



มหาวิทยาลัยมหิดล
สถาบันพิษวิทยา



**“Toxicology and Safety of
Natural and Innovative Products”**



Abstracts and Proceedings

The 12th National Conference in Toxicology (NCT12)

15-16 September 2022

**Bangkok International Trade & Exhibition Center (BITEC)
Bangkok, Thailand**



การประชุมวิชาการพิษวิทยาแห่งชาติครั้งที่ 12
The 12th National Conference in Toxicology (NCT12)

การประชุมใหญ่สามัญประจำปี 2565

ของ

สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย

การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นโดยเทคนิคกราไฟต์เฟอร์เนชอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี

นลินรัชต์ คงตะ¹ วรรชิต จุฑประสงค์² รจนา ชุนหพันธ์³ จินตนา ศิริวรราชัย³ วีรยา การพานิช^{2*}

¹ นักศึกษาระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโภชนศาสตร์คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดีและสถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

² สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล นครปฐม 73170

³ กลุ่มสาขาวิชาโภชนศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

บทคัดย่อ

มนุษย์อาจได้รับอะลูมิเนียมจากแหล่งต่าง ๆ ในชีวิตประจำวัน ได้แก่ แหล่งธรรมชาติ ยารักษาโรค อาหาร และเครื่องดื่ม วัตถุเจือปนอาหารที่มีอะลูมิเนียมเป็นส่วนประกอบถูกนำมาใช้ในการแปรรูปอาหารมาเป็นเวลานาน การได้รับอะลูมิเนียมจากการบริโภคอาหารสูงเกินระดับความปลอดภัย อาจส่งผลเสียต่อสุขภาพได้ การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมมีความสำคัญ เพื่อได้ข้อมูลความเข้มข้นของอะลูมิเนียมที่มีความแม่นยำ และความเที่ยง สำหรับนำไปใช้ในการประเมินการได้รับสัมผัสและประมาณความเสี่ยงต่อสุขภาพต่อไป วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นด้วยเทคนิคกราไฟต์เฟอร์เนชอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตรี โดยดำเนินการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ ได้แก่ ช่วงของการวัด ความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำ ความเที่ยง บิดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ผลการศึกษาพบว่า ช่วงของการวัดของการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในเส้นก๋วยเตี๋ยวอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร โดยความเป็นเส้นตรงพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ ซึ่งมีค่ามากกว่า 0.995 ความแม่นยำของการวิเคราะห์โดยวิธีการเดิมมาตรฐานอะลูมิเนียมที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง ค่าร้อยละการกลับคืน มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 87.19-111.40 ผลการประเมินความเที่ยงโดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของการเดิมมาตรฐานอะลูมิเนียมความเข้มข้นที่ระดับ ต่ำ กลาง สูง มีค่าเท่ากับ 0.31, 0.28 และ 0.23 ตามลำดับ ขีดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ เท่ากับ 1.95 และ 6.51 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ โดยรวมแล้วผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าวให้ผลการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่มีความแม่นยำ และความเที่ยง ตรงตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

คำสำคัญ: อะลูมิเนียม การตรวจสอบความเหมาะสม ผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น ความแม่นยำ ความเที่ยง

*ผู้รับผิดชอบบทความ

วีรยา การพานิช

สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา นครปฐม 73170 ประเทศไทย

โทรศัพท์ 0-2800-2380 ต่อ 311 โทรสาร 0-2441-9344

อีเมล: weeraya.kar@mahidol.ac.th

Method Validation of Aluminium in Noodle Products using Graphite-Furnace Atomic Spectrophotometry Technique

Nalinrat Kongta¹ Kunchit Judprasong² Rodjana Chunhabundit³ Jintana Sirivarasai³
Weeraya Karnpanit^{2,*}

¹ Graduate student in Master of Science Program in Nutrition, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital and Institute of Nutrition, Mahidol University, Bangkok 10400

² Institute of Nutrition, Mahidol University, Nakhon Pathom 73170

³ Graduate Program in Nutrition, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400

Abstract

Humans may expose to aluminium from various sources including natural sources, drugs, foods and beverages. Food additives containing aluminium have long been used in various food processing. High amount of aluminium exposure exceeding the safety level may pose adverse health effects. Method validation of aluminium analysis is important to obtain an accurate and precise concentration of aluminium for further exposure assessment and health risk estimation. The objective of this study is to conduct the method validation for analyzing the aluminium concentration in noodle products using graphite furnace atomic absorption spectrometry technique. Method performance characteristics including working range, linearity, accuracy, precision, limit of detection and limit of quantitation were validated. This study showed that the working range of aluminium determination was 10-100 µg/L. The linearity was considered from coefficient of determination (R^2), which was greater than 0.995. The accuracy of aluminium analysis was performed by spiking aluminium standard solution at low, medium and high levels. Percent recovery was in the range between 87.19-111.40 %. The precision of the analytical method calculated as HorRat ratio of the spiked aluminium standard at low, medium and high levels were 0.31, 0.28 and 0.23, respectively. Limit of detection and limit of quantitation were 1.95 and 6.51 mg/kg, respectively. Collectively, these validation results showed that the analytical method provide accurate and precise results for the analysis of aluminum in noodle product, and fit with the purpose.

Keywords: Aluminium, Method validation, Noodle products, Accuracy, Precision

*Corresponding author

Weeraya Karnpanit

Institute of Nutrition, Mahidol University, Salaya, Nakhon Pathom 73170, Thailand

E-mail: weeraya.kar@mahidol.ac.th

บทนำ

อะลูมิเนียมสามารถพบได้ในแหล่งต่าง ๆ ในชีวิตประจำวันของมนุษย์ ไม่ว่าจะเป็นแหล่งธรรมชาติ อาหารทะเล เครื่องดื่ม และวัตถุเจือปนอาหาร¹ วัตถุเจือปนอาหารที่มีอะลูมิเนียมเป็นส่วนประกอบถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารมาเป็นเวลานาน เนื่องจากคุณสมบัติในการเป็นสารควบคุมความเป็นกรด สารช่วยให้ฟู สารทำให้แข็งตัว สารป้องกันการจับตัวเป็นก้อน และสารคงสภาพของสี วัตถุเจือปนอาหารช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร ปรับปรุงและรักษาคุณภาพของอาหารในขั้นตอนการผลิตอาหาร การแปรรูป การบรรจุภัณฑ์ การขนส่ง หรือการเก็บรักษา ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 418 อนุญาตให้ใช้วัตถุเจือปนอาหาร 3 ชนิดที่มีอะลูมิเนียมเป็นส่วนประกอบ ได้แก่ อะลูมิเนียมแอมโมเนียมซัลเฟต โซเดียมอะลูมิเนียมฟอสเฟต และโซเดียมอะลูมิเนียมซิลิเกต ซึ่งอนุญาตให้ใช้ในอาหารหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ แป้ง และผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นชนิดสด โดยกำหนดค่าปริมาณสูงสุดที่อนุญาตคำนวณเป็นอะลูมิเนียม หน่วยมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม² คนไทยนิยมบริโภคถ้วยเตี๋ยเป็นอาหารหลัก โดยเส้นถ้วยเตี๋ยอาจมีการใช้วัตถุเจือปนอาหารที่มีอะลูมิเนียมเป็นส่วนประกอบในกระบวนการผลิต ซึ่งอาจทำให้ผู้บริโภคได้รับอะลูมิเนียมในปริมาณมากเกินระดับความปลอดภัย และอาจส่งผลเสียต่อสุขภาพได้

จากการศึกษาทางพิษวิทยาไม่มีรายงานพิษเฉียบพลันจากการบริโภคอะลูมิเนียมในประชากรทั่วไปแม้ว่าอะลูมิเนียมจะมีแพร่หลายในอาหาร น้ำดื่ม และยาลดกรด³ มีรายงานความเป็นพิษของอะลูมิเนียมเกี่ยวกับอันตรายต่อสมอง

ไขกระดูก และระบบโลหิตวิทยา โดยทำให้เซลล์ตายเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นและทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้⁴ อะลูมิเนียมไม่จัดเป็นสารก่อกลายพันธุ์ (mutagen) และไม่มีข้อบ่งชี้ว่าอะลูมิเนียมเป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ ซึ่งทำให้ไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะจำแนกความเสี่ยงของการเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์ อย่างไรก็ตามสารประกอบอะลูมิเนียมที่ละลายน้ำได้แสดงความเป็นพิษต่อระบบสืบพันธุ์ และความเป็นพิษต่อพัฒนาการในสัตว์ทดลอง⁵ มีรายงานเกี่ยวกับการเกิดโรคกระดูกอ่อนในผู้ใหญ่ (Osteomalacia) ที่กินยาลดกรดที่มีอะลูมิเนียมทุกวันเป็นเวลาหลายเดือนและในผู้ป่วยไตวายเรื้อรังหลังได้รับอะลูมิเนียมจากน้ำยาที่ใช้ในการฟอกไต⁶ ในช่วงหลายทศวรรษที่ผ่านมา ความเป็นพิษต่อระบบประสาทของอะลูมิเนียมได้รับความสนใจ เนื่องจากมีข้อสันนิษฐานว่ามีความเกี่ยวข้องกับโรคอัลไซเมอร์ โดยพบความสัมพันธ์ระหว่างอะลูมิเนียมในน้ำดื่มกับการเกิดโรคอัลไซเมอร์ในการศึกษาทางระบาดวิทยาหลายการศึกษา⁷ อย่างไรก็ตามมีข้อสงสัยเกี่ยวกับปัจจัยรบกวนอื่น ๆ และปริมาณได้รับอะลูมิเนียมทั้งหมดจากทุกแหล่งในการศึกษาเหล่านั้น ดังนั้นอ้างอิงจากข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่มีอยู่ คณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญว่าด้วยวัตถุเจือปนอาหารขององค์การอาหารและเกษตร และองค์การอนามัยโลกแห่งสหประชาชาติ (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; JECFA) รายงานว่ายังไม่มีการศึกษาทางระบาดวิทยาที่แน่ชัดว่าการได้รับอะลูมิเนียมจากอาหารทำให้เกิดความเสี่ยงในการพัฒนาโรคอัลไซเมอร์⁷ ในปี ค.ศ. 2011 JECFA ได้กำหนดปริมาณการได้รับอะลูมิเนียมต่อสัปดาห์

แล้วไม่เกิดผลเสียต่อร่างกาย (provisional tolerable weekly intake, PTWI) ที่ระดับ 2 มิลลิกรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ต่อสัปดาห์⁷

การประเมินการได้รับสารเคมีจากการบริโภคอาหาร (dietary exposure assessment) เป็นขั้นตอนสำคัญของการประเมินความเสี่ยงการได้รับสารเคมีและโอกาสในการเกิดผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค ซึ่งต้องนำข้อมูลปริมาณการบริโภคอาหารมาคำนวณร่วมกับความเข้มข้นของสารเคมีที่ตรวจพบในอาหาร ดังนั้นการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ (method validation) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลความเข้มข้นของสารเคมีในอาหารกลุ่มเสี่ยงที่มีความแม่นยำ ความเที่ยง และน่าเชื่อถือ⁸ โดยทั่วไปวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในอาหารนิยมใช้เทคนิคการย่อยด้วยกรด หรือกรดผสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และวิเคราะห์โดย Atomic Absorption Spectrometer (AAS) หรือ Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES) หรือ Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer (ICP-MS)⁹ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่นิยมบริโภคที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาขึ้นมา ซึ่งวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมที่ผ่านการตรวจสอบความเหมาะสมแล้วจะนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่คนไทยนิยมบริโภค และนำข้อมูลความเข้มข้นของอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นไปคำนวณปริมาณการได้รับ และประมาณความเสี่ยงต่อสุขภาพผู้บริโภคต่อไป

วัสดุสารเคมี และวิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุ และสารเคมี

1. สารมาตรฐานอะลูมิเนียม (Aluminium Standard for AAS, 1000 mg/L, Supelco Code 39435)
2. กรดไนตริกเข้มข้น (65%, Merck)
3. น้ำปราศจากไอออน (deionized water)

เครื่องมือ

เครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometer รุ่น PinAAcle 900Z บริษัท PerkinElmer ประเทศไทย

- Furnace ชนิด Graphite Furnace
- Graphite Tube ชนิด THGA Graphite tube
- Aluminum (Al) Lumina Hollow Cathode Lamp
- Argon gas ความบริสุทธิ์ 99.995%
- โปรแกรม software WinLab 32TM
- ความกว้างของช่องแสงเข้าออกจากโมโนโครเมเตอร์ (Slit width) 0.7 นาโนเมตร
- ความยาวคลื่น (wavelength) 309.27 นาโนเมตร

โดยสภาวะของเตาเผาอุณหภูมิสูง (furnace parameter) ของเครื่อง GFAAS สำหรับการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในการศึกษานี้แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1. สภาวะของเตาเผาอุณหภูมิสูงของเครื่อง GFAAS สำหรับการวิเคราะห์อะลูมิเนียม

Step No.	Temperature (°C)	Ramp time (sec)	Hold time (sec)	Internal flow	Gas type
1	110	1	30	250	Normal
2	130	15	30	250	Normal
3	1200	10	20	250	Normal
4	2300	0	5	0	Normal
5	2450	1	3	250	Normal

วิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียม

วิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นอ้างอิงวิธีการวิเคราะห์ของ Saiyed และ Yokel (2005)¹⁰ โดยมีการปรับเปลี่ยนบางขั้นตอน ทำการชั่งตัวอย่าง ประมาณ 1 กรัม ในภาชนะที่ทำจากเทฟลอน และเติมกรดไนตริก เข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ให้ความร้อนในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยน้ำ ปราศจากไอออน และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ทำการเจือจางต่อด้วยอัตราส่วนที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของอะลูมิเนียม อยู่ในช่วงของกราฟมาตรฐาน (standard curve) ซึ่งมีความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร นำสารละลายไปวัดความเข้มข้นอะลูมิเนียมโดยเทคนิค GFAAS

การตรวจสอบความเหมาะสมของวิธี (method validation)

คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (method performance characteristic) ที่ตรวจสอบ

ความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในการศึกษานี้ ได้แก่ ช่วงของการวัด ความเป็นเส้นตรง ความแม่นยำ ความเที่ยง ชัดจำกัดของการตรวจพบ และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ ดำเนินการทดสอบคุณลักษณะเฉพาะต่าง ๆ โดยอ้างอิงจาก Eurachem Guide¹¹ และแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว¹² นำผลการตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะต่าง ๆ ไปเปรียบเทียบกับเกณฑ์การยอมรับเพื่อยืนยันความเหมาะสมในการนำวิธีวิเคราะห์ไปใช้งาน

1. ช่วงการใช้งาน (Work range) และความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

ดำเนินการเตรียมสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียมจำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัม/ลิตร และนำไปวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมด้วยเครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer โดยใช้เครื่องฉีดสารตัวอย่างอัตโนมัติ (autosampler) แบบไมโครปิเปต วัดค่าการดูดกลืนแสง นำไปพล็อตกราฟมาตรฐาน หาค่า

สัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เพื่อประเมินความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของช่วงความเข้มข้นที่ตรวจสอบ พิจารณาค่า R^2 เทียบกับเกณฑ์ความเป็นเส้นตรงที่ยอมรับได้

2. ความแม่นยำ (Accuracy)

ดำเนินการเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการเติมสารมาตรฐานอะลูมิเนียมให้มีความเข้มข้น จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้นที่ระดับต่ำ (10 ไมโครกรัม/ลิตร) กลาง (50 ไมโครกรัม/ลิตร) และสูง (100 ไมโครกรัม/ลิตร) ทำการวัดปริมาณอะลูมิเนียมแต่ละความเข้มข้น จำนวน 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่กำหนดในวิธีวิเคราะห์ และคำนวณร้อยละการกลับคืน (% recovery) เปรียบเทียบผลกับเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC

3. ความเที่ยง (Precision) แสดงในรูปของความสามารถในการทวนซ้ำ (Repeatability)

ดำเนินการเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการเติมสารมาตรฐานอะลูมิเนียมให้มีความเข้มข้น จำนวน 3 ความเข้มข้น ได้แก่ ความเข้มข้นที่ระดับต่ำ (10 ไมโครกรัม/ลิตร) กลาง (50 ไมโครกรัม/ลิตร) และสูง (100 ไมโครกรัม/ลิตร) ทำการวัดปริมาณอะลูมิเนียมแต่ละความเข้มข้น จำนวน 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่กำหนดในวิธีวิเคราะห์ และคำนวณค่า RSDr และ pRSDr โดยใช้สมการ

$$RSD_r = \frac{SD_r \times 100}{Mean} \text{ และ}$$

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

และคำนวณหาค่า HorRat โดยใช้สมการ

$$HorRat = RSD_r / pRSD_r$$

เปรียบเทียบกับ HorRat กับเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐาน AOAC ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ

4. ขีดจำกัดของการตรวจวัด (limit of detection, LOD) และ ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

ดำเนินการเตรียมสารละลายกรดไนตริกที่ใช้สำหรับเตรียมสารมาตรฐาน (reagent blank) เพื่อตรวจสอบ LOD และ LOQ ของเครื่อง GFAAS (Instrumental LOD, LOQ) และดำเนินการเตรียมตัวอย่างที่ไม่มีอะลูมิเนียม (sample blank) เพื่อตรวจสอบ LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์ (ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง) ทำการวัดปริมาณอะลูมิเนียมแต่ละความเข้มข้น จำนวน 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่กำหนดในวิธีวิเคราะห์ คำนวณค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S_0) ของสารละลาย reagent blank และ sample blank และคำนวณ LOD และ LOQ ดังสมการ

$$S_0' = S_0 / \sqrt{n}$$

โดย $n = 3$ (จำนวนซ้ำ ในการวิเคราะห์จริง)

$$LOD = 3S_0'$$

$$LOQ = 10S_0'$$

ผลการวิจัย

ผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น โดยตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะต่างๆ ได้ผลดังนี้

1). ช่วงการใช้งาน (working range) และความเป็นเส้นตรง (linearity)

ผลการตรวจสอบช่วงของการวัดความเข้มข้นสารมาตรฐานอะลูมิเนียมระหว่าง 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร จำนวน 6 ความเข้มข้น ได้แก่ 10,

20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัม/ลิตร ภายใต้สภาวะที่กำหนดในวิธีวิเคราะห์ โดยการยืนยันความเป็นเส้นตรงของสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม และกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง แสดงในรูปที่ 1 และสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงเท่ากับ $y = 0.0025x + 0.0017$ โดย $R^2 = 0.9977$ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับที่ $R^2 \geq 0.995$ แสดงว่าช่วงความเข้มข้นของกราฟมาตรฐานอะลูมิเนียมมีความเป็นเส้นตรงและเหมาะสมกับการวิเคราะห์

2). ความแม่นยำ (Accuracy)

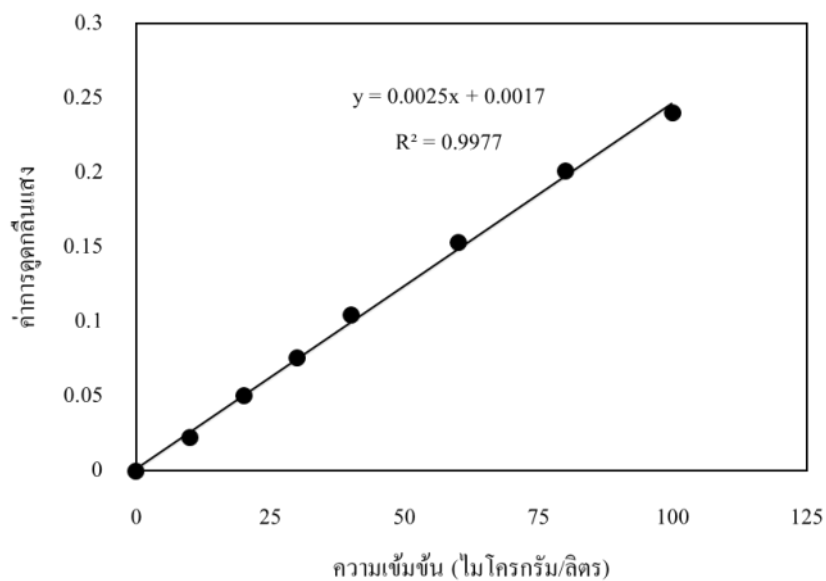
จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นอะลูมิเนียมที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (10 ไมโครกรัม/ลิตร) กลาง (50 ไมโครกรัม/ลิตร) และสูง (100 ไมโครกรัม/ลิตร) จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณค่าร้อยละการกลับคืน ดังแสดงผลในตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่ความเข้มข้นระดับต่ำ ค่าร้อยละการกลับคืน มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 87.19-107.3 และค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 95.78 ที่ความเข้มข้นระดับกลาง ค่าร้อยละการกลับคืน มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 96.08-111.40 และค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 100.92 ที่ความเข้มข้นระดับสูง ค่าร้อยละการกลับคืน มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 96.20-108.30 และค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 103.81 โดย AOAC กำหนดเกณฑ์การยอมรับ % recovery ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/ลิตร ต้องมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 60-115 และที่ระดับความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/ลิตร ต้องมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 80-110 ซึ่งพบว่าวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมภายใต้สภาวะที่กำหนดในการศึกษานี้ผ่านเกณฑ์การยอมรับของความแม่นยำทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น

3). ความเที่ยง (Precision)

จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นอะลูมิเนียมที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (10 ไมโครกรัม/ลิตร) กลาง (50 ไมโครกรัม/ลิตร) และสูง (100 ไมโครกรัม/ลิตร) จำนวน 10 ซ้ำ คำนวณค่า RSDr และ pRSDr ดังแสดงผลในตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่ระดับต่ำ กลาง และสูง ค่า RSDr มีค่าเท่ากับ 6.55, 4.75 และ 3.45 ตามลำดับ โดยเมื่อประเมินความเที่ยงโดยใช้ Horwitz' Ratio ตามเกณฑ์ของ AOAC พบว่าค่า HorRat ของการวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่ระดับต่ำ กลาง และสูง มีค่าเท่ากับ 0.31, 0.28 และ 0.23 ตามลำดับ โดย AOAC กำหนดเกณฑ์การยอมรับค่า HorRat ที่ค่า ≤ 2 ซึ่งพบว่าวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมภายใต้สภาวะที่กำหนดในการศึกษานี้ผ่านเกณฑ์การยอมรับของความเที่ยงทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น

4). ขีดจำกัดของการตรวจวัด (LOD) และ ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมใน reagent blank และ sample blank จำนวน 10 ซ้ำ ภายใต้สภาวะที่กำหนด แสดงในตารางที่ 4 ผลการทดสอบ reagent blank และ sample blank พบว่ามีปริมาณอะลูมิเนียมเฉลี่ยเท่ากับ 1.39 และ 4.46 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานคำนวณเป็น S_0 มีค่าเท่ากับ 0.51 และ 0.65 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ดังนั้นค่า LOD และ LOQ ของเครื่อง GFAAS มีค่าเท่ากับ 1.53 และ 5.09 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า LOD และ LOQ ของการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นในการศึกษานี้ มีค่าเท่ากับ 1.95 และ 6.51 ไมโครกรัม/ลิตร ตามลำดับ



รูปที่ 1. กราฟความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานอะลูมิเนียมกับค่าการดูดกลืนแสง

ตารางที่ 2. ร้อยละการกลับคืน (%recovery) ของการวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 3 ระดับ

ครั้งที่	ร้อยละการกลับคืน (%recovery)		
	10 µg/L	50 µg/L	100 µg/L
1	97.67	102.12	96.20
2	107.3	97.68	102.60
3	97.23	98.58	106.50
4	87.19	106.1	102.00
5	94.51	96.08	104.90
6	96.84	97.42	108.30
7	92.24	111.40	102.60
8	103.30	99.86	108.10
9	93.86	102.68	102.00
10	87.63	97.28	104.90
Mean	95.78	100.92	103.81

ตารางที่ 3. ผลการวิเคราะห์อะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 3 ระดับ (10, 50 และ 100 ไมโครกรัม/ลิตร)

ครั้งที่	ความเข้มข้นอะลูมิเนียม		
	10 µg/L	50 µg/L	100 µg/L
1	9.767	51.06	96.2
2	10.73	48.84	102.6
3	9.723	49.29	106.5
4	8.719	53.05	102
5	9.451	48.04	104.9
6	9.684	48.71	108.3
7	9.224	55.7	102.6
8	10.33	49.93	108.1
9	9.386	51.34	102
10	8.763	48.64	104.9
Mean	9.578	50.46	103.81
SDr	0.627	2.399	3.583
RSDr	6.55	4.75	3.45
$pRSD_r = 0.66 \times 2^{(1-0.5 \log C)}$	21	17	15
HorRat value = $RSD_r / pRSD_r$	0.31	0.28	0.23

ตารางที่ 4. ผลการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมใน reagent blank และ sample blank

ครั้งที่	Concentration of aluminium	
	Reagent blank	Sample blank
	(µg/L)	(mg/kg)
1	2.257	5.218
2	2.349	4.704
3	3.201	3.124
4	0.877	5.052
5	1.565	5.424
6	0.549	4.144
7	1.202	3.094
8	0.796	2.454
9	0.686	5.812
10	0.417	5.554
Mean	1.39	4.46
SD	0.88	1.13
S₀'	0.51	0.65
LOD = 3S₀'	1.53	1.95
LOQ = 10S₀'	5.09	6.51

วิจารณ์ผลการวิจัย

โดยทั่วไปเทคนิคการเตรียมตัวอย่างเพื่อ
ย่อยสลายสารอินทรีย์ที่มีในอาหารสำหรับการ
วิเคราะห์โลหะหนัก แบ่งออกเป็น 2 ประเภท
ได้แก่ การเผาตัวอย่างให้เป็นเถ้า (dry ashing)
หรือ การย่อยแบบเปียก(Wet digestion) โดยใช้

กรดที่มีความเข้มข้นสูง เช่น กรดไนตริก กรด
ไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟิวริก โดยใช้กรดเพียง
อย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์
ออกไซด์ ทำการย่อยในระบบปิด (closed system)
โดยให้ความร้อนในตู้อบหรือเครื่องไมโครเวฟ
สำหรับย่อยตัวอย่าง (microwave-assisted

digestion)¹³ โดยตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นเส้นก๋วยเตี๋ยวที่มีองค์ประกอบหลักคือ แป้ง สามารถถูกย่อยจนสมบูรณ์ด้วยกรดไนตริกเข้มข้นในภาชนะเทฟลอน (Teflon jar) ที่ 100 องศาเซลเซียส ในเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างอาหารที่มีไขมัน หรือ โปรตีนสูง อาจมีความจำเป็นต้องใช้กรดมากกว่า 1 ชนิด หรือใช้กรดร่วมกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพื่อช่วยในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในตัวอย่างสมบูรณ์^{10,13} อะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตริก (AAS) โดยเฉพาะกราไฟต์เฟอร์เนซ (graphite furnace-AAS; GFAAS) หรือ อิเล็กโตรเทอร์มอล (electrothermal-AAS) ซึ่งเป็นรูปแบบที่ไม่ใช้เปลวไฟในการทำให้อาตุกลายเป็นอะตอม (atomization) เป็นเทคนิคที่นิยมใช้แพร่หลายในการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในอาหาร เนื่องจากมีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) นอกจากนี้โดยเทคนิค GFAAS มีความไว (sensitivity) สูงกว่าเทคนิคอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปกโทรโฟโตเมตริกแบบใช้เปลวไฟ (flame-AAS) และ ICP-OES^{9,13} แม้ว่าปัจจุบันจะมีความนิยมใช้ ICP-MS ในการวิเคราะห์โลหะหนัก รวมถึงอะลูมิเนียมเพิ่มขึ้น แต่วิธี ICP-MS เหมาะสมกับการวิเคราะห์โลหะหนักหลายชนิดพร้อมกัน เครื่องมือและค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์มีราคาแพง รวมถึงต้องใช้ผู้วิเคราะห์ที่มีทักษะความชำนาญสูง ดังนั้นการใช้ GFAAS ในการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นก๋วยเตี๋ยวสำหรับการศึกษานี้จึงเป็นเทคนิคที่มีความเหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้วิเคราะห์หาปริมาณของอะลูมิเนียมในอาหารประเภทต่าง ๆ

ผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นก๋วยเตี๋ยวที่ช่วงการวัด 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร ให้ค่า R^2 มากกว่า 0.995 ซึ่งบ่งชี้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างความเข้มข้นของอะลูมิเนียมและค่าการดูดกลืนแสง ผลการตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยง โดยคำนวณค่าร้อยละการกลับคืนและค่า HorRat พบว่ามีค่าผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ผลการตรวจสอบค่า LOD และ LOQ ของเครื่องมือ มีค่าเท่ากับ 1.53 และ 5.09 ไมโครกรัม/ลิตร และเมื่อตรวจสอบ LOD และ LOQ ของวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น (ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมการย่อย และการเจือจางตัวอย่าง) มีค่าเท่ากับ 1.95 และ 6.51 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับเกณฑ์พิจารณาค่า LOD และ LOQ สำหรับการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ โดยคณะกรรมการวิชาการ มาตรฐานอาหาร FAO/WHO (Codex Alimentarius Commission - CAC) กำหนดไว้ว่าที่ปริมาณสูงสุด (maximum level; ML) มากกว่า/เท่ากับ 0.1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม วิธีการวิเคราะห์สารเคมีนั้น ๆ ควรมีค่า LOD และ LOQ น้อยกว่า/เท่ากับ 10 และ 5 เท่าของค่า ML ตามลำดับ¹⁴ ทั้งนี้ปริมาณสูงสุดของอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่กำหนดไว้เท่ากับ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม⁷ ดังนั้นวิธีการวิเคราะห์ควรมีค่า LOD และ LOQ น้อยกว่า/เท่ากับ 30 และ 60 มิลลิกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ซึ่งค่า LOD และ LOQ ของวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในการศึกษานี้สอดคล้องกับความเข้มข้นเป้าหมาย (target concentration)

การศึกษาก่อนหน้ารายงานช่วงการวัดอะลูมิเนียม ความแม่นยำ ความเที่ยง ชัดจำกัดของการตรวจวัดและ ชัดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณในตัวอย่างอาหารแตกต่างกันไปขึ้นกับวัตถุประสงค์การใช้งานและความเข้มข้นเป้าหมายในอาหารแต่ละประเภท de Paiva, et al. (2020)¹⁵ พัฒนาวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในอาหารสำหรับทารกด้วยเทคนิค ICP-OES โดยมีช่วงการวัดของกราฟมาตรฐานอยู่ระหว่าง 2-200 ไมโครกรัม/ลิตร ($R^2 \geq 0.999$) ค่า LOD และ LOQ ในตัวอย่างอาหารทารกแบบบด (puree) มีค่าเท่ากับ 49 และ 92 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ ขณะที่ค่า LOD และ LOQ ในตัวอย่างอาหารทารกแบบเหลว มีค่าเท่ากับ 16 และ 30 ไมโครกรัม/กิโลกรัม ตามลำดับ การตรวจสอบความแม่นยำในการศึกษาของ de Paiva, et al.¹⁵ โดยคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรผัน (coefficient of variation; CV) มีค่าไม่เกิน 10 เทียบกับเกณฑ์การยอมรับ CV เท่ากับ 25 และค่าร้อยละการกลับคืนของการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในตัวอย่างวัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference material; CRM) ของการศึกษาดังกล่าวมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 87-97 ซึ่งสรุปว่าวิธีการวิเคราะห์มีความเหมาะสม¹⁵ การศึกษาของ Bratakos, et al. (2012)¹⁶ รายงานผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในตัวอย่างอาหารด้วยเทคนิค GFAAS ผลการตรวจสอบความแม่นยำ พบว่าค่าร้อยละการกลับคืนจากการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในวัสดุอ้างอิง และจากการเติมสารมาตรฐานในตัวอย่างมีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 93-95 และร้อยละ 90-102 ตามลำดับ และผลการตรวจสอบความเที่ยง พบว่าค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (relative standard deviation; RSD) มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 3.4-6.5

บ่งชี้ว่าวิธีการวิเคราะห์อะลูมิเนียมในอาหารโดยเทคนิค GFAAS ในการศึกษาดังกล่าวมีความถูกต้องเหมาะสมตามเกณฑ์ที่ยอมรับได้¹⁶

สรุป

ผลการตรวจสอบความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นพบว่าในช่วงการวัดของกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัม/ลิตร ให้ค่า R^2 มากกว่า 0.995 ซึ่งบ่งชี้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ผลการตรวจสอบความแม่นยำ และความเที่ยง พบว่าค่าร้อยละการกลับคืน และค่า HorRat ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ AOAC ทุกระดับความเข้มข้นที่ทดสอบ ผลการตรวจสอบค่า LOD และ LOQ ของวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้น มีค่าสอดคล้องกับค่าเป้าหมายของปริมาณสูงสุดของอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่กำหนดไว้ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์อะลูมิเนียมในการศึกษานี้ ให้ผลที่มีความแม่นยำและมีความเที่ยง มีความน่าเชื่อถือผ่านเกณฑ์การยอมรับ และมีความเหมาะสมต่อวัตถุประสงค์การใช้งานสามารถใช้วิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมในผลิตภัณฑ์ประเภทเส้นที่นิยมบริโภคได้

กิตติกรรมประกาศ

-

ผลประโยชน์ทับซ้อน

คณะผู้นิพนธ์ขอยืนยันว่าไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนใด ๆ

เอกสารอ้างอิง

1. Zhang H, Tang J, Huang L, Shen X, Zhang R, Chen J. Aluminium in food and daily dietary intake assessment from 15 food groups in Zhejiang Province, China. *Food Addit Contam: B Surveill* 2016; 9: 73-8.
2. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 418 (พ.ศ. 2563) เรื่อง กำหนดหลักเกณฑ์ เงื่อนไข วิธีการใช้ และอัตราส่วนของวัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 137, ตอน พิเศษ 237 ง (ลงวันที่ 2 กันยายน 2563).
3. IPCS. Aluminium. Environmental Health Criteria 194. Geneva: WHO, 1997. Available at <https://incchem.org/documents/ehc/ehc/ehc194.htm>, accessed on Aug 10, 2022.
4. Greger JL. Dietary and other sources of aluminium intake. *Ciba Found Symp*, 1992, 169: 26-35.
5. Crisponi G, Fanni D, Gerosa C, *et al.* The meaning of aluminium exposure on human health and aluminium-related diseases. *Biomol Concepts* 2013; 4: 77-87.
6. WHO. Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 940. Geneva: WHO, 2007.
7. WHO. Aluminium in drinking-water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. Geneva: WHO, 2010.
8. Tanaviyutpakdee P, Karnpanit W, Alongkornchotikul R. The importance of method validation for risk assessment of exposure to chemicals in foods. *Thai J Toxicol* 2022; 37: 27-44.
9. Hardisson A, Revert C, Weller DG, *et al.* Aluminium exposure through the diet. *J Food Sci Nut* 2017; 3: 1-10.
10. Saiyed SM, and Yokel AR. Aluminium content of some foods and food products in the USA, with aluminium food additives. *Food Addit Contam* 2005; 22: 234-44.
11. Magnusson B, and Örnemark U. Eurachem guide: the fitness for purpose of analytical methods – a laboratory guide to method validation and related topics. 2nd ed., 2014. Available at https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_EN.pdf, accessed on Aug 5, 2022.
12. ทิพวรรณ นิ่งน้อย. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. 2549. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. นนทบุรี.
13. Welna M, Szymczycha-Madeja A, Pohl P. Quality of the trace element analysis: sample preparation steps. In: Akyar I, ed. *Wide spectra of quality control*. InTech, 2011: 53-70. Available at: <http://www.intechopen.com/books/wide-spectra-of-quality-control/quality-of-the-trace-elementanalysis-sample-preparation-steps>, accessed on Aug 15, 2022.
14. FAO and WHO. 2019. Codex Alimentarius Commission – Procedural Manual twenty-seventh edition. Rome. 254 p.
15. de Paiva EL, Medeiros C, Fioravanti MIA, *et al.* Aluminium in infant foods: total content, effect of in vitro digestion on bioaccessible fraction and preliminary exposure assessment. *J Food Compos Anal* 2020; 90: 103493.
16. Bratakos SM, Lazou AE, Bratakos MS, *et al.* Aluminium in food and daily dietary intake estimate in Greece. *Food Addit Contam: B Surveill* 2012; 5, 33-44.