The limit of detection (LOD) was 0.001 mg/kg for all matrices. The limit of quantitative determination (LOQ) was 0.002 mg/kg for all sample types, except for bird's nests and raw cow's milk, for which the LOQ was 0.004 mg/kg. The working linear ranges were 0.001–0.100 mg/kg for meat, offal, honey, eggs, and insects; 0.004–0.100 mg/kg for raw cow's milk; and 0.002–0.100 mg/kg (low range) and 0.300–1.500 mg/kg (high range) for bird's nests. Trueness was evaluated using the certified reference material (CRM) ERM-BD150 skimmed milk powder. The experimental mean value was not significantly different from the certified value at the 95% confidence level. Method validation for trueness, repeatability and intermediate precision was conducted simultaneously in a single-laboratory study using fortified samples. Spiking levels were 0.002, 0.010, and 0.020 mg/kg for meat, honey, eggs, and insects; 0.002, 0.020, and 0.040 mg/kg for offal; 0.004, 0.010, and 0.020 mg/kg for raw cow's milk; and 0.004, 0.150, 0.300, and 0.450 mg/kg for bird's nests. Mean recoveries ranged from 86.09% to 103.22%, while $HORRAT_r$ and $HORRAT_i$ values were less than 2 at all concentration levels. The results indicate that the proposed method is suitable for the determination of total mercury in animal tissue and animal products, providing acceptable trueness and precision throughout the validated concentration ranges. The method can be effectively applied for food safety monitoring.

Keyword: Method development, Method validation, Total mercury, Direct mercury analyzer

Registered No.: 69(2)-0304-018

Veterinary Public Health Laboratory, Bureau of Quality Control of Livestock Products

91 Moo. 4 Tiwanont Bangkadi Mueang Pathumthani 12000

*Corresponding author: e-mail: aonsuwannee.sri@gmail.com

บทนำ

ปรอท (mercury) เป็นธาตุโลหะหนักชนิดหนึ่ง มีสัญลักษณ์ทางเคมี คือ Hg และมีเลขอะตอม 80 โดยทั่วไปในสิ่งแวดล้อมสามารถพบปรอทได้ 3 ลักษณะ คือ 1) ปรอทบริสุทธิ์ (elemental หรือ metallic mercury) มีลักษณะโลหะสีขาวมันวาว เป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้อง ในอดีตใช้ใน thermometer หลอดไฟ และสวิตช์ไฟ 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 มีผลต่อสุขภาพทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง หากหายใจสูดไอปรอทเข้าไปในร่างกาย ทำให้เกิดอาการไอ หอบเหนื่อย แน่นหน้าอก หนาวสั่น 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)

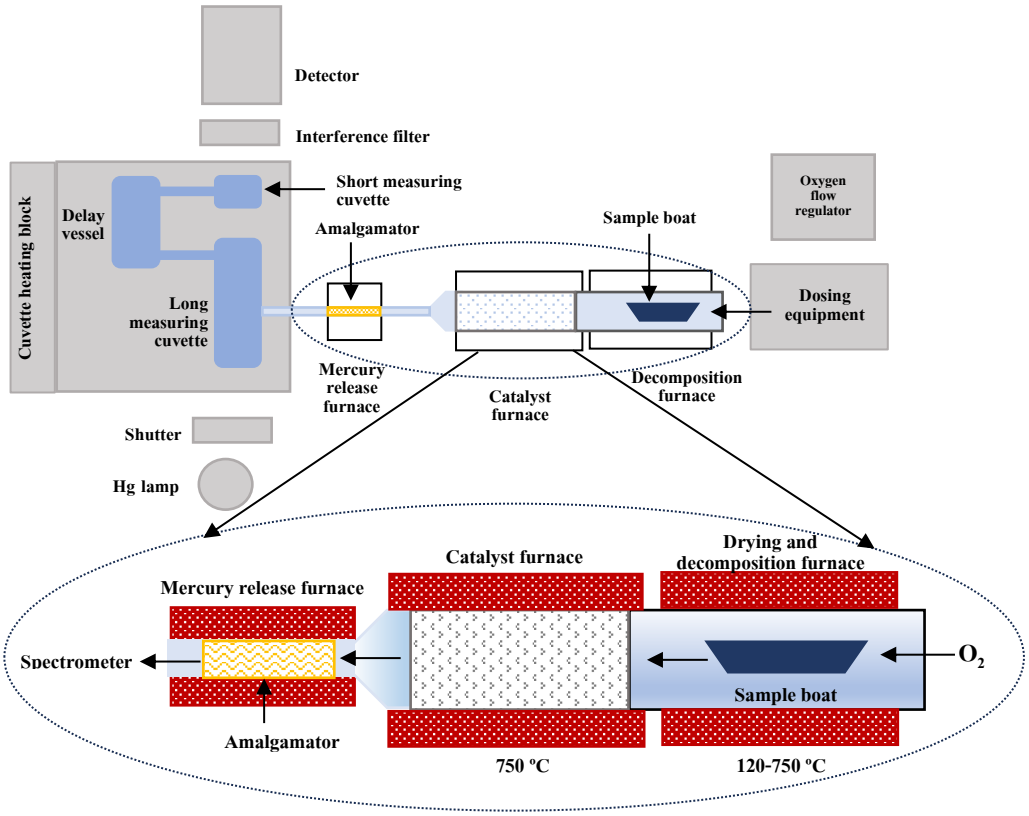
เนื่องจากปรอทเป็นโลหะที่มีความเป็นพิษสูง ความรุนแรงของอาการขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของปรอทที่สัมผัส ดังนั้นจึงมีการกำหนดเกณฑ์ค่าการตกค้างหรือปนเปื้อนของปรอทที่เป็นผลรวมของสารประกอบปรอท (total mercury) ในอาหารไว้เพื่อความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค เช่น สหภาพยุโรปได้กำหนดเป็นปริมาณการตกค้างสูงสุด (maximum residue level, MRL) ของปรอทในสินค้าปศุสัตว์ประเภทต่าง ๆ ใน Commission Regulation (EU) No 2018/73 of 16 January 2018 เช่น ประเภทผลิตภัณฑ์จากสัตว์-สัตว์บก (products of animal origin-terrestrial animals) ได้แก่ สุกร สัตว์ปีก แพะ แกะ โค-กระบือ ม้า ไม่เกิน 0.01 mg/kg ในกล้ามเนื้อ 0.02 mg/kg ในเครื่องในสัตว์ที่บริโภคได้ ประเภทสัตว์บกที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (terrestrial invertebrate animals) เช่น แมลง หนอน ประเภทน้ำผึ้งและผลิตภัณฑ์จากการเลี้ยงผึ้ง (honey and other apiculture products) ประเภทนมจากโค กระบือ แพะ แกะ ม้า และประเภทไข่จากไก่ เป็ด ห่าน นกกระทา ไม่เกิน 0.01 mg/kg (European Commission, 2018) สาธารณรัฐประชาชนจีนได้กำหนดค่าเป็นขีดจำกัดการปนเปื้อนสูงสุด (maximum contaminant limit, ML) ของปรอททั้งหมดในอาหารประเภท health foods ใน GB 16740-2014 National Food Safety Standards Health Food

ไม่เกิน 0.3 mg/kg (Ministry of Health of the People's Republic of Chaina, 2014) สำหรับประเทศไทยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 414 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน พ.ศ. 2563 สำหรับอาหารอื่นนอกจากปลา อาหารทะเล ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเกลือบริโภค กำหนดให้มีปริมาณปรอทปนเปื้อนได้ไม่เกิน 0.02 mg/kg (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2563)

ประเทศไทยมีการส่งออกสินค้าปศุสัตว์ เช่น สัตว์ปีก ไข่ไก่ น้ำผึ้ง ไปยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป และสหภาพยุโรปมีการกำหนดให้ต้องมีการเฝ้าระวังสารตกค้างในสินค้าปศุสัตว์ โดยวิธีที่ใช้วิเคราะห์ต้องผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี และห้องปฏิบัติการต้องได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025 กรมปศุสัตว์ซึ่งมีอำนาจหน้าที่ในการกำกับ ดูแลและรับรองการส่งออกสินค้าปศุสัตว์ของประเทศ จึงกำหนดแผนการเฝ้าระวังสารตกค้างในสินค้าปศุสัตว์ประจำปี นอกจากนี้ยังมีการส่งออกรังนกไปประเทศจีน ซึ่งเป็นสินค้าที่มีมูลค่าสูง จึงจำเป็นต้องได้รับการตรวจรับรองคุณภาพก่อนส่งออก รวมถึงยังมีสินค้าปศุสัตว์อื่น ๆ ได้แก่ จิ้งหรีด ซึ่งถือเป็นอาหารใหม่ (novel food) มีความน่าสนใจและเป็นสินค้าที่มีแนวโน้มในการเติบโตที่สูงมาก (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2562) และกระทรวงเกษตรและสหกรณ์มีนโยบายสนับสนุนให้ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางผลิตแมลง "ฮับแมลงโลก" รับเทรนด์อุตสาหกรรม novel food จิ้งหรีดเป็นตัวเลือกแมลงที่เหมาะสมที่สุดเพื่อเป็นแมลงเศรษฐกิจตัวใหม่เพื่อสร้างรายได้แก่ประเทศและเกษตรกรของไทย (กรมปศุสัตว์, 2564) ส่วนน้ำนมดิบนั้น ผลผลิตน้ำนมดิบของไทยใช้สำหรับแปรรูปภายในประเทศทั้งหมด โดยใช้ในอุตสาหกรรมนมพร้อมดื่มและนมโรงเรียน (คณะทำงานทบทวนยุทธศาสตร์พัฒนาโคนมและผลิตภัณฑ์นมฯ, 2564) ซึ่งสินค้าดังกล่าว จำเป็นต้องมีการเฝ้าระวังการปนเปื้อนของปรอทเพื่อให้เป็นไปตามกฎหมายที่เกี่ยวข้อง มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ สำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ (สตส.) ซึ่งมีหน้าที่ในการตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ จึงต้องทำการพัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณปรอททั้งหมดในสินค้าปศุสัตว์ จึงได้ศึกษาวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดและตรวจสอบว่าเทคนิคใดที่เหมาะสมกับเกณฑ์ค่า MRL/ML ในสินค้าปศุสัตว์ พบว่ามีเทคนิคต่าง ๆ เช่น UV spectrophotometry, atomic absorption spectrometry (AAS), atomic fluorescence spectrometry (AFS), inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES) และเทคนิค inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) เป็นต้น การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคเหล่านี้ ตัวอย่างต้องทำให้อยู่ในลักษณะสารละลายใส โดยวิธี dry ashing หรือ wet digestion ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงและเวลานานเพื่อกำจัดหรือย่อยสารอินทรีย์ ก่อนนำไปวิเคราะห์ ซึ่งไม่เหมาะสำหรับการวิเคราะห์ปรอทในระดับต่ำ เนื่องจากปรอทสามารถระเหยได้ที่อุณหภูมิสูง และยังต้องใช้สารละลายกรดเข้มข้นในกระบวนการเตรียมตัวอย่างเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์ สำหรับเทคนิค ICP-MS แม้ว่าจะเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถวิเคราะห์หาโลหะหนักได้ในปริมาณต่ำระดับ parts per trillion (ppt) หลายชนิดพร้อมกัน และให้ผลวิเคราะห์ที่มีความถูกต้อง แม่นยำสูง แต่การใช้ ICP-MS ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างมีข้อจำกัดเนื่องจากมี memory effect สูง ซึ่งเกิดขึ้นในส่วนระบบนำเข้าสารละลายตัวอย่าง (sample introduction) spray chamber และ nebulizer จึงส่งผลให้การสร้างกราฟมาตรฐานไม่เป็นเส้นตรงและทำให้ค่าความไวลดลง ต้องใช้เวลาในการล้างระบบที่นานขึ้นเพื่อลดหรือกำจัด memory effect (Yufeng *et al.*, 2005)

นอกจากนี้ยังมีการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมด (organic และ inorganic mercury) โดยใช้เครื่อง direct mercury analyzer (DMA) ซึ่งเป็นเทคนิค thermal decomposition amalgamation atomic absorption spectroscopy (TDA-AAS) คือการสลายตัวอย่างด้วยความร้อนเพื่อให้เกิดเป็นไอของปรอท และตรวจวัดด้วยเทคนิค AAS โดยตัวอย่างจะถูกทำให้แห้ง (drying) และเผาภายใต้บรรยากาศของออกซิเจน (decomposition) เพื่อย่อยสลายตัวอย่าง สารที่ได้จากการเผาทั้งหมดจะถูกส่งไปยัง catalyst ซึ่งทำหน้าที่ดักจับสารประกอบอินทรีย์ น้ำ ธาตุกลุ่มฮาโลเจน ไนโตรเจน ซัลเฟอร์ออกไซด์ รวมทั้งรีดิวซ์ปรอทให้อยู่ในรูป Hg^0 จากนั้นไอของปรอทถูกนำพาโดยออกซิเจนไปยัง amalgamator ซึ่งมีความจำเพาะต่อสารปรอท และจากนั้นจึงให้ความร้อนอย่างรวดเร็วอีกครั้งในส่วนของ amalgamator เพื่อปลดปล่อยไอปรอทไปยังส่วนการวัดการดูดกลืนแสงที่ 253.7 nm (U.S.EPA., 2007) ขั้นตอนแสดงดังรูปที่ 1 ซึ่งวิธีนี้เป็นทางเลือกที่ดี เนื่องมีความจำเพาะกับปรอท สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งตัวอย่างของแข็งและของเหลว ไม่จำเป็นต้องมีการเตรียมตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ และมีค่า detection limit ที่ดี (Ferreira *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2020) รวมทั้งเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับ และสอดคล้องตามวิธีวิเคราะห์ U.S.EPA. 7473



รูปที่ 1 Diagram of the mercury analysis system (ดัดแปลงจาก U.S.EPA., 2007)

ในปัจจุบันการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเทคนิค TDA-AAS โดยใช้เครื่อง DMA ได้รับความความนิยมนำมาใช้วิเคราะห์ทั้งในตัวอย่างอาหาร อาหารสัตว์ และตัวอย่างด้านสิ่งแวดล้อม โดยมีรายงานศึกษาการวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีหาปริมาณปรอททั้งหมดในตัวอย่างอาหารด้วยเครื่อง DMA ซึ่งสามารถสรุปข้อมูลได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ข้อมูลการวิเคราะห์และตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีปริมาณปรอททั้งหมดในอาหารด้วยเครื่อง DMA

Reference	Sample types	Weight (mg)	Condition	Method performance	DMA Model
เขมิกา และ นิรันดร, (2558)	อาหารทะเล	100	drying 200 ℃, 120 sec heat & purge 650 ℃, 240 sec	LOD 0.001 mg/kg LOQ 0.01 mg/kg WR 0.01–1.0 mg/kg	Milestones รุ่น DMA-80 wide range
นภาพร และ นภา, (2561)	ข้าวเจ้า	200	dry 180 ℃ decomposition 850 ℃	NA	NIC รุ่น MA-3000
Nawrocka *et al*. (2020)	กล้ามเนื้อ และตับของไก่ โค สุกร สุกรป่าและสัตว์ตระกูลกวาง	NA	NA	LOQ 1 µg/kg	Milestone รุ่น DMA-80 และ Leco รุ่น AMA-254
Alvarez *et al*. (2023)	ไข่	NA	amalgamator 650 ℃	NA	Milestone รุ่น DMA-80
Nava *et al*. (2023)	เนื้อสัตว์แปรรูปและอาหารที่ผลิตจากปลา	100	decomposition 650 ℃, 4-5 min	LOD 1 µg/kg LOQ 3 µg/kg	Milestones รุ่น DMA-80
Neto *et al*. (2024)	เนื้อปลา	100	decomposition 650 ℃, 180 sec	detection limit 0.01 ng	Milestone รุ่น DMA-80
Silva *et al*. (2025)	น้ำผึ้ง	100	drying 250 ℃, 1 min decomposition 650 ℃, 1 min	LOD 0.01 ng/g LOQ 0.03 ng/g	Milestone รุ่น DMA-80 Tricell

หมายเหตุ: NA = Not available, WR = Working range

จากตารางที่ 1 เครื่อง DMA ที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 และห้องปฏิบัติการกลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์ฯ มีเครื่อง DMA ยี่ห้อเดียวกัน รุ่น DMA-80 evo จึงได้ศึกษาข้อแนะนำการใช้อุณหภูมิและเวลาในการ drying และ decomposition ในตัวอย่างอาหารจากคู่มือการใช้งานของเครื่อง DMA ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 (Milestone, n.d.) และรุ่น DMA-80 evo (Milestone, n.d.) สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การใช้อุณหภูมิและเวลาในการ drying และ decomposition เครื่อง DMA ยี่ห้อ Milestone

Sample types	Weight (mg)	Drying Temp/Time	Decomposition Ramp	Decomposition Hold	DMA Model
น้ำนม	100	60 sec at 300 ℃	60 sec to 850 ℃	150 sec at 850 ℃	DMA-80
	100	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo
น้ำผึ้ง	80-100	60 sec at 300 ℃	60 sec to 850 ℃	150 sec at 850 ℃	DMA-80
	100	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo
ปลา	10-270	70 sec at 160 ℃	60 sec to 850 ℃,	150 sec at 850 ℃	DMA-80
	270	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo
กล้ามเนื้อและตับโค	200-250	60 sec at 300 ℃	60 sec to 850 ℃	180 sec at 850 ℃	DMA-80
	250	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo
เนื้อสด	120-180	120 sec at 300 ℃	60 sec to 850 ℃	150 sec at 850 ℃	DMA-80
	180	120 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo
ไข่	20-50	60 sec at 300 ℃	60 sec to 850 ℃	150 sec at 850 ℃	DMA-80
	50	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃	DMA-80 evo

จากข้อมูลในตารางที่ 1 และ 2 พบว่ามีความแตกต่างของสภาวะที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ในแต่ละชนิดตัวอย่าง โดยช่วงอุณหภูมิและเวลาสำหรับ drying ที่ 180-300 ℃ นาน 60-120 วินาที ช่วงอุณหภูมิสำหรับ decomposition ที่ 650–850 ℃ นาน 60-300 วินาที สำหรับตัวอย่างแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ และรังนก ยังไม่มีข้อมูลการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเทคนิค TDA-AAS ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงจะพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเทคนิค TDA-AAS ในตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ ได้ด้วยเครื่อง Milestone รุ่น DMA-80 evo โดยหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทุกชนิดตัวอย่างด้วยสภาวะเดียวกัน เพื่อความสะดวกและง่ายต่อการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อได้วิธีที่เหมาะสมจึงตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีตามแนวทางของ Eurachem Guide (Cantwell, 2025) โดยทำการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธี (performance characteristics) ได้แก่ ความสัมพันธ์เชิงเส้น (linearity) ขีดจำกัดของการตรวจหา (limit of detection, LOD) ขีดจำกัดของการวัดปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) ความแม่น (accuracy) ซึ่งประกอบด้วย ค่าความถูกต้อง (trueness) และความเที่ยง (precision) ซึ่งครอบคลุมค่า MRL ในสินค้าปศุสัตว์ตามที่สหภาพยุโรปกำหนด สำหรับตัวอย่างรังนกนั้น ไม่มีหน่วยงานใดที่กำหนดค่ามาตรฐานการปนเปื้อนของปรอท จึงใช้ค่าที่สาธารณรัฐประชาชนจีนกำหนดในสินค้าประเภท health food เป็นค่าเป้าหมายสำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เนื่องจากชาวจีนนิยมบริโภครังนกเป็นอาหารเสริมบำรุงร่างกาย โดยมีความเชื่อว่ารังนกมีสรรพคุณทางยา และยังมีข้อมูลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนว่ารังนกอาจให้ประโยชน์ทางการแพทย์ รวมถึงการปรับปรุงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน การฟื้นฟูผิว และการเสริมสร้างความแข็งแรงของกระดูก (Chua and Zukefli, 2016) เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีวิเคราะห์มีความเหมาะสมสำหรับใช้ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างในห้องปฏิบัติการ สำหรับเฝ้าระวังปรอทปนเปื้อนในสินค้าปศุสัตว์ที่ส่งออกและบริโภคภายในประเทศ รวมทั้งใช้ข้อมูลผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีประกอบการขอยื่นรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการทดสอบ ISO/IEC 17025 เพื่อสร้างความน่าเชื่อถือให้แก่ผู้ใช้ผลวิเคราะห์และประเทศคู่ค้า

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1 เครื่อง direct mercury analyzer ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 evo

1.2 เครื่องชั่งอิเล็กทรอนิกส์ ความละเอียด 0.0001 กรัม

1.3 Micropipette ขนาด 1-10 µL, 10-100 µL, 100 -1000 µL และ 500-5000 µL

1.4 Sample boat ชนิด quartz ปริมาตร 1.5 mL

2. สารเคมี สารมาตรฐาน และวัสดุอ้างอิงรับรอง

2.1 สารเคมี

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

2.1.2 Hydrochloric acid (HCl), conc. 34–37% (w/v): trace metal grade ยี่ห้อ Fisher Scientific

2.1.3 น้ำบริสุทธิ์สูง (high purity water) ที่มีค่าความต้านทานไม่น้อยกว่า 18.2 Ω..cm^{-1}

2.1.4 แก๊สออกซิเจนความบริสุทธิ์ $\geq$ 99.95% พร้อมหัวปรับแรงดัน (regulator)

2.1.5 สารละลาย 1% (v/v) HCl

ปิเปต conc. HCl ปริมาตร 10 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 mL ที่มีน้ำบริสุทธิ์สูงอยู่ประมาณ 500 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์สูงให้ถึงขีด แล้วเขย่าให้เข้ากัน

2.2 สารมาตรฐาน

2.2.1 สารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1,000 µg/mL ใน 2% HNO_3 ยี่ห้อ Accu Standard

2.2.2 สารละลายมาตรฐาน intermediate standard solution ความเข้มข้น 5 µg/mL

เตรียมโดยปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 1,000 µg/mL ปริมาตร 0.5 mL ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 mL เติม HNO_3 ปริมาตร 2 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำบริสุทธิ์สูง ให้ครบ 100 mL เสร็จแล้วถ่ายใส่ขวดพลาสติกขนาด 125 mL

2.2.3 สารละลายมาตรฐาน working standard solution ความเข้มข้น 0.1–5,000 µg/L

เตรียมสารละลายมาตรฐาน working standard solution ความเข้มข้น 0.1–5,000 µg/L โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอทใส่ขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตรด้วย 1% HCl ซึ่งจะมีปริมาณ Hg ในปริมาตร 100 µL สำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DMA ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน working standard solution

สารละลายมาตรฐาน Hg	ปริมาตรที่ปิเปต (µL)	ปรับปริมาตรด้วย 1% HCl (mL)	Working Conc. (µg/L)	ปริมาณ Hg (ng) ใน Working Std. ปริมาตร 100 µL
	20	10	0.1	0.01
Working 50 µg/L	60	10	0.3	0.03
	100	10	0.5	0.05
	10	50	1	0.1
	20	50	2	0.2
	10	10	5	0.5
	20	10	10	1.0
	40	10	20	2.0
	100	10	50	5.0
Intermediate	200	10	100	10.0
5 µg/mL	300	10	150	15.0
	600	10	300	30.0
	1200	10	600	60.0
	1500	10	750	75.0
	2000	10	1000	100.0
	3000	10	1500	150.0
	5000	10	2500	250.0
Stock 1,000 µg/mL	250	50	5000	500.0

3. ตัวอย่างที่ใช้พัฒนาและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

3.1ตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อไก่เป็นตัวแทนของเนื้อสัตว์ ตับไก่เป็นตัวแทนของเครื่องในสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และจิ้งหรีดเป็นตัวแทนของกลุ่มแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ ใช้เป็นตัวอย่าง sample blank (SB) ตัวอย่างแต่ละชนิด มีการเตรียม การเก็บรักษา น้ำหนักที่ชั่งสำหรับวิเคราะห์ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเตรียม การเก็บรักษา และน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งสำหรับวิเคราะห์

ชนิดตัวอย่าง	การเตรียม	การเก็บรักษา	น้ำหนัก (mg)
เนื้อไก่ ตับไก่ ไข่ จิ้งหรีด	บดให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน	อุณหภูมิสูงไม่เกิน -16 ℃	100 $\pm$ 1
รังนก	คนให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน	อุณหภูมิห้อง	100 $\pm$ 1
น้ำผึ้ง	คนให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน	อุณหภูมิห้อง	100 $\pm$ 1
น้ำนมโคดิบ	คนให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน	อุณหภูมิ 0 – 4 ℃	50 $\pm$ 1

3.2 วัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material, CRM)

Skimmed milk powder ERM-BD150 มีค่าปรอทในช่วง 0.060 $\pm$ 0.007 mg/kg

4. การตรวจสอบประสิทธิภาพเครื่อง DMA

4.1การตั้งค่าเครื่อง DMA-80 evo (Milestone, 2024)

wavelength: 253.65 nm

oxygen gas: pressure 4 bar (~60 psi), flow rate 6-8 l/hr

thermal process :

start temp	10 sec to 200 ℃
drying temp/time	60 sec at 200 ℃
decomposition ramp	120 sec to 650℃
decomposition hold	60 sec at 650 ℃

catalyst temp:	565 ℃
purge time:	60 sec
amalgamator heating temp:	850 ℃
amalgamator heating time:	12 sec
signal recording time:	30 sec
cuvette temp:	125 ℃

4.2 การหาช่วงความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (linear range of calibration curve)

4.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน working standard solution จากข้อ 2.2.3 ความเข้มข้น 1-5,000 µg/L ความเข้มข้นละ 100 µL ใส่ลงใน sample boat แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงแต่ละความเข้มข้น

4.2.2 สร้างกราฟด้วยโปรแกรมควบคุมการทำงานของเครื่อง DMA โดยให้แกน x เป็นปริมาณปรอท (ng) และแกน y เป็นค่าการดูดกลืนแสง (absorbance, Abs)

4.2.3 ตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (correlation of determination, r^2) เกณฑ์ยอมรับของค่า $r^2 \geq 0.99$ (U.S. Food and Drug Administration, 2023)

4.3 การหาค่าความไว (sensitivity)

วิเคราะห์หาค่าความไว เพื่อตรวจสอบว่าเครื่องมือมีความพร้อมและเหมาะสมสำหรับการใช้งานวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่าง โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน working standard solution ความเข้มข้น 0.1, 0.3, 0.5 และ 1 µg/L ที่เตรียมได้จากข้อ 2.2.3 ปริมาตร 100 µL ใส่ sample boat แล้ววัดค่า Abs จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณ mean และ standard deviation (SD) ของค่า Abs พิจารณาจากค่า Abs ของสารละลายมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้นใดมีค่าสูงกว่า 0.003 Abs (Milestone, 2024)

5. การพัฒนาวิธี

การหาสภาวะของเครื่อง DMA ที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างในขั้นตอน thermal process โดยศึกษาค่าอุณหภูมิและเวลาของการ drying และ decomposition จำนวน 4 วิธี ดังตารางที่ 5 และเปรียบเทียบผลการศึกษาด้วยการวิเคราะห์ตัวอย่าง spiked (SPK) โดยเติมสารละลายมาตรฐานปรอทลงใน SB ที่ระดับความเข้มข้น MRL/ML ของแต่ละชนิดตัวอย่าง ตัวอย่างละ 7 ซ้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐาน ตามข้อ 4.2 คำนวณหาค่า % mean recovery (%MR) เกณฑ์การยอมรับต้องอยู่ในช่วง 60-115 สำหรับช่วงความเข้มข้น 0.001 mg/kg ถึง < 0.100 mg/kg และ 80-110 สำหรับช่วงความเข้มข้น 0.100 mg/kg ถึง < 10 mg/kg ตามเกณฑ์ที่ระบุใน Codex Alimentarius Commission Procedural Manual, Codex (FAO and WHO, 2025)

ตารางที่ 5 อุณหภูมิและเวลาในการ drying และ decomposition

Method	Drying Temp/Time	Decomposition Ramp	Decomposition Hold
1	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃
2	60 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	90 sec at 650 ℃
3	120 sec at 200 ℃	120 sec to 650 ℃	60 sec at 650 ℃
4	60 sec at 200 ℃	120 sec to 700 ℃	60 sec at 700 ℃

%Recovery = $\left[CF/(CA+CU)\right] \times 100$ (AOAC, 2023)

โดย CF (conc. found) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่มีการเติม

CU (conc. unspiked) คือ ความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ได้ในตัวอย่างที่ไม่ได้เติม

CA (conc. added) คือ ความเข้มข้นของสารที่เติมลงไป

6. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

6.1 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of quantitation (LOQ)

6.1.1 วิเคราะห์ SB ตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ น้ำนม รังนก และจิ้งหรีดชนิดละ 10 ซ้ำ คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย และ S_0 ของผลวิเคราะห์ แล้วคำนวณหาค่า LOD และประมาณค่า LOQ จากสูตร

LOD = $3S_0'$ และ LOQ = $10S_0'$ (Eurachem Guide, 2025)

เมื่อ $S_0' = \frac{S_0}{\sqrt{n}}$ และ S_0 = standard deviation (SD) จากการวิเคราะห์ซ้ำ

n = จำนวนซ้ำในการวิเคราะห์ตัวอย่าง routine (n = 1)

6.1.2 การยืนยันค่า LOQ

ชั่ง SB ชนิดตัวอย่างละ 12 ซ้ำ กำหนดให้เป็น SB ชนิดละ 2 ซ้ำ ส่วนที่เหลือนำไปเตรียมเป็น SPK โดยเติมสารละลายมาตรฐานปรอทเพิ่มลงไปให้มีความเข้มข้นเท่ากับ LOQ หรือใกล้เคียงค่า LOQ จากข้อ 6.1.1 คำนวณหาค่าเฉลี่ย และ SD ของความเข้มข้น, %MR, %repeatability (%RSD_r), predicted relative standard deviation ($PRSD_r$) และค่า HORRAT ประเมินค่าความถูกต้อง (trueness) จาก %MR โดยพิจารณาตามเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025) และประเมินความเที่ยงแบบทวนซ้ำได้ (repeatability) โดยเกณฑ์การยอมรับ $HORRAT_r < 2$ (European Commission, 2024)

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

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

เมื่อ C คือ concentration ratio

$$HORRAT_r = \frac{RSD_r}{PRSD_r}$$

6.2 การทดสอบความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัด (working range)

ศึกษาความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัด โดยวิเคราะห์ SPK 7 ระดับความเข้มข้น ให้ครอบคลุมปริมาณของ MRL/ML ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (แกน y) กับ ค่าความเข้มข้นในตัวอย่าง (แกน x) หาค่า r^2 โดยกำหนดเกณฑ์ยอมรับของค่า $r^2 \geq 0.99$ (U.S. Food and Drug Administration, 2023)

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

6.3.1 วิเคราะห์ตัวอย่าง CRM ชนิด skimmed milk powder ERM-BD150 จำนวน 10 ซ้ำ เพื่อหาค่าปริมาณของปรอททั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐาน ประเมินค่าความถูกต้องด้วยการตรวจสอบค่าโอนเอียง (bias) โดยสถิติ t-test ด้วยการคำนวณหาค่า t_{cal} เปรียบเทียบกับค่า t_{crit} จากตารางการแจกแจง t ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และ degree of freedom (df) เท่ากับ n-1

$$\text{โดยที่} \quad t_{cal} = \frac{(\bar{x}-\mu)}{SD/\sqrt{n}}$$

เมื่อ $\bar{x}$ คือ ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ CRM

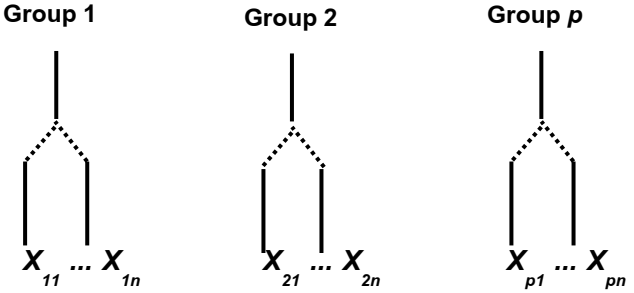
μ คือ true value หรือ certified value

SD คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

n คือ จำนวนซ้ำ, n=10

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

6.3.2.1 วิเคราะห์ SPK อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ครอบคลุมค่า MRL/ML แต่ละระดับความเข้มข้นวิเคราะห์ 8 กลุ่ม (*p*) โดยนักวิเคราะห์ 4 คน วิเคราะห์คนละ 2 ซ้ำ (n) และวิเคราะห์ 2 วัน ตาม nested design ดังรูปที่ 2



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

6.3.2.2 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 6

ตารางที่ 6 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)

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

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

6.3.2.4 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

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

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

7. การเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญ (proficiency testing)

สมัครเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญปริมาณปรอทในตัวอย่างอาหารประจำปี 2568 กับหน่วยงาน FAPAS ประเทศอังกฤษ จำนวน 3 รายการ คือ ตัวอย่าง offal (liver), milk powder และ insect protein (meal)

ผลและวิจารณ์

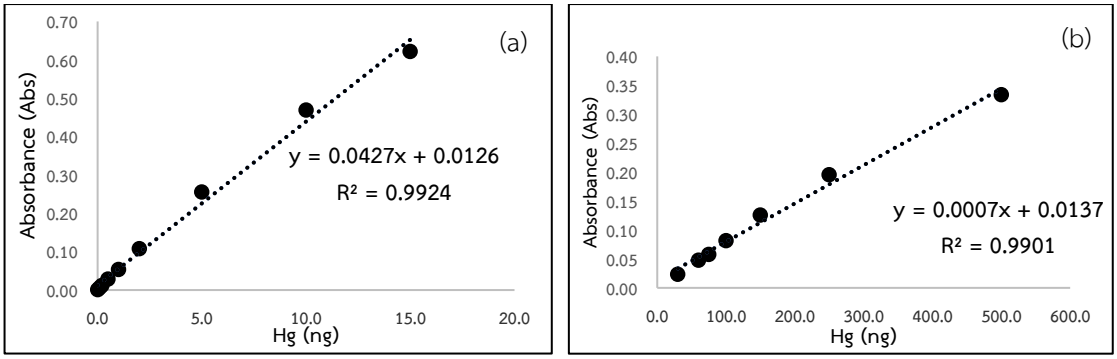
1. การตรวจสอบประสิทธิภาพเครื่อง Direct Mercury Analyzer

1.1 ผลทดสอบความเข้มข้นที่ให้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง (linear range of calibration curve)

จากการวัดค่า Abs ของสารละลายมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้น 1-5,000 µg/L ด้วยเครื่อง DMA พบว่าเครื่อง DMA อ่านค่าการดูดกลืนแสงของปรอทเป็น 2 ช่วง คือ 0–15 ng หรือ 0-150 µg/L ในช่วงความเข้มข้นต่ำ (low range) และ 30–500 ng หรือ 300–5,000 µg/L ในช่วงความเข้มข้นสูง (high range) ดังตารางที่ 7 และเมื่อสร้างกราฟมาตรฐานความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณปรอททั้งหมด (ng) กับค่าการดูดกลืนแสง (Abs) ทั้ง 2 ช่วงมีความเป็นเส้นตรง ได้ค่า r^2 เท่ากับ 0.9924 และ 0.9901 ตามลำดับ ดังรูปที่ 3(a) และ 3(b) โดยค่า r^2 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ คือ ≥ 0.990 (U.S. Food and Drug Administration, 2023)

ตารางที่ 7 ผลทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linear range of calibration curve)

Conc. (µg/L)	Hg mass (ng) ใน 100 µL	Cell	Abs
0	0.0	1	0.0010
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
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



รูปที่ 3 กราฟความเป็นเส้นตรงของช่วงปริมาณปรอท (a) 0-15 ng (low range, Cell 1), (b) 30–500 ng (high range, Cell 2)

ในการที่เครื่อง DMA อ่านค่าการดูดกลืนแสงของปรอทเป็น 2 ช่วง เนื่องจากเครื่องมือประกอบด้วย Cell วัดการดูดกลืนแสง 2 ส่วน คือ Cell 1 หรือ long pathlength absorbance cell และ Cell 2 หรือ short pathlength absorbance cell โดยไอของปรอทในปริมาณที่เท่ากันจะถูกวัดการดูดกลืนแสงผ่านทั้ง 2 Cell จาก Cell 1 ไป Cell 2 ด้วยความไวที่แตกต่างกัน (U.S. EPA., 2007) ซึ่ง Cell 1 มี pathlength ที่ยาวกว่า ทำให้ปรอทอยู่ใน Cell ได้นานจึงสามารถตรวจพบปรอทได้ละเอียด ทำให้ detection limit ต่ำกว่า จึงเหมาะสำหรับตรวจวัดปริมาณปรอทในช่วงต่ำ ส่วน Cell 2 มี pathlength ที่สั้นกว่า detection limit จึงสูง จึงเหมาะสำหรับตรวจวัดปริมาณปรอทในช่วงสูง สำหรับการคำนวณผลการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่าง เครื่อง DMA จะคำนวณอัตโนมัติจากสัญญาณที่อ่านได้จาก Cell วัดการดูดกลืนแสงที่ค่า Abs สูงสุดไม่เกิน 0.85 Abs (Milestone, 2024) ดังนั้นในกรณีที่การวิเคราะห์ตัวอย่างในงานประจำ แล้วพบว่ามีความความเข้มข้นของปรอทที่ประมาณ > 15 ถึง < 30 ng ซึ่งอยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐานที่ไม่มีความเป็นเส้นตรงต่อเนื่องกันระหว่าง Cell 1 และ Cell 2 ต้องมีการตรวจสอบยืนยันค่าโดยการเพิ่มหรือลดปริมาณตัวอย่างให้อยู่ในช่วงที่กราฟมีความเป็นเส้นตรงของ Cell 1 หรือ Cell 2 พร้อมกับวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพควบคู่ไปด้วย

จากกราฟมาตรฐานที่ได้ตามรูปที่ 3(a) และ 3(b) มีความเหมาะสมและครอบคลุมค่า MRL/ML ของสินค้าปศุสัตว์ สามารถกำหนดเป็น primary calibration จึงไม่จำเป็นต้องมีการวัดและสร้างกราฟมาตรฐานใหม่ทุกครั้งที่มีการวิเคราะห์ตัวอย่าง แต่จะต้องตรวจสอบ primary calibration ก่อนการใช้งานทุกครั้ง (daily calibration) เพื่อให้มั่นใจว่ากราฟมาตรฐานยังคงใช้งานได้ ด้วยการวัดสารละลายมาตรฐานปรอท 1 ความเข้มข้น ที่อยู่ในช่วงความเข้มข้นของ primary calibration ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐานต้องอยู่ในเกณฑ์ ±10 % ของค่าความเข้มข้นจริง ถ้าผลที่ได้เกินจากที่กำหนด ต้องทำการวัดและสร้างกราฟมาตรฐานใหม่ หรือกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ของเครื่องมืออย่างมีนัยสำคัญ เช่น เปลี่ยน catalyst หรือ amalgamator เป็นต้น แล้วพบว่าผลการตรวจสอบความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานไม่อยู่ในเกณฑ์ ต้องมีการสร้าง primary calibration ใหม่เช่นกัน (U.S. EPA., 2007) สำหรับเครื่อง DMA ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 evo กำหนดให้ทดสอบสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 100 µg/L (10 ng) จำนวน 5 ซ้ำ และ ค่า %RSD ต้องน้อยกว่า 1.5% (Milestone, 2024)

1.2 ผลการหาค่าความไว (sensitivity)

จากการทดสอบวัดค่า Abs ของสารละลายมาตรฐานปรอทความเข้มข้น 0.1-1 µg/L ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ เพื่อหาค่าความไวของเครื่อง DMA ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานปรอท

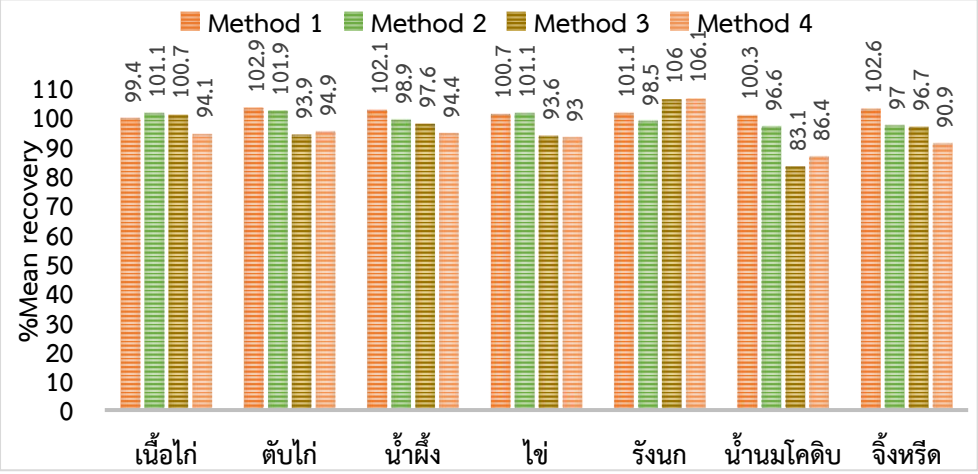
Mercury	Conc. (µg/L)			
	0.1	0.3	0.5	1
Mean (Abs)	0.0009	0.0019	0.0030	0.0047
SD (Abs)	0.0001	0.0002	0.0004	0.0002

จากตารางที่ 8 พบว่าค่าความเข้มข้นต่ำสุดของปรอทที่เครื่อง DMA สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้สูงกว่า 0.003 Abs คือ 1 µg/L (0.1 ng) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.0047 Abs ดังนั้นจึงกำหนดการทดสอบค่าความไวของเครื่อง DMA-80 evo ด้วยการวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอทที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/L ก่อนการวิเคราะห์ตัวอย่าง หากพบว่าเมื่อวิเคราะห์สารละลายมาตรฐานปรอท ปรอทที่ระดับความเข้มข้น 1 µg/L แล้วค่า Abs ต่ำกว่า 0.003 Abs ให้ตรวจเช็คอัตราการไหลของแก๊สออกซิเจนและปรับอัตราการไหลของแก๊สให้อยู่ในเกณฑ์ (6-8 l/hr) เปลี่ยน amalgamator ใหม่ เมื่อความกว้างของพีคสัญญาณกว้างขึ้น หรือความสูงของพีคมีลักษณะไม่สมมาตร (asymmetry) ด้านซ้ายและด้านขวาไม่เท่ากัน เช่น ด้านท้ายของยอดพีคกว้างกว่าด้านหน้า เรียกว่า peak tailing เป็นต้น หรือเปลี่ยน catalyst ใหม่ เมื่อมีความชื้นสะสมใน catalyst สูง หรือ catalyst เสียสภาพ โดยสังเกตได้จากใยแก้ว (glass wool) ใน catalyst เสียหายจนทำให้วัสดุภายใน catalyst รั่วไหลออกมา (Butala *et al.*, 2006)

2. การพัฒนาวิธี

2.1 การหาสภาวะของเครื่องที่เหมาะสม (อุณหภูมิ และเวลา) สำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

ขั้นตอน drying เป็นการให้ความร้อนแก่ตัวอย่างเพื่อระเหยน้ำออก และทำให้ตัวอย่างแห้ง ส่วนขั้นตอน decomposition เป็นการให้ความร้อนเพื่อเผาตัวอย่างให้เป็นเถ้า ทำให้ปรอทและสารประกอบอื่นระเหยกลายเป็นไอ ในขั้นตอนนี้ปรอทอยู่ในสถานะ Hg^{+} และผลการหาสภาวะของเครื่องที่เหมาะสม (อุณหภูมิ และเวลา) ของการวิเคราะห์ตัวอย่าง SPK ที่ระดับความเข้มข้น MRL/ML ในขั้นตอน drying และ decomposition จำนวน 4 วิธี ได้ค่า %MR เปรียบเทียบแต่ละวิธี แสดงดังรูปที่ 4



รูปที่ 4 กราฟเปรียบเทียบ %MR ของ method 1-4

ผลทดสอบ SPK ตัวอย่างทั้ง 7 ชนิด ของวิธีที่ 1-4 สามารถสร้างเป็นกราฟเปรียบเทียบ %MR ดังรูปที่ 4 และทุกวิธีให้ค่า %MR อยู่ในเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025) โดยมีค่า %MR ตั้งแต่ 83.1-106.1 และพบว่าวิธีที่ 1 ให้ค่า %MR ใกล้เคียง 100 มากที่สุด ในตัวอย่างเนื้อไก่ ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และจิ้งหรีด และวิธีที่ 2 ให้ค่า %MR ใกล้เคียง 100 มากที่สุดในตัวอย่างตับไก่ และน้ำผึ้ง อย่างไรก็ตามวิธีที่ 1 และ 2 ให้ค่า %MR ของตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ และไข่ ที่ใกล้เคียงกันมาก คือ 99.4 กับ 101.1 ในเนื้อไก่ 102.9 กับ 101.9 ในตับไก่ และ 100.7 กับ 101.1 ในไข่ แสดงว่าการ drying ที่ 200 ℃ นาน 60 วินาที และ decomposition ที่อุณหภูมิ 650 ℃ นาน 60 วินาที เพียงพอและเหมาะสมกับทั้งตัวอย่าง เนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และจิ้งหรีด สำหรับการทำให้เกิดไอปรอทและปล่อยสู่ส่วน catalyst ได้สมบูรณ์ ส่วนวิธีที่ 3 และ 4 ให้ค่า %MR ของตัวอย่างน้ำนมโคดิบที่ต่ำกว่าวิธีที่ 1 และ 2 อาจมีสาเหตุเนื่องมาจากในวิธีที่ 3 การใช้เวลาในการ drying เป็น 120 วินาที อาจนานเกินไป จนส่งผลให้มีการสูญหายของปรอทไปบางส่วนในขั้นตอนนี้ ส่วนวิธีที่ 4 นั้นมีการเพิ่มอุณหภูมิในการ decomposition เป็น 700 ℃ การให้ความร้อนสูงอย่างรวดเร็วในตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นของเหลวจะทำให้เกิด exothermic reaction และตัวอย่างเกิดการเดือดอย่างรวดเร็วส่งผลให้ sensitivity ลดลง ดังนั้นหากมีการใช้อุณหภูมิในการ decomposition ที่สูงขึ้น ควรลดอุณหภูมิและเพิ่มเวลาในขั้นตอนการ drying ให้เหมาะสมก่อนการ decomposition จะช่วยลด exothermic reaction (Milestone, 2024)

เมื่อเปรียบเทียบค่า %MR ของวิธีที่ 1 กับสภาวะการ drying และ decomposition ของผู้วิจัยอื่น ๆ ที่ได้สืบค้นข้อมูลในตัวอย่างชนิดเดียวกันหรือใกล้เคียงกัน พบว่า %MR ของวิธีที่ 1 ใกล้เคียง 100 มากกว่า เช่น ตัวอย่างน้ำผึ้ง ได้ค่า %MR 102.1 ในขณะที่สภาวะการทดสอบโดย Silva *et al*. (2025) ตั้งค่าการ drying 250 ℃ นาน 1 นาที decomposition 650 ℃ นาน 1 นาที ให้ค่า %MR 103.3-110.4 และตัวอย่างเนื้อไก่ได้ค่า %MR 99.4 แต่การวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างเนื้อสัตว์แปรรูปและอาหารที่ผลิตจากปลาที่ทำการ decomposition 650 ℃ นาน 4-5 นาที โดย Nava *et al.* (2023) ได้ค่า %MR 98.59 นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบ %MR ของวิธีที่ 1 กับการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอื่นในตัวอย่างชนิดเดียวกันพบว่าการวิเคราะห์ปรอทด้วยเครื่อง DMA ตามวิธีที่ 1 ให้ค่า %MR ที่ใกล้เคียง 100 มากกว่า เช่น ตัวอย่างน้ำนมโคดิบ ได้ค่า %MR คือ 100.3 แต่การหาปริมาณปรอทในน้ำนมดิบของโค แกะ แพะ กระบือ และอูฐด้วยเทคนิค cold vapor atomic absorption spectrophotometry flow infection mercury/hydride analyzer ให้ค่า %MR ที่ 88 (Parsaei *et al.,* 2019)

ดังนั้น จากข้อมูลข้างต้นจึงเลือกใช้สภาวะของวิธีที่ 1 ที่ประกอบด้วย drying ที่ 200 ℃ นาน 60 วินาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 650 ℃ ภายใน 120 วินาที และ decomposition ที่ 650 ℃ นาน 60 วินาที ในการวิเคราะห์ตัวอย่างและตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

3. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี

3.1 ผลการหาค่า LOD และ LOQ

จากการวิเคราะห์ SB แต่ละชนิดตัวอย่าง ชนิดละ 10 ซ้ำ สามารถคำนวณค่า LOD และประมาณค่า LOQ เปรียบเทียบกับเกณฑ์ LOD และ LOQ ตาม CIR 2024/1045 ได้ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลการหาค่า LOD และ LOQ ปรอทในตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์

Sample types	Mercury (mg/kg)							
	Mean	S_0	S_0'	LOD	LOQ	MRL/ML	LOD limit	LOQ limit
เนื้อไก่	0.0002	0.00013	0.00013	0.0004	0.0013	0.01	0.0012	0.004
ตับไก่	0.0007	0.00014	0.00014	0.0004	0.0014	0.02	0.0024	0.008
น้ำผึ้ง	0.0009	0.00007	0.00007	0.0002	0.0007	0.01	0.0012	0.004
ไข่	0.0002	0.00012	0.00012	0.0004	0.0012	0.01	0.0012	0.004
รังนก	0.0008	0.00012	0.00012	0.0004	0.0012	0.3	0.0180	0.060
น้ำนมโคดิบ	0.0006	0.00011	0.00011	0.0003	0.0011	0.01	0.0012	0.004
จิ้งหรีด	0.0010	0.00008	0.00008	0.0002	0.0008	0.01	0.0012	0.004

หมายเหตุ: LOD limit = 3/10LOQ, LOQ limit = $\leq$2/5MRL ยกเว้นสำหรับรังนก = $\leq$1/5ML

จากตารางที่ 9 พบค่า LOD ที่ได้จากการคำนวณของทุกชนิดตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 0.0002-0.0004 mg/kg จึงกำหนดให้ใช้ค่าความเข้มข้นของ LOD โดยปัดตัวเลขเป็น 0.001 mg/kg ซึ่งมีค่าน้อยกว่า LOD limit เป็นไปตามเกณฑ์ของ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024) ส่วนค่า LOQ ได้จากการคำนวณของทุกชนิดตัวอย่างมีค่าอยู่ในช่วง 0.0007-0.0014 mg/kg จึงกำหนดความเข้มข้นที่ใช้สำหรับยืนยัน LOQ เป็น 0.002 mg/kg สำหรับทุกชนิดตัวอย่าง

เมื่อวิเคราะห์ SPK ที่ 0.002 mg/kg เพื่อยืนยันค่า LOQ ในทุกชนิดตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างน้ำนมโคดิบ และรังนก ให้ค่า %MR ต่ำกว่า 60-115% จึงทำการยืนยันค่า LOQ ที่ระดับ 0.004 mg/kg แสดงผลดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลการยืนยันค่า LOQ ปรอทในตัวอย่างเนื้อสัตว์และผลิตจากสัตว์

Sample types	SPK (SB+STD) (mg/kg)	%MR	SD (mg/kg)	RSD_r (%)	$PRSD_r$	$HORRAT_r$
เนื้อไก่	0.002	101.0	0.00010	5.11	26.86	0.19
ตับไก่	0.002	94.0	0.00006	3.36	27.15	0.12
น้ำผึ้ง	0.002	97.0	0.00013	6.96	27.02	0.26
ไข่	0.002	102.5	0.00008	4.15	26.80	0.15
รังนก	0.004	105.8	0.00008	1.95	24.03	0.08
น้ำนมโคดิบ	0.004	81.8	0.00022	6.77	24.98	0.27
จิ้งหรีด	0.002	95.5	0.00007	3.86	27.09	0.14

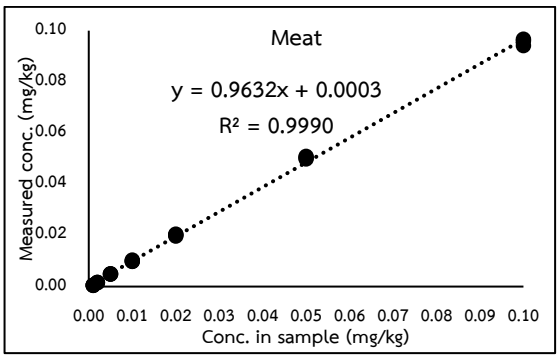
จากตารางที่ 10 ผลการยืนยันค่า LOQ ในการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ น้ำนมโคดิบ รังนก และจิ้งหรีด พบว่ามีค่า %MR เฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์ 60–115 % ค่า $\%RSD_r$ น้อยกว่า $PRSD_r$ และค่า $HORRAT_r < 2$ สรุปได้ว่าค่า LOQ ของเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ จิ้งหรีด ที่ 0.002 mg/kg และรังนก น้ำนมโคดิบ ที่ 0.004 mg/kg มีความถูกต้องตามเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025) และความเที่ยงตามเกณฑ์ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024) เมื่อเปรียบเทียบค่า LOQ ในตัวอย่างเนื้อไก่ และตับไก่ของวิธีที่พัฒนาได้ พบว่า มีค่าสูงกว่าค่า LOQ ของห้องปฏิบัติการสัตวแพทย์ของรัฐในระดับภูมิภาคและอ้างอิงแห่งชาติของโปแลนด์ที่เข้าร่วมวิเคราะห์ปรอททั้งหมดในกล้ามเนื้อและตับของสัตว์เศรษฐกิจ เช่น ไก่ โค สุกร และสัตว์ป่า เช่น

สุกรป่า และกวาง ภายใต้แผนควบคุมสารตกค้างแห่งชาติของโปแลนด์ ซึ่งทุกห้องปฏิบัติการมีค่า LOQ เท่ากับ 1 µg/kg (0.001 mg/kg) (Nawrocka *et al.*, 2020) แต่งานวิจัยนี้ไม่มีข้อมูลสภาวะในการวิเคราะห์ตัวอย่าง ระบุเพียงใช้เครื่อง DMA ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 และยี่ห้อ Leco รุ่น AMA-254 เท่านั้น สำหรับค่า LOQ ในตัวอย่างน้ำผึ้งของวิธีที่พัฒนาได้ มีค่าสูงกว่าวิธีที่ศึกษาโดย Silva *et al.* (2025) ที่ได้ค่า LOQ เท่ากับ 0.03 ng/g (0.00003 mg/kg) โดยใช้สภาวะ drying 250 °C นาน 1 นาที decomposition 650 °C นาน 1 นาที และวิเคราะห์ด้วยเครื่อง DMA ยี่ห้อ Milestone รุ่น DMA-80 Tricell ซึ่งมี Cell วัดการดูดกลืนแสง 3 ส่วน (Cell 0, Cell 1 และ Cell 2) ที่มี pathlength แตกต่างกัน โดย Cell 0 มี pathlength ยาวที่สุด จึงมีความไวสูงกว่ารุ่น DMA-80 evo ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ซึ่งเป็นแบบ dual cell ที่มี Cell วัดการดูดกลืนแสง 2 ส่วน (Milestone, 2024) อย่างไรก็ตาม ค่า LOQ ของวิธีที่พัฒนาได้ในทุกชนิดตัวอย่างเป็นไปตามเกณฑ์ของ CIR 2024/1045 ที่กำหนดให้ค่า LOQ ต้องไม่เกิน 2/5 ของ ML กรณีที่ค่า ML < 0.1 mg/kg และต้องไม่เกิน 1/5 ของ ML กรณีที่ค่า ML $\geq$ 0.1 mg/kg (European Commission, 2024)

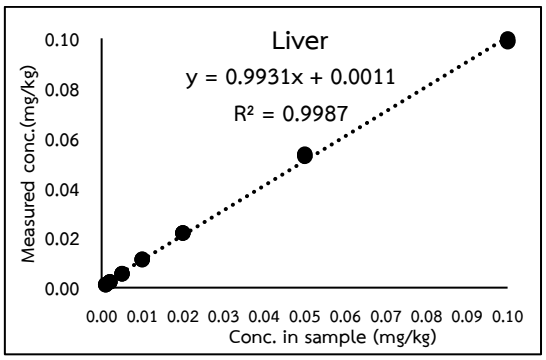
3.2 ผลการทดสอบความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัด (working range)

ผลการวิเคราะห์ SPK ของตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ และจิ้งหรีด ที่ระดับความเข้มข้น 0.001, 0.002, 0.005, 0.010, 0.020, 0.050 และ 0.100 mg/kg ส่วนตัวอย่างน้ำนมโคดิบวิเคราะห์ SPK ที่ระดับความเข้มข้น 0.004, 0.008, 0.016, 0.020, 0.050 และ 0.100 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (แกน y) กับค่าความเข้มข้นในตัวอย่าง (แกน x) เมื่อคำนวณสมการเส้นตรงและตรวจสอบค่า r^2 พบว่ากราฟมีความเป็นเส้นตรงระหว่างความเข้มข้น 0.001-0.100 mg/kg โดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.9990, 0.9987, 0.9982, 0.9984, 0.9989 และ 0.9986 ในตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ น้ำนมโคดิบ และจิ้งหรีดตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ ($r^2 \geq 0.990$) แสดงดังกราฟรูปที่ 5-10 แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้ มีความเป็นเส้นตรงของการวัดในตัวอย่างเนื้อไก่ ตับไก่ น้ำผึ้ง ไข่ และจิ้งหรีด อยู่ในช่วง 0.001-0.100 mg/kg และช่วง 0.004-0.100 mg/kg สำหรับน้ำนมโคดิบ

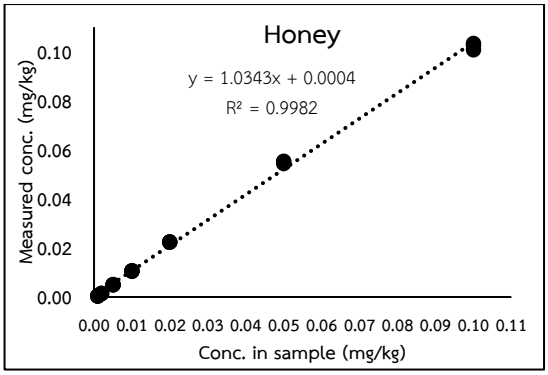
สำหรับตัวอย่างรังนก วิเคราะห์ SPK ที่ระดับความเข้มข้น 0.002, 0.004, 0.005, 0.010, 0.020, 0.050, 0.100, 0.300, 0.500, 0.750, 1.000, 1.250, 1.500 mg/kg ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นที่วัดได้ (แกน y) กับ ค่าความเข้มข้นในตัวอย่าง (แกน x) ดังรูปที่ 11 ให้ค่าความเป็นเส้นตรงแบ่งเป็น 2 ช่วง คือ 0.002-0.100 mg/kg สำหรับช่วง low range (Cell 1) มีค่า r^2 เท่ากับ 0.9988 และ 0.300-1.500 mg/kg สำหรับช่วง high range (Cell 2) มีค่า r^2 เท่ากับ 0.9995 อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้ มีความเป็นเส้นตรงของการวัดในตัวอย่างรังนกอยู่ในช่วง 0.002-0.100 และ 0.300-1.500 mg/kg



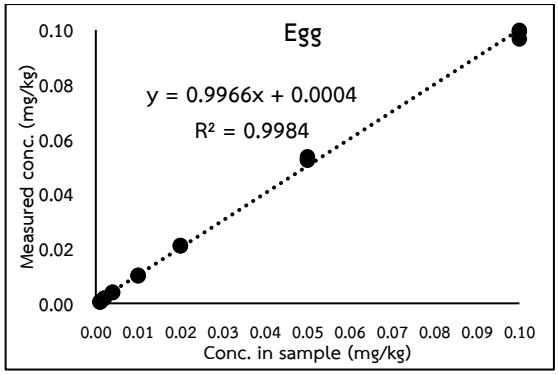
รูปที่ 5 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างเนื้อไก่



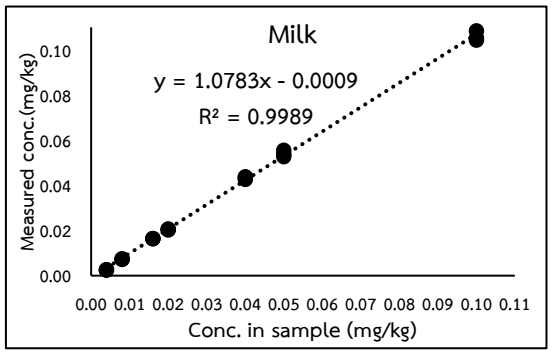
รูปที่ 6 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างตับไก่



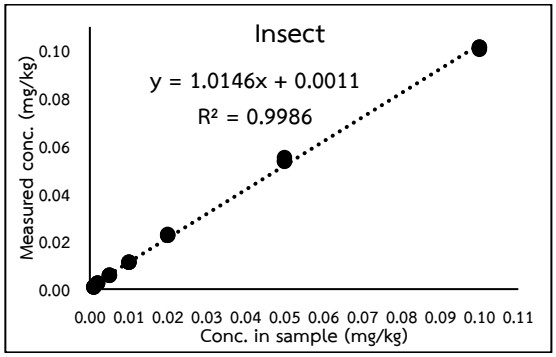
รูปที่ 7 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างน้ำผึ้ง



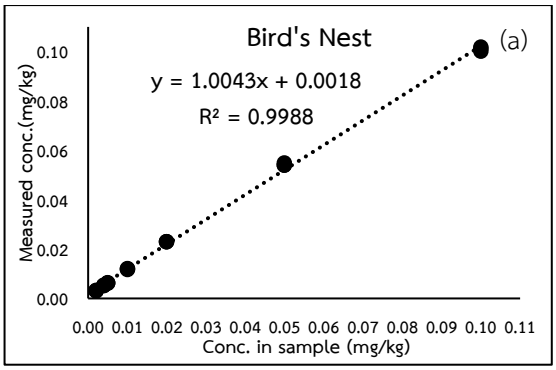
รูปที่ 8 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างไข่

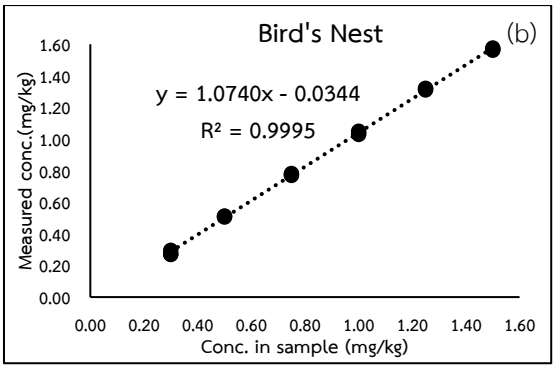


รูปที่ 9 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างน้ำนมโคดิบ



รูปที่ 10 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างจิ้งหรีด





รูปที่ 11 กราฟแสดงความเป็นตรงของปริมาณ Hg ในตัวอย่างรังนกช่วงความเข้มข้น low range 0-0.10 mg/kg (a) และ high range 0.30-1.50 mg/kg (b)

3.3 ผลการทดสอบความแม่น

3.3.1 การประเมินความถูกต้องด้วยการวิเคราะห์ CRM ชนิด skimmed milk powder ERM-BD150 จำนวน 10 ซ้ำ ประเมินค่าโอนเอียงด้วยสถิติ t-test ได้ผลดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลการประเมินความถูกต้องด้วยการวิเคราะห์ CRM ชนิด skimmed milk powder ERM-BD150

CRM	Mercury
Mean ($\bar{x}$) (mg/kg)	0.0606
Standard deviation (SD) (mg/kg)	0.00142
True value or certified value (μ) (mg/kg)	0.060 $\pm$ 0.007
t_{cal}	1.354
t_{crit}	2.262

จากผลการประเมิน พบว่าได้ค่า $t_{cal} < t_{crit}$ (t_{crit} = 2.262 ที่ df = 9) แสดงว่าค่าปริมาณสารปรอทที่วิเคราะห์ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ ไม่มีความแตกต่างจากค่า certified value ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % วิธีวิเคราะห์นี้จึงมีความถูกต้อง

3.3.2 การประเมินผลความถูกต้อง ความเที่ยงแบบการทวนซ้ำได้ (repeatability) และการทำซ้ำได้ (intermediate) ด้วยการศึกษาแบบ simultaneously in single study โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง SPK อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ครอบคลุมค่า MRL/ML ประเมินค่า bias จาก %MR ประเมินความเที่ยงด้วยการคำนวณค่า S_r และ S_I จากสมการที่ 1-3 และคำนวณค่า F จาก One-way ANOVA แสดงผลดังตารางที่ 12

ตารางที่ 12 ผลการทดสอบความถูกต้อง และความเที่ยงแบบ repeatability และ intermediate

Sample types	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}
เนื้อไก่	0.002	92.83	0.0001	0.0001	5.22	6.60	27.20	0.19	0.24	2.20	3.50
	0.010	97.12	0.0002	0.0003	2.41	2.84	21.21	0.11	0.13	1.76	3.50
	0.020	97.28	0.0006	0.0008	3.09	4.23	19.10	0.16	0.22	2.76	3.50
ตับไก่	0.002	98.13	0.0000	0.0001	3.12	3.70	26.98	0.12	0.14	1.81	3.50
	0.020	100.19	0.0005	0.0005	2.37	2.53	19.02	0.12	0.13	1.28	3.50
	0.040	98.14	0.0006	0.0006	1.55	1.60	17.19	0.09	0.09	1.13	3.50
น้ำผึ้ง	0.002	97.50	0.0001	0.0001	4.44	4.99	27.00	0.16	0.18	1.52	3.50
	0.010	95.50	0.0001	0.0001	1.05	1.34	21.26	0.05	0.06	2.29	3.50
	0.020	103.22	0.0001	0.0002	0.65	0.78	18.93	0.03	0.04	1.85	3.50
ไข่	0.002	96.56	0.0001	0.0001	4.29	6.30	27.04	0.16	0.23	3.31	3.50
	0.010	98.44	0.0001	0.0002	1.22	1.55	21.16	0.06	0.07	2.23	3.50
	0.020	98.12	0.0003	0.0004	1.45	2.01	19.08	0.08	0.11	2.81	3.50
รังนก	0.004	101.09	0.0001	0.0002	3.33	4.59	24.20	0.14	0.19	2.79	3.50
	0.150	94.75	0.0016	0.0021	1.11	1.46	14.16	0.08	0.10	2.47	3.50
	0.300	101.36	0.0043	0.0049	1.42	1.62	12.63	0.11	0.13	1.61	3.50
	0.450	103.14	0.0061	0.0075	1.31	1.61	11.85	0.11	0.14	2.02	3.50
น้ำนมโคดิบ	0.004	86.09	0.0001	0.0001	3.48	3.51	24.79	0.14	0.14	1.04	3.50
	0.010	93.56	0.0002	0.0003	1.91	2.78	21.33	0.09	0.13	3.25	3.50
	0.020	95.34	0.0003	0.0004	1.63	1.88	19.16	0.09	0.10	1.65	3.50
จิ้งหรีด	0.002	91.88	0.0001	0.0001	2.72	3.41	27.25	0.10	0.13	2.14	3.50
	0.010	95.63	0.0002	0.0002	1.61	1.92	21.26	0.08	0.09	1.85	3.50
	0.020	98.78	0.0004	0.0004	1.81	2.18	19.06	0.10	0.11	1.89	3.50

จากตารางที่ 12 แสดงผลการประเมินความถูกต้องกับทุกชนิดตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 0.002-0.040 mg/kg พิจารณาจาก % MR อยู่ในช่วง 86.09-103.22 อยู่ในเกณฑ์ 60-115% และตัวอย่างรังนกที่ระดับความเข้มข้น 0.15-0.45 mg/kg ค่า %MR อยู่ในช่วง 94.75-103.14 อยู่ในเกณฑ์ 80-110% ของ Codex (FAO and WHO, 2025) และผลการประเมินความเที่ยงแบบการทวนซ้ำและการทำซ้ำได้ของปรอทใน SPK ของตัวอย่างเนื้อไก่ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และ

จิ้งหรีดที่ปริมาณ 0.002, 0.004, 0.010, 0.020 และตับไก่ที่ปริมาณ 0.002, 0.020, 0.040 mg/kg พบว่าค่า HORRAT ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าน้อยกว่า 2 ในทุกชนิดตัวอย่างและทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ CIR 2024/1045 (European Commission, 2024) แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่นครอบคลุมค่า MRL/ML ของตัวอย่าง

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

4. การเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญ (proficiency testing)

การเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญกับหน่วยงาน FAPAS ชนิดตัวอย่าง offal (liver), milk powder และ insect protein (meal) ในรายการวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดด้วยเทคนิคที่พัฒนาและพิสูจน์ความใช้ได้นี้ ผลการประเมินได้ค่า z-score เท่ากับ 0.8, 0.8 และ -1.2 ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ (satisfactory) คือ $|z| < 2$ (International Organization for Standardization, 2022) ดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 การเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญกับ FAPAS

PT Sample	Assigned value (µg/kg)	Laboratory result (µg/kg)	z-score	จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วม	จำนวนห้องปฏิบัติการที่ผลวิเคราะห์ $\|z\| < 2$
Offal (Liver) Test 07587	278	323.06	0.8	22	21
Milk Powder Test 07592	32.6	38.41	0.8	33	32
Insect Protein (meal) Test 07603	46.7	34.76	-1.2	7	7

นอกจากห้องปฏิบัติการ สตส. แล้ว พบว่ามีห้องปฏิบัติการอื่น ๆ อีกที่ใช้เครื่อง DMA ในการวิเคราะห์ offal (liver) จำนวน 1 แห่ง milk powder จำนวน 3 แห่ง และ insect protein (meal) จำนวน 1 แห่ง ซึ่งผลการวิเคราะห์ของทุกห้องปฏิบัติการที่ใช้เครื่อง DMA นี้ได้ค่า z-score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ

เมื่อพิจารณาห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญจากหน่วยงานอื่นทั้งหมด มีการใช้เครื่องมืออื่น ๆ นอกจากเครื่อง DMA ในการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่าง เช่น AAS, ICP-MS และ AFS ซึ่งพบว่าผลการวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมือแตกต่างกัน มีผลการประเมินค่า z-score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจด้วย คิดเป็นร้อยละ 95, 97 และ 100 ในตัวอย่าง offal (liver) , milk powder และ insect protein (meal) ตามลำดับ

ในการวิเคราะห์ตัวอย่างทดสอบความชำนาญชนิด offal (liver) ผลการวิเคราะห์มีค่าความเข้มข้นของปรอทในตัวอย่างสูงกว่าช่วงการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี (0.002-0.040 mg/kg) จึงได้ลดปริมาณตัวอย่างลง เพื่อให้ผลการวัดปริมาณปรอท (ng) อยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน ซึ่งจากรายงานผลการประเมินการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ ค่าที่ห้องปฏิบัติการ สตส. ตรวจวิเคราะห์ได้มีค่า z-score เท่ากับ 0.8 อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ แสดงว่าการวิเคราะห์ปรอทด้วยเครื่อง DMA สามารถวิเคราะห์ปรอทได้ในช่วงความเข้มข้นที่กว้าง และให้ผลวิเคราะห์ที่ถูกต้องด้วย

สรุปผล

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ได้แก่ เนื้อสัตว์ เครื่องในสัตว์ น้ำผึ้ง ไข่ รังนก น้ำนมโคดิบ และแมลงที่รับประทานเป็นอาหารได้ ด้วยเทคนิค TDA-AAS ในขั้นตอน drying และ decomposition พบว่าสภาวะ drying ที่ 200 °C นาน 60 วินาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 650 °C เป็นเวลา 120 วินาที และ decomposition ที่ 650 °C นาน 60 วินาที มีความเหมาะสม สามารถวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างทั้งที่เป็นของแข็งและของเหลวได้ เมื่อทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่พัฒนาตามแนวทางของ Eurachem Guide (Cantwell, 2025) และประเมินคุณลักษณะเฉพาะคุณลักษณะเฉพาะของวิธี ได้แก่ ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานและของช่วงการวัดตามเกณฑ์ U.S. Food and Drug Administration (2023) ขีดจำกัดของการตรวจหา ขีดจำกัดของการตรวจวัดปริมาณ และความเที่ยง ตามเกณฑ์ Commission Implementing Regulation (EU) 2024/1045 (CIR 2024/1045; European Commission, 2024) ซึ่งเป็นเกณฑ์ที่สหภาพยุโรปกำหนดใช้ประเมินสมรรถนะของวิธีวิเคราะห์โลหะหนักและมีความเข้มงวดกว่าเกณฑ์ Codex (FAO and WHO, 2025) ที่ใช้ประเมินวิธีวัดปริมาณทั่วไป สำหรับการประเมินค่าความถูกต้องพิจารณา %MR ตามเกณฑ์ของ FAO and WHO (2025) เนื่องจาก CIR 2024/1045 ไม่ได้กำหนดเกณฑ์นี้ไว้ และการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง พิจารณาความโอนเอียงค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่ารับรองด้วยสถิติ t-test ซึ่งผลการประเมินคุณลักษณะทุกพารามิเตอร์ได้ค่าอยู่ในเกณฑ์ทุกรายการ แสดงว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความแม่น และเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณปรอทในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ครอบคลุมค่า MRL/ML ที่ศึกษา

ข้อเสนอแนะ

นอกจากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปรอททั้งหมดในเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ด้วยเทคนิค TDA-AAS แล้ว ควรประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (measurement uncertainty) ของวิธีวิเคราะห์นี้ในแต่ละชนิดตัวอย่าง เพื่อบอกลักษณะการกระจายของค่าของสิ่งที่วัด โดยต้องระบุแหล่งความไม่แน่นอนจากปัจจัยต่าง ๆ ในการวัด เช่น การชั่งน้ำหนักตัวอย่าง การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เป็นต้น และพิจารณาแหล่งของความไม่แน่นอนที่มีผลกระทบต่อค่าของการวัด จึงควรหาค่าความไม่แน่นอนของการวัด เพื่อให้สอดคล้องกับมาตรฐาน ISO/IEC 17025

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนายสัตวแพทย์อุดม เจือจันทร์ รองอธิบดีกรมปศุสัตว์ นายสัตวแพทย์จิรภัทร อินทร์สุข ผู้อำนวยการสำนักตรวจสอบคุณภาพสินค้าปศุสัตว์ ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงาน นางสาววิภาดา สิริสมภพชัย ผู้เชี่ยวชาญด้านการวิเคราะห์คุณภาพสินค้าปศุสัตว์ นายสัตวแพทย์พิเชษฐ์ กุมภาว์ หัวหน้ากลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ และนายสราวุธ ชูกระชั้น หัวหน้างานงานเคมีอาหาร สารตกค้างและสารปนเปื้อน ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำ นางสาวศรีไพร เจียนพันธ์ นางสาวนิตยา อินทร์จันทร์ นางสาวอภิญญา ธานี และบุคลากรงานเคมีอาหารฯ กลุ่มตรวจสอบคุณภาพเนื้อสัตว์และผลผลิตจากสัตว์ ที่ช่วยให้การศึกษาครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2564. กรมปศุสัตว์ยกระดับมาตรฐานส่งออกจิ้งหรีด แมลงเศรษฐกิจมุ่งไทยเป็นฮับแมลงโลกแหล่งโปรตีนไทยส่งออกทั่วโลก ใน 3 ขั้นตอนจบ. แหล่งที่มา: https://dld.go.th/th/index.php/en/354-news/hotnews-cat/23747-3. [11 กรกฎาคม 2568]

เขมิกา เหมโลหะ และนิรันดร แร่กาสินธุ์. 2558. การทวนสอบวิธีวิเคราะห์ปริมาณปรอททั้งหมดในอาหารทะเลด้วยเครื่องวิเคราะห์ปรอทโดยเทคนิคการเผา. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*. 57(ฉบับพิเศษ 2): 163-173.

คณะทำงานทบทวนยุทธศาสตร์พัฒนาโคนมและผลิตภัณฑ์นมฯ. 2564. แผนปฏิบัติการด้านโคนมและผลิตภัณฑ์นม ระยะที่ 1 แหล่งที่มา: https://planning.dld.go.th/th/images/stories/section-17/policy/strategic_09.pdf. [11 กรกฎาคม 2568]

นภาพร บุญนรานุรักษ์ และนภา ตั้งเตรียมจิตมั่น. 2561. การหาปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าโดยเทคนิคการสลายตัวความร้อน การเกิดอะมัลกัม และการวัดการดูดกลืนแสงของอะตอมปรอท. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว.* 34 (2): 15-19.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 414) พ.ศ. 2563 ออกความในพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน. (2563, 20 พฤษภาคม). ราชกิจจานุเบกษา. เล่ม 137 ตอนพิเศษ 118 ง.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. เรื่องน่ารู้มาตรฐานสินค้าเกษตร. ใน *จดหมายข่าว มกอช*. เครือวัลย์ ตันยา, บรรณาธิการ. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. หน้า 4-6.

Alvarez, D.G., Jaramillo, A.C., Munoz, N.C., Echavarría, D.M.A., Ospina, A.S. and Ruiz, A.A. 2023. Total mercury and methylmercury levels in eggs from laying hens in a mining area in Bajo Cauca, Antioquia, Colombia. *Emerging Contaminants*. 9(100230): 1-9.

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

Butala, S.J.M., Scanlan, L.P. and Chaudhuri, S.N. 2006. A Detailed Study of Thermal Decomposition, Amalgamation/Atomic Absorption Spectrophotometry Methodology for the Quantitative Analysis of Mercury in Fish and Hair. *Journal of Food Protection*. 69(11): 2720–2728.

Cantwell, H. 2025. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 3rd ed. [Online]. Available: https://www.eurachem.org. Accessed March 1, 2025.

Chua, L. S. and Zukefli, S. N. 2016. A comprehensive review of edible bird nests and swiftlet farming. *Journal of Integrative Medicine.* 14(6): 415-428.

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.

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.

European Commission. 2024. Mercury in food. [Online]. Available: https://food.ec.europa.eu/food-safety/chemical-safety/contaminants/catalogue/mercury_en. Accessed July 25, 2025.

FAO and WHO. 2025. Codex Alimentarius Commission Procedural Manual – Thirty-first edition. Rome. [Online]. Available: https://doi.org/10.4060/cd7978en. Accessed June 25, 2025.

Ferreira, S.L.C., Lemos, V.A., Silva, L.O.B., Queiroz, A.F.S., Souza, A.S., Silva, E.G.P.d., Santos, W.N.L.d. and Virgens, C.F.d. 2015. Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices - A review. *Microchemical Journal*. 121: 227–236.

International Organization for Standardization. 2022. ISO/IEC 13528:2022(E)-Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Switzerland.

Kim, T.H., CHo, M.J., Lee, Y., Kim, J.H., Hwang, J.Y., Lee, H.e., Kim, S.H., CHoi, J.D. and Kang, G.J. 2020. Methylmercury determination in fish by direct Mercury Analyzer. *Journal of AOAC international*. 103: 244-249.

Milestone Srl. n.d. DMA-80 Application Notes. Milestone Srl. Italy. 82 pages.

Milestone Srl. n.d. methods library for DMA-80 evo direct mercury analyzer. Milestone Srl. Italy. 158 pages.

Milestone Srl. 2024. DMA-80 evo Operator Manaul MA231. Milestone Srl. Italy. 190 pages.

Ministry of Health of the People's Republic of Chaina. 2014. GB 16740-2014 National Food Safety Standards Health Food. (December 24, 2014)

Nava, V., Bella, G.D., Fazio, F., Potortì, A.G., Turco, V.L. and Licata, P. 2023. Hg content in EU and Non-EU processed meat and fish foods. *Applied sciences*. 13(2): 793.

Nawrocka, A., Durkalec, M., Szkoda, J., Filipek, A., Kmiecik, M., Zmudzki, J. and Posyniak, A. 2020. Total mercury levels in the muscle and liver of livestock and game animals in Poland, 2009 – 2018. *Chemosphere*. 258: 127-311.

Neto, O.G.N., Dias, S.R., Albuquerque, F.E.A., Miranda, M., Alonso, M.L., Oliveira, R.B., Pinto, D. and Minervino, A.H.H. 2024. Comparative analysis between mercury levels in fish tissues evaluated using direct mercury analyzer and inductively plasma-coupled mass spectrometer. *Chemosphere*. 351: 141-146.

Parsaei, P., Rahimi, E. and Shakerian, A. 2019. Concentrations of Cadmium, Lead and Mercury in Raw Bovine, Ovine, Caprine, Buffalo and Camel Milk. *Polish Journal of Environmental Studies*. 28(6): 4311-4318.

Silva, B.T.S.da., Lopes, M.da.C., Cruz, A.da.S., Borges, C.M., Batista, C.V., Carvalho, F.I.M., Venturieri, G.C., Filho H.A.D. and Dantas, K.G.F. 2025. Determination and human health risk assessment of mercury in honey from the Brazilian eastern amazon. *Toxicology Reports*: 14(101981). 1-5.

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.

Yufeng, L., Jin, S., Jiangxue, W., Chunying, C., Yuliang, Z. and Zhifang, C. 2005. Methods to eliminate the memory effect of mercury in using ICP-MS. [Online]. Available: https://inis.iaea.org/records/x5n58-z2664. Accessed July 25, 2025.