

การตรวจสอบความใช้ได้วิธีทดสอบการแพร่กระจายโลหะหนักจาก วัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติกเพื่อสนับสนุนการส่งออกของไทย

Method validation for migration testing of metals from plastic food contact materials to support Thai export



นิชชาอร ปากว้ตชัย¹, ชินวัฒน์ ทองชัย¹
Nitchaon Pakawatchai¹, Chinawat Tongchat¹

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบการแพร่กระจายของโลหะจากพลาสติกที่ใช้เป็นวัสดุสัมผัสอาหารในสารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตรตามกฎหมายระเบียบวัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติกของสหภาพยุโรป โดยวิเคราะห์ปริมาณโลหะ 9 ชนิดได้แก่ อะลูมิเนียม (Al) แบเรียม (Ba) โคบอลต์ (Co) ทองแดง (Cu) เหล็ก (Fe) ลิเทียม (Li) แมงกานีส (Mn) นิกเกิล (Ni) และ สังกะสี (Zn) ด้วยเทคนิคอินดักทีฟลี คอปเปิลพลาสมา-ออปติคอลลิมิชั่นสเปกโตรเมทรี (ICP-OES) จากการศึกษพบว่าช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear range) ของการทดสอบอะลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส และ สังกะสี เท่ากับ 0.0-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับโคบอลต์และนิกเกิลมีช่วงความเป็นเส้นตรงการทดสอบเท่ากับ 0-0.5 และ 0-0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ค่าขีดจำกัดการตรวจหา (LOD) ของ อะลูมิเนียม แบเรียม โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส นิกเกิล และ สังกะสี เท่ากับ 0.027, 0.026, 0.014, 0.024, 0.025, 0.024, 0.035, 0.004 และ 0.022 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ค่าขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ของอะลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส และ สังกะสี เท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สำหรับโคบอลต์และนิกเกิลมีค่า LOQ เท่ากับ 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ มีความแม่นยำ (Accuracy) และ ความเที่ยง (Precision) ที่ระดับความเข้มข้น LOQ อยู่ในเกณฑ์การยอมรับโดยมีค่าร้อยละของปริมาณกลับคืน (% recovery) และค่าร้อยละเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) ของโลหะทั้ง 9 ชนิดอยู่ในช่วงร้อยละ 97.0-103 และร้อยละ 1.57-7.73 ตามลำดับ

Abstract

This research aimed to validate test method for specific migration of metals into 3% (w/v) acetic acid from plastics intended to come into contact with food according to EU regulations on plastic food contact materials. The test method was developed using inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (ICP-OES) to analyze the quantity of nine metals, i.e., aluminium (Al), barium (Ba), cobalt (Co), copper (Cu), iron (Fe), lithium (Li), manganese (Mn), nickel (Ni), and zinc (Zn). The results showed that the linear ranges of Al, Ba, Cu, Fe, Li, Mn, and Zn were 0-1.0 mg/kg while Co and Ni were 0-0.5 mg/kg and 0-0.1 mg/kg, respectively. The limits of detection (LOD) of Al, Ba, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Ni, and Zn were 0.027, 0.026, 0.014, 0.024, 0.025, 0.024, 0.035, 0.004 and 0.022 mg/kg, respectively. The limits of quantification (LOQ) of Al, Ba, Cu, Fe, Li, Mn, and Zn were 0.05 mg/kg while Co and Ni were 0.02 and 0.01 mg/kg, respectively. The accuracy and precision at LOQ concentrations were acceptable corresponding with satisfactory percentage recovery (% recovery) and relative standard deviation (% RSD) of all elements in ranges of between 97.0-103% and 1.57-7.73%, respectively.

คำสำคัญ: การแพร่กระจายจำเพาะ วัสดุสัมผัสอาหาร อินดักทีฟลีคอปเปิลพลาสมา-ออปติคอลลิมิชั่นสเปกโตรเมทรี

Keywords: Specific migration, Food contact materials (FCM), Commission regulation (EU) No.10/2011, Inductively coupled plasma-optical emission spectrophotometer (ICP-OES)

¹กรมวิทยาศาสตร์บริการ

^{*}Corresponding author e-mail address: nitchaon@dss.go.th

1. บทนำ (Introduction)

บรรจุภัณฑ์อาหารมีบทบาทสำคัญต่ออุตสาหกรรมผลิตอาหารแปรรูปและส่งออก เนื่องจากทำหน้าที่ป้องกันอาหารจากการปนเปื้อนและเสื่อมสภาพอันเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ การออกแบบบรรจุภัณฑ์ที่ดีสามารถดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคให้เลือกซื้อผลิตภัณฑ์อาหารนั้น ๆ ได้ บรรจุภัณฑ์จึงเป็นกลยุทธ์ที่ผู้ประกอบการสินค้ามักใช้สร้างความแตกต่างหรือเพิ่มคุณค่าให้กับสินค้า ปัจจุบันบรรจุภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปส่วนใหญ่ทำมาจากพลาสติก เนื่องจากสามารถปรับแต่งสมบัติต่าง ๆ ของพลาสติกให้เหมาะสมกับการใช้งานได้ง่ายโดยการใส่สารเติมแต่งต่าง ๆ (Additives) ทำให้สามารถตอบสนองรูปแบบการใช้ชีวิตของผู้บริโภคในยุคนี้ที่เน้นความสะดวกสบายและรวดเร็ว ดังจะเห็นได้จากการซื้ออาหารพร้อมรับประทาน (Ready to eat) ตามร้านสะดวกซื้อต่าง ๆ ที่เพิ่มมากขึ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์อาหารเหล่านี้ส่วนใหญ่บรรจุในกล่องพลาสติกแบบ Take away box รวมทั้งการใช้แก้วพลาสติกสำหรับเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ อย่างไรก็ตาม เมื่อบรรจุภัณฑ์เหล่านี้สัมผัสอาหารจะเกิดการเคลื่อนย้ายของสารที่เป็นองค์ประกอบลงสู่อาหารซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ ดังนั้น หน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้องในแต่ละประเทศจึงออกกฎระเบียบและกำหนดปริมาณการแพร่กระจายของสารต่าง ๆ เพื่อคุ้มครองความปลอดภัยให้แก่ผู้บริโภค สหภาพยุโรปถือเป็นกลุ่มประเทศที่มีกฎระเบียบด้านความปลอดภัยของวัสดุสัมผัสเป็นที่ยอมรับในระดับสากล และเพื่อป้องกันอันตรายจากการบริโภคอาหารที่มีการแพร่กระจายของโลหะต่าง ๆ จากวัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติกจึงได้กำหนดเกณฑ์ปริมาณการแพร่กระจาย (Specific migration limited; SML) ของโลหะ 9 ชนิดไว้ในกฎระเบียบ Commission regulation (EU) No. 10/2011 และฉบับแก้ไขเพิ่มเติม Commission regulation (EU) 2016/1416 และ 2017/752 ดังข้อมูลตามตารางที่ 1 [1-3]

ตารางที่ 1 เกณฑ์กำหนดปริมาณการแพร่กระจายจำเพาะของโลหะ 9 ชนิด จากวัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติกตามกฎระเบียบของสหภาพยุโรป

ธาตุ	เกณฑ์กำหนดการแพร่กระจายจำเพาะ (SML) (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารหรือสารละลายจำลองแทนอาหาร)
แบเรียม (Ba)	1
โคบอลต์ (Co)	0.05
ทองแดง (Cu)	5
เหล็ก (Fe)	48
ลิเทียม (Li)	0.6
แมงกานีส (Mn)	0.6
สังกะสี (Zn)	5
อะลูมิเนียม (Al)	1
นิกเกิล (Ni)	0.02

ปัจจุบันมีหลายเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์ปริมาณโลหะได้ เช่น ICP, AAS, ICP-MS, ICP-OES และ XRF ซึ่งเทคนิคเหล่านี้เป็นที่รู้จักและใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยแต่ละเทคนิคมีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ขึ้นกับความสะดวกและความต้องการของผู้ทำการวิเคราะห์ เทคนิค ICP-OES เป็นเทคนิคที่สามารถวิเคราะห์โลหะหนักได้รวดเร็ว แม่นยำ และสามารถวิเคราะห์ธาตุได้พร้อมกันหลายธาตุจึงเป็นที่นิยมใช้อย่างแพร่หลาย ตัวอย่างการใช้เทคนิค ICP-OES ในการทดสอบปริมาณโลหะที่ละลายจากวัสดุสัมผัสอาหารเช่น Feng He และคณะ [4] ศึกษาการแพร่กระจายของโลหะ 7 ชนิด ได้แก่ อะลูมิเนียม แบเรียม แคลเซียม เหล็ก แมงกานีส โพแทสเซียม และสังกะสี จากงานพลาสติกชนิด Polylactic acid (PLA) สกัดโดยใช้สารละลายจำลองแทนอาหารเป็นสารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 3 ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำสารละลายไปวิเคราะห์ปริมาณโลหะด้วยเครื่อง ICP-OES พบการแพร่กระจายของโลหะทั้ง 7 ชนิดจากงานพลาสติก PLA แต่ไม่เกินเกณฑ์กำหนดปริมาณที่สามารถบริโภคได้ต่อวัน (Estimated daily intake, EDI)

เพื่อช่วยผู้ประกอบการผลิตวัสดุสัมผัสอาหารของไทยตรวจสอบ ควบคุมคุณภาพสินค้าก่อนส่งออกไปขายยังประเทศในกลุ่มสหภาพยุโรป ศูนย์ทดสอบวัสดุสัมผัสอาหารของอาเซียน กรมวิทยาศาสตร์บริการ ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการที่มีหน้าที่รับผิดชอบให้บริการทดสอบวัสดุสัมผัสอาหารตามกฎระเบียบ มาตรฐานภายในประเทศและของประเทศคู่ค้า จึงได้พัฒนาวิธีทดสอบการแพร่กระจายของโลหะทั้ง 9 ชนิดจากพลาสติกด้วยเทคนิค ICP-OES [5-7] และดำเนินการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบดัง

กล่าว เพื่อให้ผลการทดสอบที่ได้มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ เป็นที่ยอมรับของนานาชาติประเทศ รวมทั้งเพิ่มขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการด้านการทดสอบความปลอดภัยของวัสดุสัมผัสอาหาร

2. วิธีการวิจัย (Experimental methods)

2.1 ตัวอย่าง

ตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ เป็นแผ่นฟิล์มพลาสติกสำหรับสัมผัสอาหารชนิดพอลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low density polyethylene) ทำความสะอาดผิวโดยการเช็ดเบา ๆ ด้วยผ้าไร้ขน (Lint free cloth) แล้วนำไปตัดให้ได้ขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 6 x 10 เซนติเมตร จำนวน 40 ตัวอย่าง [8]

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.2.1 เครื่อง Inductively coupled plasma-optical emission spectrometer (ICP-OES) บริษัท Perkin Elmer รุ่น OPTIMA 8300

RF Power	1500 W
Plasma/Auxiliary/Nebulizer Flow	8 / 0.2 / 0.7 L/min
Plasma Viewing	Axial view
nebulizer	Concentric

2.2.2 ตู้อบไฟฟ้า

2.2.3 ไม้บรรทัด ความละเอียด 0.1 มิลลิเมตร บริษัท Binder รุ่น FP 115

2.2.4 ปีเปตต์ขนาด 1, 2, 3, 5 และ 10 มิลลิเมตร ชั้นคุณภาพ A

2.2.5 กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิเมตร ชั้นคุณภาพ A

2.2.6 ขวดวัดปริมาตร ขนาด 100 มิลลิเมตร ชั้นคุณภาพ A

2.2.7 หลอดทดลองพร้อมฝาปิด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง x สูง ประมาณ 2.5 x 25 เซนติเมตร

2.3 สารเคมี

2.3.1 สารละลายมาตรฐานโลหะระดับอ้างอิง (Reference solution) 9 ธาตุ ได้แก่

1) สารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม 2) สารละลายมาตรฐานแบเรียม 3) สารละลายมาตรฐานโคบอลต์ 4) สารละลายมาตรฐานทองแดง 5) สารละลายมาตรฐานเหล็ก 6) สารละลายมาตรฐานลิเทียม 7) สารละลายมาตรฐานแมงกานีส 8) สารละลายมาตรฐานนิกเกิล และ 9) สารละลายมาตรฐานสังกะสี ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บริษัท Perkin Elmer

2.3.2 สารละลายมาตรฐานโลหะระดับอ้างอิง 9 ธาตุ ตามข้อ 2.3.1 ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร บริษัท SPC Science

2.3.3 กรดอะซิติกเข้มข้น ชนิดคุณภาพวิเคราะห์ (AR grade) ความเข้มข้นร้อยละ 100 บริษัท Merck

2.3.4 น้ำปราศจากไอออน (Deionized water)

2.3.5 แก๊สอาร์กอน ชนิด High purity (HP) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.995

2.3.6 แก๊สไนโตรเจน ชนิด Ultra high purity (UHP) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.999

2.4 วิธีดำเนินงาน

2.4.1 การหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity)

การศึกษานี้จะประเมินจากช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานระหว่างค่าความเข้มแสง (Intensity) กับค่าความเข้มข้นของโลหะแต่ละชนิดตามวิธีการใช้งานของเครื่อง พิจารณาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient, R^2) ของกราฟมาตรฐาน โดยค่า R^2 ต้องไม่น้อยกว่า 0.995 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะดังตารางที่ 2 โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิเมตร ที่ผ่านการทำความสะอาด และแช่สารละลายกรดไนตริกร้อยละ 10 และล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน

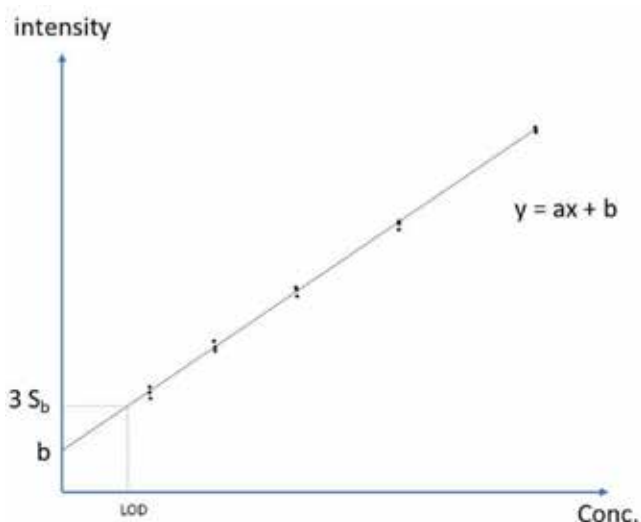
2.4.2 การหาค่าขีดจำกัดการตรวจหาและขีดจำกัดการวัดปริมาณ

การหาค่าขีดจำกัดการตรวจหา (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดการวัดปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ) ด้วยกราฟมาตรฐานตาม Technical guideline ของ EU [9] ทำได้โดยสร้างกราฟมาตรฐาน (รูปที่ 1) ด้วย Spiked sample

blank ที่ครอบคลุมช่วงการใช้งาน 5 ระดับ (ตามตารางที่ 2) ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ คำนวณจุดตัดแกน (Intercept) จากสมการ $y = ax + b$ แล้วนำค่า b มาคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S_b)

ตารางที่ 2 ความเข้มข้นของสารมาตรฐานโลหะที่ใช้เตรียมกราฟมาตรฐาน

ขวดที่	ระดับความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	อะลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง เหล็ก ลิเทียม และสังกะสี	โคบอลต์	นิกเกิล
สารละลายแบลงค์ (สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 3 มวลต่อปริมาตร)	-	-	-
สารละลายมาตรฐานโลหะขวดที่ 1	0.05	0.02	0.01
สารละลายมาตรฐานโลหะขวดที่ 2	0.10	0.03	0.02
สารละลายมาตรฐานโลหะขวดที่ 3	0.30	0.05	0.03
สารละลายมาตรฐานโลหะขวดที่ 4	0.50	0.10	0.05
สารละลายมาตรฐานโลหะขวดที่ 5	1.00	0.50	0.10



รูปที่ 1 การหาขีดจำกัดการตรวจหาโดยใช้กราฟมาตรฐาน

ขีดจำกัดการตรวจหาคำนวณจากสูตร

$$LOD = \text{ความเข้มข้น เมื่อ } Y = 3 S_b$$

เมื่อ S_b = Standard deviation ของ b

b = Intercept = Intensity บนแกน Y เมื่อ $X = 0$

ขีดจำกัดการวัดปริมาณ คำนวณจาก LOD ตาม Guidelines for performance criteria and validation procedures of analytical methods used in controls of food contact materials ของ EU [9] จากสูตร

$$LOQ = 2 LOD$$

2.4.3 การหาค่าความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีทดสอบที่ขีดจำกัดการวัดปริมาณของวิธีทดสอบ

พิสูจน์ความเที่ยงและความแม่นยำที่ขีดจำกัดการวัดปริมาณของการทดสอบ (LOQ) จากร้อยละค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (% RSD) และร้อยละการคืนกลับ (% recovery) ตามลำดับ โดยคำนวณจากสูตร

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

$$\text{และ } \% \text{ recovery} = \frac{C_1 - C_0}{C_{\text{spike}}}$$

เมื่อ C_1 = ความเข้มข้นที่ทดสอบได้ของ spiked sample

C_0 = ความเข้มข้นของตัวอย่างเริ่มต้น

C_{spike} = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม

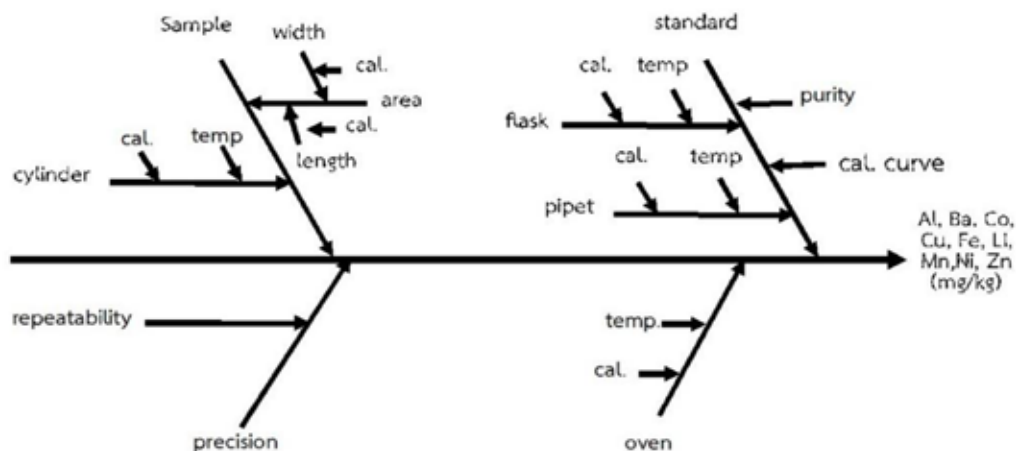
2.4.4 การหาค่าความความเที่ยงและความแม่นยำของช่วงการใช้งาน (Working range)

เตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะจำนวน 3 ระดับคือ ต่ำ กลาง และสูงของช่วงการใช้งาน ตามสารละลายมาตรฐานขวดที่ 1 ขวดที่ 3 ขวดที่ 5 ของตารางที่ 2 ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ (ได้สารละลายมาตรฐานโลหะจำนวนทั้งหมด 30 ขวด) เติมสารละลายมาตรฐานโลหะแต่ละขวดลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างพลาสติก ขนาด 6 x 10 เซนติเมตร จนครบจำนวน 30 หลอด นำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโลหะชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่อง ICP-OES

จากผลการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP-OES สามารถแปลงหน่วยจากมิลลิกรัมต่อลิตรเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สารละลายตัวแทนอาหารได้ตามวิธีมาตรฐาน EN 13130-1 [8] โดยคำนวณจากค่าความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity) ของกรดอะซิติกร้อยละ 3 เท่ากับ 1 ดังนั้น 1 ลิตร จึงเท่ากับ 1 กิโลกรัมสารละลายตัวแทนอาหาร

2.4.5 การประมาณค่าความไม่แน่นอน

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบการแพร่กระจายของโลหะทั้ง 9 ชนิด จากวัสดุสัมผัสอาหารประเภทพลาสติกด้วย ICP-OES ใช้วิธี Bottom-up approach ตาม GUM [10] โดยรวบรวมแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนแสดงด้วยแผนภูมิแก๊งปลา ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 แหล่งที่มาของความไม่แน่นอน

3. ผลและวิจารณ์ (Results and discussion)

3.1 ผลการหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง

ผลการทดสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของอะลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส และ สังกะสี ในช่วงความเข้มข้น 0-1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม โดยเตรียมสารมาตรฐานผสมของอะลูมิเนียม แบเรียม ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส และ สังกะสี ให้มีปริมาณ 0, 0.05, 0.10, 0.30, 0.50 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เตรียมสารละลายมาตรฐานโคบอลต์ ในช่วงความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณ 0, 0.02, 0.03, 0.10 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และเตรียมสารละลายมาตรฐานนิกเกิล ในช่วงความเข้มข้น 0-0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีปริมาณ 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.05 และ 0.10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แล้วนำไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเข้มข้นกับความเข้มแสงกับปริมาณโลหะพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของทุกธาตุอยู่ในช่วง 0.9994-1.0000 ซึ่งมากกว่า 0.995 จึงสามารถเลือกช่วงการใช้งานที่ความเข้มข้นของแต่ละธาตุ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ช่วงความเข้มข้นและช่วงการใช้งาน

ธาตุ	ช่วงความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ช่วงความเข้มข้นการใช้งาน (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R ²)
อะลูมิเนียม	0-1.0	0.05-1.0	0.9999
แบเรียม	0-1.0	0.05-1.0	1.0000
โคบอลต์	0-0.5	0.02-0.5	1.0000
ทองแดง	0-1.0	0.05-1.0	0.9998
เหล็ก	0-1.0	0.05-1.0	0.9998
ลิเทียม	0-1.0	0.05-1.0	0.9994
แมงกานีส	0-1.0	0.05-1.0	0.9997
นิกเกิล	0-0.1	0.01-0.1	0.9998
สังกะสี	0-1.0	0.05-1.0	0.9996

3.2 ผลการหาขีดจำกัดการตรวจหาและขีดจำกัดการวัดปริมาณ

จากการสร้างกราฟมาตรฐานด้วย Spiked sample blank ที่ครอบคลุมช่วงการใช้งาน 5 ระดับ ตามตารางที่ 2 ระดับความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ สามารถสรุปค่า LOD และค่า LOQ จากการคำนวณได้ดังตารางที่ 4 โดยค่า LOD ของโลหะทั้ง 9 ชนิดอยู่ในช่วง 0.004-0.035 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และค่า LOQ อยู่ในช่วง 0.008-0.070 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบหาขีดจำกัดการตรวจหา (LOD) และขีดจำกัดการวัดปริมาณ (LOQ) ที่ได้จากการคำนวณ

ธาตุ	LOD (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	LOQ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
อะลูมิเนียม	0.027	0.054
แบเรียม	0.026	0.052
โคบอลต์	0.014	0.028
ทองแดง	0.024	0.048
เหล็ก	0.025	0.050
ลิเทียม	0.024	0.048
แมงกานีส	0.035	0.070
นิกเกิล	0.004	0.008
สังกะสี	0.022	0.044

อย่างไรก็ตาม ค่า LOQ ที่คำนวณได้ไม่เหมาะสมกับการปฏิบัติงานจริง จึงกำหนดค่า LOQ ใหม่เพื่อให้สะดวกในการเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะชนิดต่าง ๆ (Metal standard solution) และการเลือกขนาดปิเปตต์ (Volumetric pipet) ที่ระดับความเข้มข้นตามตารางที่ 5 และทำการพิสูจน์ความเที่ยงและความแม่นยำที่ความเข้มข้นดังกล่าว โดยที่ระดับความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (1 ppm) กำหนดให้ค่า % recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 80-110 และ % RSD ไม่เกินร้อยละ 11 [11] หากพิสูจน์แล้วพบว่าค่า LOQ ที่กำหนดดังกล่าวยังไม่มีความเที่ยงและความแม่นยำจึงเพิ่มระดับความเข้มข้นเพื่อหาขีดจำกัดการวัดปริมาณที่ถูกต้องต่อไป และทำการพิสูจน์ใหม่จนกว่าจะได้ค่าที่เหมาะสมและอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

ตารางที่ 5 ขีดจำกัดการตรวจหา (LOD) และขีดจำกัดการวัดปริมาณ (LOQ) ที่กำหนดใหม่

ธาตุ	LOD (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	LOQ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
อะลูมิเนียม	0.027	0.05
แบเรียม	0.026	0.05
โคบอลต์	0.014	0.02
ทองแดง	0.024	0.05
เหล็ก	0.025	0.05
ลิเทียม	0.024	0.05
แมงกานีส	0.035	0.05
นิกเกิล	0.004	0.01
สังกะสี	0.022	0.05

3.3 ผลการหาค่าความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีทดสอบที่ขีดจำกัดการวัดปริมาณของวิธีทดสอบ (LOQ)

จากค่า LOQ ที่ปรับใหม่ในตารางที่ 5 ทำการพิสูจน์ความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีโดยการทดสอบ Spike sample ที่มีค่าความเข้มข้นเท่ากับ LOQ จำนวน 10 ซ้ำ พบว่าวิธีทดสอบโลหะ 9 ชนิดได้แก่ อะลูมิเนียม แบริียม โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส นิกเกิล และสังกะสี มี %RSD เป็นร้อยละ 3.4, 3.7, 1.6, 2.7, 2.6, 7.5, 6.1, 7.7 และ 5.9 ตามลำดับ ซึ่งไม่มากกว่าร้อยละ 11 ตามเกณฑ์การยอมรับ และค่าเฉลี่ยร้อยละปริมาณกลับคืนโลหะทั้ง 9 ชนิดอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้คือร้อยละ 80-110 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ร้อยละปริมาณกลับคืนโลหะของการทดสอบ Spike Sample ที่ระดับ LOQ

ครั้งที่	ร้อยละของปริมาณกลับคืนของโลหะ								
	Al	Ba	Co	Cu	Fe	Li	Mn	Ni	Zn
1	102.0	100.0	100.0	106.0	108.0	102.0	96.0	110.0	98.0
2	106.0	96.0	100.0	104.0	104.0	110.0	94.0	100.0	98.0
3	98.0	96.0	105.0	104.0	104.0	110.0	92.0	90.0	94.0
4	98.0	94.0	100.0	102.0	102.0	110.0	104.0	100.0	90.0
5	98.0	96.0	100.0	104.0	104.0	110.0	90.0	100.0	94.0
6	104.0	96.0	100.0	102.0	104.0	94.0	106.0	110.0	108.0
7	102.0	94.0	100.0	98.0	102.0	94.0	102.0	110.0	94.0
8	96.0	104.0	100.0	100.0	98.0	96.0	102.0	110.0	106.0
9	104.0	102.0	100.0	98.0	100.0	96.0	104.0	90.0	94.0
10	98.0	94.0	100.0	100.0	104.0	94.0	106.0	100.0	94.0
Mean $\pm$ SD	100.6 $\pm$ 3.41	97.2 $\pm$ 3.55	100.5 $\pm$ 0.10	101.8 $\pm$ 2.74	103.0 $\pm$ 2.71	101.6 $\pm$ 7.59	99.6 $\pm$ 6.02	102.0 $\pm$ 7.89	97.0 $\pm$ 5.75

3.4 ผลการหาค่าความความเที่ยงและความแม่นยำของช่วงการใช้งาน

การศึกษาความจำเพาะของวิธีการทดสอบโลหะในตัวอย่างพลาสติก โดยเติมสารละลายมาตรฐานโลหะ ได้แก่ อะลูมิเนียม แบริียม โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส นิกเกิล และสังกะสี จำนวน 3 ระดับความเข้มข้นในตัวอย่างพลาสติก คือ ระดับต่ำ ระดับกลาง ระดับสูง ของช่วงการใช้งานกราฟมาตรฐาน พบว่า ปริมาณที่คืนกลับของโลหะทั้ง 9 ชนิด ทั้ง 3 ระดับที่เติมในตัวอย่างพลาสติก มีค่าอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ คืออยู่ในช่วงร้อยละ 80-110 [11] โดยสามารถสรุป ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 สรุปร้อยละปริมาณที่คืนกลับ (% recovery) ของโลหะที่เติมในตัวอย่างที่ระดับต่ำ (Spike 1) ระดับกลาง (Spike 2) และระดับสูง (Spike 3)

สารละลายมาตรฐานโลหะ	Spike 1		Spike 2		Spike 3	
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD
อะลูมิเนียม	0.050	100.6 $\pm$ 3.41	0.300	100.6 $\pm$ 3.17	1.00	99.8 $\pm$ 0.73
แบริียม	0.050	97.2 $\pm$ 3.55	0.300	100.8 $\pm$ 0.36	1.00	99.4 $\pm$ 0.55
โคบอลต์	0.020	100.5 $\pm$ 1.58	0.100	99.8 $\pm$ 0.42	0.50	99.3 $\pm$ 0.71

สารละลาย มาตรฐานโลหะ	Spike 1		Spike 2		Spike 3	
	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อ กิโลกรัม)	% recovery $\pm$ SD
ทองแดง	0.050	101.8 $\pm$ 2.74	0.300	98.9 $\pm$ 0.85	1.00	102.9 $\pm$ 0.75
เหล็ก	0.050	103.0 $\pm$ 2.71	0.300	98.2 $\pm$ 1.10	1.00	100.7 $\pm$ 0.83
ลิเทียม	0.050	101.6 $\pm$ 7.59	0.300	97.8 $\pm$ 2.78	1.00	100.9 $\pm$ 0.73
แมงกานีส	0.050	99.6 $\pm$ 6.02	0.300	98.5 $\pm$ 0.96	1.00	101.2 $\pm$ 0.75
นิกเกิล	0.010	102.0 $\pm$ 7.89	0.030	100.3 $\pm$ 2.92	0.10	100.9 $\pm$ 1.20
สังกะสี	0.050	97.0 $\pm$ 5.75	0.300	101.9 $\pm$ 1.63	1.00	101.1 $\pm$ 0.80

3.5 การประมาณค่าความไม่แน่นอน

จากผลการทดลองสามารถประมาณค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบการแพร่กระจายของโลหะ อะลูมิเนียม แบเรียม โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส นิกเกิล และสังกะสี ในสารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร ด้วยเครื่องอินดักทีฟ คัปเปิลพลาสมา-ออปติคอล อิมิสชัน สเปกโตรมิเตอร์ มีค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($k=2$) ได้ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบหาการแพร่กระจายของอะลูมิเนียม แบเรียม โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก ลิเทียม แมงกานีส นิกเกิล และสังกะสี ในสารละลายกรดอะซิติกร้อยละ 3 (w/v)

ธาตุ	u_c (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	U_{expand} (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ค่าความไม่แน่นอนของการ ทดสอบ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)
อะลูมิเนียม	0.0044	0.0088	0.01
แบเรียม	0.0025	0.0050	0.01
โคบอลต์	0.0014	0.0028	0.005
ทองแดง	0.0031	0.0062	0.01
เหล็ก	0.0030	0.0060	0.01
ลิเทียม	0.0048	0.0096	0.01
แมงกานีส	0.0034	0.0068	0.01
นิกเกิล	0.0009	0.0018	0.005
สังกะสี	0.0040	0.0080	0.01

4. สรุป (Conclusion)

จากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีทดสอบการแพร่กระจายของโลหะในสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตร ด้วยเครื่องอินดักทีฟ คัปเปิลพลาสมา-ออปติคอล อิมิสชัน สเปกโตรมิเตอร์โดยตรวจสอบคุณลักษณะเฉพาะที่แสดงสมบัติของวิธีทดสอบ ได้แก่ ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ค่าขีดจำกัดการตรวจหาและขีดจำกัดการวัดปริมาณ การหาค่าความความเที่ยงและความแม่นยำของช่วงการใช้งาน พบว่าเป็นไปตามเกณฑ์กำหนด มีความเที่ยงและความแม่นยำตลอดช่วงการใช้งาน และมีค่าความไม่แน่นอนของผลการทดสอบของแต่ละธาตุไม่เกินร้อยละ 20 [12] วิธีการทดสอบนี้ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี มีความเหมาะสมต่อการนำไปปฏิบัติงาน ดังนั้น ห้องปฏิบัติการสามารถนำวิธีดังกล่าวมาใช้ทดสอบหาการแพร่กระจายของโลหะในสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 3 โดยมวลต่อปริมาตรได้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณผู้บังคับบัญชาและบุคลากรศูนย์ทดสอบวัสดุสัมผัสอาหารของอาเซียน กรมวิทยาศาสตร์บริการ ที่คอยสนับสนุนและให้คำแนะนำ ทำให้การดำเนินงานในครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์

6. เอกสารอ้างอิง

- [1] COMMISSION REGULATION (EU) NO. 10/2011 OF 14 JANUARY 2011. *Plastic material and articles intended to come into contact with food* [online]. Official Journal of the European Union. 2011. [viewed 14 June 2019]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32011R0010>.
- [2] COMMISSION REGULATION (EU) 2016/1416 OF 24 AUGUST 2016. *Amending and correcting Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food* [online]. Official Journal of the European Union. 2016. [viewed 14 June 2019]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A32016R1416>.
- [3] COMMISSION REGULATION (EU) 2017/752 OF 28 APRIL 2017. *Amending and correcting Regulation (EU) No 10/2011 on plastic materials and articles intended to come into contact with food* [online]. Official Journal of the European Union. 2017. [viewed 14 June 2019]. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32017R0752>.
- [4] HE, JIN-FENG, XIN-GUANG LV, QIN-BAO LIN, ZHONG LI, JIA LIAO, CAI-YUN XU and WEN-JUN ZHONG. Migration of metal elements from polylactic acid dinner plate into acidic food simulant and its safety evaluation. *Food Packaging and Shelf Life*. 2019, **22**, 100381.
- [5] MARTIN, T.D., BROCKHOFF, C.A., CREED, J.T. and EMMC METHODS WORK GROUP. *Method 200.7: Determination of metals and trace elements in water and wastes by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry* [online]. U.S. EPA., Revision 4.4, Cincinnati, OH, 1994. [viewed 14 June 2019]. Available from: http://www.epa.gov/waterscience/methods/method/files/200_7.pdf.
- [6] MARTIN, T.D. *Method 200.5. Determination of trace elements in drinking water by axially viewed inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry* [online]. U.S. EPA., Washington, DC. 2003. [viewed 14 June 2019]. Available from: https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_report.cfm?Lab=NERL&dirEntryId=103916&simpleSearch=1&searchAll=200.5.
- [7] SAROJAM, P. *Application note: ICP-Optical emission spectroscopy, analysis of wastewater for metals using ICP-OES* [online]. PerkinElmer, USA. [viewed 21 February 2020]. Available from: https://www.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/APP_MetalsinWastewater.pdf.
- [8] BRITISH STANDARDS. *BS EN 13130-1:2004. Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics substances subject to limitation - Part 1: Guide to test methods for the specific migration of substances from plastics to foods and food simulants and the determination of substances in plastics and the selection of conditions of exposure to food simulants*. Brussel: European committee for Standardization. 2004.
- [9] BRATINOVA S., B. RAFFAEL and C. SIMONEAU. *Guidelines for performance criteria and validation procedures of analytical methods used in controls of food contact materials*. Publication office of the European Union. 2009.
- [10] R. BETTENCOURT DA SILVA, and A. WILLIAMS. *EURACHEM/CITAC Guide: Setting and using target uncertainty in chemical measurement* [online]. 2015. [viewed 14 June 2019]. Available from: www.eurachem.org.
- [11] AOAC. *Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements* [online]. AOAC international. 2016. [viewed 15 November 2018]. Available from: http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf.
- [12] ดวงกมล เชาวนศรีหมุด, จิตวิไล เวฬุวนารักษ์, จิรพรรณ โรมา และนุชรินทร์ พลหงส์. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบปริมาณ แคดเมียม โคโรเนียม ตะกั่ว โมลิบดีนัมและนิกเกิลที่ละลายจากภาชนะหุงต้ม เหล็กกล้าไร้สนิม. *Bulletin of Applied Sciences*. 2561, 7(7), 18-23.