

The background is a solid medium blue. It is decorated with several large, light blue, organic, wavy shapes that resemble cells or fluid droplets. Inside these larger shapes and scattered elsewhere are numerous concentric circles of varying sizes, also in light blue, creating a layered, cellular effect.

2

การพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับ การวัดปริมาณธาตุบางชนิดในผงฟ้าทะลายโจร

Development of Thailand reference material for determining some
elements in green chiretta (*Andrographis paniculata*) powder

2

อุษณา ลี้เกรียงไกร¹, นันทน์ภัส ลายทิพย์¹, สุทธินันท์ แท้บรรพกุล¹, นงลักษณ์ ตั้งไพศาลกุล¹

Usana Leekriangkrai¹, Nunnapus Laitip¹, Sutthinun Taebunpakul¹, Nongluck Tangpaisarnkul¹

รับบทความ: 26 ธันวาคม 2565 แก้ไขบทความ: 8 กุมภาพันธ์ 2566 ยอมรับตีพิมพ์: 20 กุมภาพันธ์ 2566

บทคัดย่อ

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ (มว.) ได้พัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material, CRM) หรือชื่อทางการค้าคือ Thailand Reference Material (TRM) สำหรับการวัดปริมาณธาตุบางชนิดในผงฟ้าทะลายโจรขึ้น เพื่อช่วยสนับสนุนการวิเคราะห์วัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้มีความถูกต้อง และมีความน่าเชื่อถือโดยสามารถสอบย้อนกลับได้ทางมาตรวิทยาซึ่ง มว. ได้รับการยอมรับในระดับสากลจากการประกาศความสามารถทางด้านการวัด Calibration and Measurement Capability (CMC) บนเว็บไซต์ของ International Bureau of Weight and Measures (BIPM) จากการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัดระหว่างประเทศในรายการต่าง ๆ เช่น CCQM-K89 เป็นต้น ทำให้ผลการวัดโลหะหนักในสมุนไพรมีความน่าเชื่อถือในระดับนานาชาติ ดังนั้น มว. จึงอาศัยความสามารถดังกล่าวให้ค่าอ้างอิง (Certified value) และค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty) ใน TRM-F-2006 สำหรับธาตุ As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, P, Pb และ Zn รวมถึงให้ค่าเพื่อเป็นข้อมูล (Information value) สำหรับธาตุ Hg และ Na ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ ID-ICP-MS, GSA-ICP-MS, GSA-ICP-OES, Ext-ICP-MS และ Ext-ICP-OES โดย TRM-F-2006 ที่พัฒนาขึ้นนี้มีกระบวนการผลิตเป็นไปตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองตามระบบคุณภาพ ISO 17034 ซึ่งพบว่าตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรมีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความเสถียรทั้งระยะสั้น และระยะยาว ดังนั้นจึงสามารถนำ TRM-F-2006 ไปใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ รวมถึงนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการได้

คำสำคัญ: วัสดุอ้างอิงรับรอง สมุนไพร ฟ้าทะลายโจร ค่าอ้างอิง ค่าความไม่แน่นอนของการวัด

¹สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ

Abstract

The certified reference material for determining some elements in green chiretta (*Andrographis Paniculata*) powder has been developed by the National Institute of Metrology (Thailand) (NIMT), which is called Thailand Reference Material (TRM) to support quality control of the traditional herbs and herbal products. NIMT has been recognized for the Calibration and Measurement Capability (CMC) on the International Bureau of Weight and Measures (BIPM) website for participation in the inter-comparison activities of the International Committee for Weights and Measures (CIPM) participated (e.g., CCQM-K89, etc.). Certified values of As, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, P, Pb and Zn with their associated uncertainties and information values of Hg and Na were then reasonably obtained. Their property values of TRM-F-2006 were characterized by ID-ICP-MS, GSA-ICP-MS, GSA-ICP-OES, Ext-ICP-MS and Ext-ICP-OES techniques. The TRM-F-2006 regards using valid procedures for homogeneity and stability studies implemented according to the requirement started in ISO 17034 to ensure the quality of CRM. TRM-F-2006 can be used for method validation and quality control purposes.

Keywords: Certified reference material, Herb, Green chiretta, Reference values, Measurement uncertainty

¹ National Institute of Metrology (Thailand)

* Corresponding author e-mail address: usana@nimt.or.th

1. บทนำ (Introduction)

สมุนไพรเป็นสิ่งที่อยู่คู่กับคนไทยมาอย่างยาวนาน เป็นสิ่งที่มีคุณค่าใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง ทั้งใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร ยารักษาโรค ป้องกันหรือส่งเสริมสุขภาพ หรือแม้กระทั่งเสริมความงาม ซึ่งภูมิปัญญาเหล่านี้สร้างมูลค่ามหาศาลให้แก่ประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยนั้นตั้งอยู่ในภูมิประเทศและมีภูมิอากาศเอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของพืชสมุนไพร จึงทำให้ประเทศไทยถูกจัดอันดับให้อยู่ในพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพที่มีความสำคัญสูงสุด 8 อันดับแรกของโลก คือมีความหลากหลายของพันธุ์พืชสมุนไพร รัฐบาลจึงกำหนดแผนแม่บทแห่งชาติ ด้านการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564 วิสัยทัศน์ที่ว่าด้วยความมั่นคงทางสุขภาพ และความยั่งยืนของเศรษฐกิจไทย (Thai herbs for health and sustainable economy) เพื่อให้ใน 5 ปีข้างหน้า ประเทศไทยจะเป็นประเทศที่ส่งออกวัตถุดิบสมุนไพรคุณภาพ และผลิตภัณฑ์สมุนไพรชั้นนำของภูมิภาคอาเซียน และมูลค่าของวัตถุดิบสมุนไพรและผลิตภัณฑ์สมุนไพรภายในประเทศเพิ่มขึ้น [1-2] ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้นเรื่อย ๆ และการบริโภคสมุนไพรมีความต้องการที่เพิ่มมากขึ้น แต่สถานการณ์ปัจจุบันพบว่าอุตสาหกรรมสมุนไพรของไทยยังมีอัตราการเติบโตทางเศรษฐกิจค่อนข้างน้อย เนื่องจากกลไกในการเชื่อมโยงระบบการผลิตตั้งแต่การผลิตวัตถุดิบสมุนไพร จนถึงการแปรรูปไปเป็นสารสกัด และผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่ยังขาดการพิสูจน์ด้านคุณภาพ และความปลอดภัย ด้วยวิธีที่เป็นมาตรฐาน [3]

โครงสร้างพื้นฐานทางคุณภาพ (National Quality Infrastructure, NQI) ทางด้านสมุนไพรจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง เพราะนอกจากจะช่วยทำให้แผนแม่บทแห่งชาติบรรลุวัตถุประสงค์แล้ว ยังช่วยสร้างจุดแข็งในเรื่องของการมีมาตรฐาน โดยโครงสร้างพื้นฐานทางคุณภาพของประเทศจะช่วยเสริมสร้างขีดความสามารถในการแข่งขันของภาคการผลิตและบริการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกระบวนการพัฒนาสินค้าและบริการสู่การมีคุณภาพมีมาตรฐาน และมีความปลอดภัย สามารถตรวจสอบได้ทุกขั้นตอนอย่างเป็นระบบและโปร่งใส ได้รับการรับรองในระดับสากล เพื่อรองรับผลิตภัณฑ์สมุนไพร ผลิตภัณฑ์สร้างความเชื่อมั่นในการผลิต แปรรูป จนกระทั่งการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ และเพื่อให้เกิดการยอมรับผลิตภัณฑ์สมุนไพรไทยทั้งในประเทศและนานาชาติ

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุในตัวอย่างสมุนไพรให้มีความถูกต้อง และน่าเชื่อถือนั้นจำเป็นที่จะต้องใช้วัสดุอ้างอิงรับรองที่ได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับในระดับสากล ซึ่งวัสดุอ้างอิงรับรองส่วนใหญ่ผลิตมาจากสถาบันมาตรวิทยาที่มี

ชื่อเสียงระดับโลก ต้องนำเข้าจากต่างประเทศทำให้ใช้ระยะเวลาในการขนส่งค่อนข้างนาน และมีราคาสูง มว. เล็งเห็นความสำคัญของการวัดที่ถูกต้องของธาตุในสมุนไพร จึงดำเนินการพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับการวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร เนื่องจากฟ้าทะลายโจรเป็นสมุนไพรที่ถูกบรรจุอยู่ในบัญชียาหลักแห่งชาติ เป็นสมุนไพร Product champion ในมิติด้านความต้องการตามแผนแม่บทแห่งชาติ และเป็นที่ยอมรับกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ดังนั้น มว. จึงได้พัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจรขึ้นมา ภายใต้โครงการพัฒนาฐานข้อมูล และแหล่งเรียนรู้โครงสร้างพื้นฐานทางคุณภาพ (National Quality Infrastructure, NQI) และต้นแบบการใช้ประโยชน์ NQI ในการยกระดับคุณภาพของข้าว และสมุนไพรระดับชุมชน ซึ่งได้รับทุนจากหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (บพข.) เพื่อช่วยสนับสนุนการวิเคราะห์หัตถุติบและผลิตภัณฑ์สมุนไพรให้มีความถูกต้อง และมีความน่าเชื่อถือสามารถสอบย้อนกลับได้ทางมาตรวิทยา ซึ่ง มว. ได้รับการยอมรับในระดับสากลจากการประกาศความสามารถทางด้านการวัด CMC บนเว็บไซต์ของ BIPM จากการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัดระหว่างประเทศในรายการต่าง ๆ ทำให้ผลการวัดโลหะหนักในสมุนไพรมีความน่าเชื่อถือในระดับนานาชาติ โดยกระบวนการผลิต TRM นั้นเป็นไปตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองตามระบบคุณภาพ ISO 17034 สามารถนำ TRM ไปใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ รวมถึงนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการได้ รวมทั้งยังช่วยให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทดสอบสมุนไพรในประเทศไทยมีแหล่งข้อมูลอ้างอิงรับรองภายในประเทศ ในราคาที่เหมาะสม ลดระยะเวลาในการขนส่งจากต่างประเทศ ทำให้ผลการวัดจากห้องปฏิบัติการนั้น ๆ มีความถูกต้อง ซึ่งจะส่งผลให้มีการผลิตสมุนไพรที่มีคุณภาพ และปลอดภัยสู่ท้องตลาดต่อไป

2. วิธีการวิจัย (Experimental methods)

วัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร (TRM-F-2006) ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หัตถุติบเคมี สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติพัฒนาขึ้นมานั้น ได้ทำการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity study) และความเสถียร (Stability study) ตามเกณฑ์และมาตรฐานของการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองตามระบบคุณภาพ ISO 17034 [4] ซึ่งใช้ระยะเวลาในการดำเนินงานประมาณ 2 ปี (ตุลาคม พ.ศ. 2563 - กันยายน พ.ศ. 2565)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

2.1.1 Sieve shaker (Retsch, model AS 300, Germany)

- 2.1.2 Test sieve 90 μm (Retsch, model ASTM E11-95, Germany)
- 2.1.3 Sample divider (Retsch, model PT100, Germany)
- 2.1.4 เครื่องย่อยตัวอย่าง (Anton Paar, Multiwave 7000, Austria)
- 2.1.5 ICP-MS (Agilent, 8800 Triple Quad, USA)
- 2.1.6 ICP-OES (PerkinElmer, AVIO 500, USA)
- 2.1.7 HR-ICP-MS (Thermo Fisher Scientific, Element XR, USA)
- 2.1.8 ขวดพลาสติกสีชา (HDPE amber 125 mL, Nalgene, USA)

2.2 สารเคมี

- 2.2.1 Arsenic (NIST SRM3103a, USA)
- 2.2.2 Cadmium (NIST SRM3108, USA)
- 2.2.3 Calcium (NIST SRM3109a, USA)
- 2.2.4 Chromium (NIST SRM3112a, USA)
- 2.2.5 Copper (NIST SRM3114, USA)
- 2.2.6 Iron (NIST SRM3126a, USA)
- 2.2.7 Lead (NIST SRM3128, USA)
- 2.2.8 Magnesium (NIST SRM3131a, USA)
- 2.2.9 Manganese (NIST SRM3132, USA)
- 2.2.10 Mercury (NIST SRM3133, USA)
- 2.2.11 Nickel (NIST SRM3136, USA)
- 2.2.12 Phosphorus (NIST SRM3139a, USA)
- 2.2.13 Phosphorus (Inorganic Ventures CGP1, USA)
- 2.2.14 Rhodium (NIST SRM3144, USA)
- 2.2.15 Sodium (Inorganic Ventures CGNA1, USA)
- 2.2.16 Yttrium (NIST SRM3167a, USA)
- 2.2.17 Zinc (NIST SRM3168a, USA)
- 2.2.18 Elements in pine needle (NIST SRM1575a, USA)
- 2.2.19 Elements in spinach leaves (NIST SRM1570a, USA)
- 2.2.20 Nitric acid (65% HNO_3 Suprapur grade, Germany)
- 2.2.21 Hydrofluoric acid (40% HF Suprapur grade, Germany)
- 2.2.22 Hydrogen peroxide (30% H_2O_2 Suprapur grade, Germany)

2.3 วิธีดำเนินงาน

- 2.3.1 การเตรียมตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจร

- ชั่งผงฟ้าทะเลลายโจรจากร้านจำหน่ายวัตถุดิบสมุนไพรไทย 10 กิโลกรัม และทำการผสมผงฟ้าทะเลลายโจรทั้งหมดเข้าด้วยกันในถุงพลาสติกใบใหญ่ จากนั้นทำการแยกขนาดอนุภาคผงฟ้าทะเลลายโจรด้วยตะแกรงร่อน (Sieve) ขนาด 90 ไมโครเมตร และผสมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องผสมตัวอย่าง (Roller mixer) เป็นเวลา 1 สัปดาห์ และนำผงฟ้าทะเลลายโจร 7 ตัวอย่างมาทำการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันในเบื้องต้น พบว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกัน

- ให้เครื่องแบ่งตัวอย่าง (Sample divider) ซึ่งจะมีการหุ่ยตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจรอย่างต่อเนื่อง ให้มีการบรรจุลงในขวดแก้ว Pyrex ที่ใช้รองรับ จนกระทั่งได้ตัวอย่างมาบรรจุในขวดพลาสติกสีชา (ซึ่งผ่านการทำความสะอาดโดยการล้างน้ำ DI (Deionized) 1 รอบ จากนั้นทำการแช่ 10% HNO_3 เป็นเวลามากกว่า 24 ชั่วโมง และล้างด้วยน้ำ DI อีก 3 รอบ) จำนวน 337 ขวด โดยบรรจุขวดละ 25 กรัม

- นำตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจร 337 ขวด ไปฉายรังสีแกมมา 20 kGy เพื่อลดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ และเป็นการยืดอายุการใช้งานของวัสดุอ้างอิงรับรอง

- ศึกษาความชื้น โดยนำตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจร 0.5 กรัม ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หรือนำไปทำการ Freeze dry ที่อุณหภูมิ -5 °C, ความดัน 13.3 Pa เป็นเวลา 20 ชั่วโมง แล้วใส่ไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) ที่บรรจุซิลิกาเจล (Silica gel) จนอยู่ในสภาวะสมดุลแล้วจึงชั่งน้ำหนัก โดยผลที่ได้ คือ ความชื้นในตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจรเท่ากับ 2.06%

2.3.2 การศึกษาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม (Sample intake study) (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 3.1.1)

2.3.3 การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity studies) (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 3.1.2)

2.3.4 การศึกษาความเสถียร (Stability studies) (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 3.1.3)

- การศึกษาความเสถียรระยะสั้นของวัสดุอ้างอิง (Short-term stability study)

- การศึกษาความเสถียรระยะยาวของวัสดุอ้างอิง (Long-term stability study)

2.3.5 วิเคราะห์ตัวอย่างฟ้าทะเลลายโจร (Characterization) (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 3.1.4)

2.3.6 การให้คำรับรองแก่วิสดูอ้างอิง (Certification) (รายละเอียดอยู่ในหัวข้อ 3.1.5)

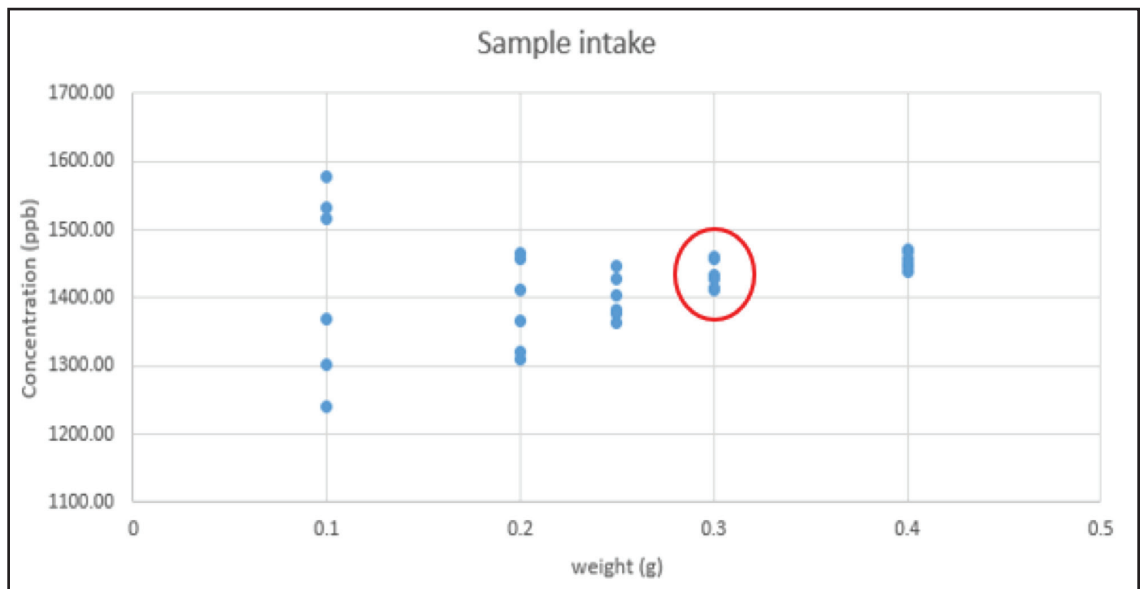
<div>1</div> <div>เลือกวัตถุดิบ</div> <div></div> <div><div>- ซ้อมผงฟ้าทะลายโจรจากห้องตลาด</div><div>- Screening test</div></div>	<div>2</div> <div>ร่อน</div> <div></div> <div><div>- Sieve (ขนาดอนุภาค < 90 μm)</div></div>	<div>3</div> <div>ผสม</div> <div></div> <div><div>- ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน</div></div>	<div>4</div> <div>บรรจุขวด</div> <div></div> <div><div>- บรรจุลงในขวดสีชาโดยใช้เครื่องแบ่งตัวอย่าง</div></div>	<div>5</div> <div>ฉายรังสี</div> <div></div> <div><div>- ฉายรังสีแกมมา (20 kGy)</div></div>	<div>6</div> <div>ศึกษาความชื้น</div> <div></div> <div><div>- Oven 80 °C</div><div>- Freeze dryer</div></div>
<div>7</div> <div>ศึกษาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม</div> <div></div> <div><div>- ปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสมคือ 0.30 กรัม</div></div>	<div>8</div> <div>ศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน</div> <div></div> <div><div>- Systematic random (n=11)</div><div>- Evaluation (ANOVA: Single factor statistical test)</div></div>	<div>9</div> <div>ศึกษาความเสถียร</div> <div></div> <div><div>- Short term stability study (at 45°C)</div><div>- Long term stability study (≥ 12 months, Isochronous method)</div></div>	<div>10</div> <div>วิเคราะห์และให้ค่าอ้างอิง</div> <div></div> <div><div>- ID-ICP-MS</div><div>- GSA-ICP-MS, GSA-ICP-OES</div><div>- Ext-ICP-MS, Ext-ICP-OES</div></div>	<div>TRM</div> <div></div> <div><div>- Certified value for 12 elements</div><div>- Information value for 2 elements</div></div>	

รูปที่ 1 ขั้นตอนการพัฒนาวัสดุอ้างอิงรับรองปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร

3. ผลและวิจารณ์ (Results and discussion)

3.1 การศึกษาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม (Sample intake study)

การศึกษาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม ทำโดยนำตัวอย่างปริมาณ (0.1, 0.2, 0.25, 0.30 และ 0.40) กรัม เติม HNO_3 5 mL และ HF 0.1 mL แล้วทำการย่อยด้วยเครื่อง Microwave digester จากผลการทดลองพบว่าปริมาณตัวอย่างน้อยกว่า 0.30 กรัม ทำให้ผลการวัดไม่ค่อยมีความน่าเชื่อถือเนื่องจากมีความแม่นยำน้อย และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation : RSD) % เกินเกณฑ์ที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หอนินทรีย์ยอมรับ คือ มากกว่า 5% และตัวอย่าง ไม่น้อยกว่า 0.30 กรัม เป็นปริมาณตัวอย่างเพียงพอที่ทำให้ผลการวัดที่มีความแม่นยำ และมีความถูกต้อง ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 ผลการศึกษาปริมาณตัวอย่างที่เหมาะสม

3.2 การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน

หลังจากการฉายรังสีแกมมา เพื่อตรวจสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุอ้างอิงทั้งหมด โดยยึดตามเอกสาร ISO 17034 ได้มีการสุ่มตัวอย่างของวัสดุอ้างอิงแต่ละชุดจำนวน 11 ขวด โดยวัดขวดละ 2 ข้ำ แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค External calibration ICP-MS โดยใช้สถิติ ANOVA ในการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ผลการทดสอบโดยใช้ (a) Cochran's test และ (b) One-Way ANOVA (F-test) พบว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน และไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย

(a) Outliers ใช้สมการ Cochran's test; None เมื่อ $R/R_{total} < \text{Cochran critical value}$

(b) การประเมิน ANOVA ด้วย F-test สำหรับระดับความเชื่อมั่น 95% ($\alpha = 0.05$); Pass เมื่อ $F\text{-value} < F\text{-critical}$

S_{bb} = The between unit standard deviation

S_r = The repeatability standard deviation

u_{homo} = Standard uncertainty between unit variation

$\%u_{homo}$ = Percent of standard uncertainty

เมื่อพบว่าวิธีการวัดให้ Sufficient repeatability ความไม่แน่นอนจากความไม่เป็นเนื้อเดียวกัน จะประเมินได้จาก Between-bottle variance โดยผลจาก Within-bottle homogeneity effects ถือว่าน้อยมาก โดยสามารถประเมินได้ ดังสมการที่ 1

$$u_{homo} = S_{bb} = \sqrt{\frac{MS}{n_0}} \quad (1)$$

แต่หากพบว่าวิธีการวัดให้ Insufficient repeatability อิทธิพลของ Repeatability standard deviation ต่อ S_{bb} (Variation between units) จะสามารถคำนวณได้ดังสมการที่ 2

$$u_{homo} = S_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}}^4 \sqrt{\frac{2}{vMS_{within}}} \quad (2)$$

โดย MS_{within} เทียบเท่ากับ Repeatability variance ของการวัดที่ใช้ในการศึกษา Between-bottle homogeneity study ซึ่งผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันดังแสดงในตารางที่ 1
ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน

Elements	Instrument	S_{bb} (mg/kg)	$S_{r\ homo}$ (mg/kg)	$\%u_{homo}$ (mg/kg)	$\%u_{homo}$
As	ICP-MS	0.000	0.044	0.021	1.50%
Ca	ICP-OES	177	457	211	0.97%
Cd	ICP-MS	0.0028	0.0023	0.0011	2.3%
Cr	ICP-MS	0.000	0.063	0.029	2.3%
Cu	ICP-MS	0.0037	0.1368	0.0632	1.1%
Fe	ICP-MS	13.7	20.7	9.6	1.7%
Mg	ICP-OES	28.7	91.2	42.1	0.7%
Mn	ICP-OES	0.158	0.697	0.338	0.6%
Ni	ICP-MS	0.034	0.051	0.024	2.0%
P	ICP-OES	25.9	5.1	2.4	1.0%
Pb	ICP-MS	0.020	0.015	0.007	2.0%
Zn	ICP-MS	0.000	0.751	0.347	1.0%
Hg	ICP-MS	0.0004	0.0006	0.0004	2.7%
Na	ICP-OES	1.06	1.22	0.56	0.5%

3.3 การศึกษาความเสถียร (Stability studies)

3.3.1 การศึกษาความเสถียรระยะสั้นของวัสดุอ้างอิง (Short-term stability)

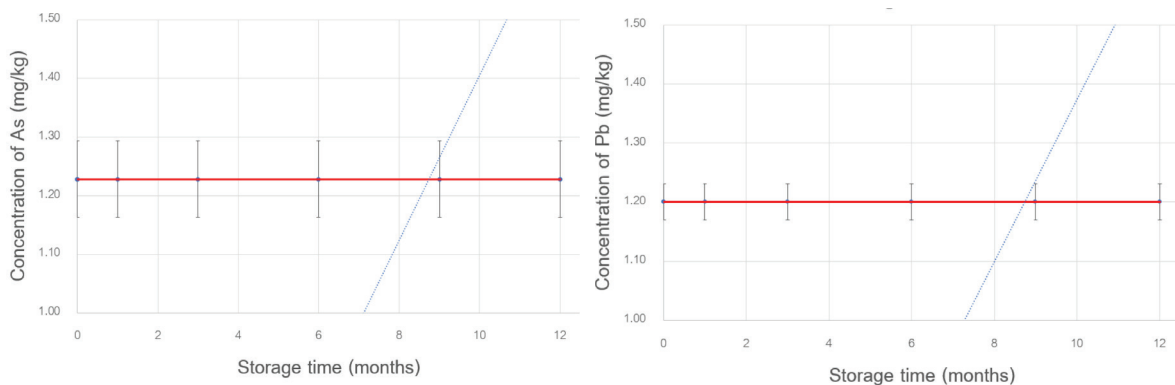
การศึกษาความเสถียรระยะสั้นของวัสดุอ้างอิงนั้นใช้ Isochronous scheme โดยเก็บตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรที่อุณหภูมิต่าง ๆ เพื่อจำลองสภาวะอุณหภูมิจากการขนส่งที่จะมีผลต่อปริมาณธาตุต่าง ๆ ในการประเมินเสถียรภาพของค่าปริมาณธาตุในตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจร ได้แก่ การเก็บที่อุณหภูมิ $(22\pm3)^{\circ}\text{C}$ และ 45°C เป็นระยะเวลา 1, 2 และ 3 สัปดาห์ โดยใช้อุณหภูมิอ้างอิงที่ 4°C จากนั้นวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดพร้อมกันด้วยเทคนิค External calibration ICP-MS และ ICP-OES ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (Repeatability condition) จะสามารถลดผลกระทบที่อาจเกิดจากความไม่คงที่ของการตอบสนองของเครื่องมือ วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ จากการประเมินทางสถิติ [4] (สมการที่ 3) พบว่าผลไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการมี Short-term stability เนื่องจากเสถียรภาพของธาตุทางอนินทรีย์เคมี จึงอนุมานจากกรณีศึกษาดังกล่าวถึงการมีเสถียรภาพของวัสดุอ้างอิงระยะสั้นที่ดี โดยสามารถละทิ้งความไม่แน่นอนนี้ได้

$$t_{bl} = \frac{|b|}{s(bI)} \quad (3)$$

โดย $t_{bl} < t_{crit} = \text{Stable}$

3.3.2 การศึกษาความเสถียรระยะยาวของวัสดุอ้างอิง (Long-term stability)

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อนินทรีย์เคมีได้ทำการเลือกสุ่มตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจร จำนวน 2 ขวดไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ $(22\pm3)^{\circ}\text{C}$ เป็นระยะเวลา 1, 3, 6, 9 และ 12 เดือนตามลำดับ พบว่าผลการวัดปริมาณธาตุไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรที่อุณหภูมิ $(22\pm3)^{\circ}\text{C}$ ไม่ส่งผลกระทบต่อระดับความเข้มข้นของธาตุต่าง ๆ ซึ่งกราฟของทุก ๆ ธาตุมีลักษณะเป็นไปในทางเดียวกัน คือ ไม่มีแนวโน้ม (Trend) ของผลการวิเคราะห์เกิดขึ้น ยกตัวอย่างกราฟของธาตุ As โดยใช้เทคนิค GSA-ICP-MS และ Pb โดยใช้เทคนิค ID-ICP-MS เป็นต้น ดังแสดงในรูปที่ 3 และผลการศึกษาคความเสถียรระยะยาว แสดงในตารางที่ 2



รูปที่ 3 ความเสถียรระยะยาวของ As และ Pb ในตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจร

โดย u_{ls} ได้จากผลการศึกษาคความเสถียรในระยะยาว โดยใช้ Trend analysis ดังสมการที่ 4

$$u_{ls} = s_b X_{ub} \quad (4)$$

s_b = ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของสมการถดถอย (Standard error of the slope)

X_{ub} = ระยะเวลาที่ให้ค่าอ้างอิง (Time)

ตารางที่ 2 ผลการศึกษาค่าความเสถียรในระยะยาว

Elements	u_{ls} (mg/kg)	% u_{ls}	Elements	u_{ls} (mg/kg)	% u_{ls}
As	0.03	2.0%	Mn	1.32	2.4%
Ca	486	2.4%	Ni	0.04	2.4%
Cd	0.003	2.5%	P	20.5	0.8%
Cr	0.021	1.7%	Pb	0.02	1.9%
Cu	0.12	2.2%	Zn	0.20	0.7%
Fe	5.0	0.8%	Hg	0.0008	5.0%
Mg	146	2.6%	Na	3.00	1.5%

3.4 วิเคราะห์ตัวอย่างฟ้าทะลายโจร (Characterization)

ในการวิเคราะห์ปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจรนั้น ได้นำตัวอย่างผงฟ้าทะลายโจรมา 0.30 กรัม เติม HNO_3 5 mL และ HF 0.1 mL แล้วทำการย่อยด้วยเครื่อง Microwave digester ในแต่ละขั้นตอนการวิเคราะห์ มีการใช้ QC sample ได้แก่ NIST SRM 1575a (Trace elements in pine needles) และ NIST SRM 1570a (Trace elements in spinach leaves) ด้วย ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณในตัวอย่างฟ้าทะลายโจรโดยเทคนิคต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณในตัวอย่างฟ้าทะลายโจรโดยเทคนิคต่าง ๆ

Elements	Mass fraction (mg/kg)	u_{char} (mg/kg)	Analytical method ^(a)
As	1.28	0.02	A), B), C)
Ca	20,231	199	A), C), D), E)
Cd	0.141	0.0005	A), B), C), F), G), H)
Cr	1.25	0.0005	A), C), F), G)
Cu	5.64	0.05	A), B), C), G)
Fe	659	8.6	A), C), G)
Mg	5,616	77	A), D)
Mn	54.4	0.75	A), C), D), E)
Ni	1.60	0.02	C), F), G)
P	2,726	32.9	A), B), E)
Pb	1.23	0.006	A), F), G)
Zn	30.9	0.20	A), C), F), G)
Hg	0.017	0.0005	G)
Na	200	2.44	B), D)

^(a) Analytical method คือ วิธีการวิเคราะห์ปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร

- A) Gravimetric standard addition-inductively coupled plasma-(quadrupole) mass spectrometry (GSA-ICP-(Q)MS)
- B) Gravimetric standard addition-inductively coupled plasma-(high resolution) mass spectrometry (GSA-ICP-(HR)MS)

- C) Gravimetric standard addition-inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (GSA-ICP-OES)
- D) External calibration analysis-inductively coupled plasma-(quadrupole) mass spectrometry (Ext-ICP-(Q) MS)
- E) External calibration analysis-inductively coupled plasma-optical emission spectrometry (Ext-ICP-OES)
- F) Isotope dilution-inductively coupled plasma-(quadrupole) mass spectrometry (ID-ICP-(Q)MS)
- G) Isotope dilution-inductively coupled plasma-(high resolution) mass spectrometry (ID-ICP-(HR)MS)
- H) External calibration analysis-inductively coupled plasma-(high resolution) mass spectrometry (Ext-ICP-(HR)MS)

ทั้งนี้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หอนินทรีย์เคมียังได้เข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัดปริมาณธาตุในตัวอย่างที่หลากหลาย เพื่อแสดงความสามารถในการวัดในรายการต่าง ๆ ได้แก่ CCQM-K89 [5], CCQM-K108.2014 [6], CCQM-K125 [7], CCQM-K145 [8], APMP.QM-S17 [9], SIM.QM-S10 [10], CCQM-K128 [11] เป็นต้น ซึ่งเมทริกซ์ในตัวอย่างเหล่านี้ค่อนข้างมีความซับซ้อนเทียบเท่าหรือมากกว่าผงฟ้าทะลายโจร หากแสดงความสามารถของการวัดธาตุต่าง ๆ ในเมทริกซ์เหล่านี้ได้ ย่อมมีความสามารถในการวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจรได้ โดยการวัดทั้งหมดใช้หลักการ Exact matching double ID-ICP-MS [12] ซึ่งเป็นเทคนิคการวัดที่ได้รับการยอมรับในระดับสากลว่าเป็นวิธีที่มีความแม่นยำสูง สามารถสอบย้อนกลับไปยัง International System of Units (SI units) ได้โดยตรง ยกเว้น As และ Mn เนื่องจากเป็น Mono-isotope ไม่สามารถใช้ IDMS ได้ จึงใช้เทคนิค GSA ในการวัดปริมาณธาตุ ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หอนินทรีย์เคมีได้รับการยอมรับว่ามีความสามารถทางด้านการวัดปริมาณแร่ธาตุและโลหะหนักปรากฏบนเว็บไซต์ BIPM โดยผ่านการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัด การจัดทำระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 และการ Peer review โดย Technical expert จากต่างประเทศมาอย่างต่อเนื่อง [13] โดยหลักฐานแสดงความสามารถในการวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจรแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 หลักฐานความสามารถในการวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร และการสอบย้อนกลับไปยัง SI units

Elements	Proof of competence	Standard solution	Traceable to SI Unit	หมายเหตุ
As	CMCs*	NIST SRM3103a	✓	-
Ca	CMCs	NIST SRM3109a	✓	-
Cd	CMCs	NIST SRM3108	✓	-
Cr	Self-assessment**	NIST SRM3112a	✓	-
Cu	Accredited	NIST SRM3114	✓	-
Fe	Accredited	NIST SRM3126a	✓	-
Mg	Accredited	NIST SRM3131a	✓	-
Mn	CMCs	NIST SRM3132	✓	-
Ni	Self-assessment	NIST SRM3136	✓	ผ่านการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัดในรายการ CCQM-K128
P	Self-assessment	NIST SRM3139a	✓	-
Pb	CMCs	NIST SRM3128	✓	-
Zn	CMCs	NIST SRM3168a	✓	-
Hg	Self-assessment	NIST SRM3133	✓	ผ่านการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัดในรายการ APMP.QM-S17
Na	Self-assessment	Inorganic Ventures CGNA1	-	-

*CMCs (Calibration and Measurement Capability); ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์หอนินทรีย์เคมี มีความสามารถทางการวัด เป็นที่ยอมรับในระดับสากลและปรากฏใน CIPM MRA database (KCDB) โดยแสดงหลักฐานบนเว็บไซต์ของ BIPM (หน่วยงานมาตรวิทยาโลก)

** Self-assessment; การจัดทำระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025

3.5 การให้คำรับรองแก่วัสดุอ้างอิง (Certification)

ในการให้คำรับรองแก่วัสดุอ้างอิงห้องปฏิบัติการใช้วิธีการวิเคราะห์ (Analytical method) ได้แก่ ID-ICP-MS, GSA-ICP-MS, GSA-ICP-OES, Ext-ICP-MS และ Ext-ICP-OES ซึ่งค่ารับรอง (Certified value) ได้มาจาก Weighted mean ใน 3 แหล่งหลัก ๆ ได้แก่ Characterization, Homogeneity และ Long-term stability ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ผลการวัด ทั้งหมดรายงาน On dry mass basis และสามารถสอบย้อนกลับไปยัง SI units ได้ ซึ่งผลแสดงในตารางที่ 5 และเพื่อที่จะ ประเมินความไม่แน่นอนของค่าที่ได้รับการรับรองนี้ จึงได้มีการรวมค่าความไม่แน่นอนดังกล่าวไว้เข้าด้วยกัน ดังสมการ ที่ 5 และ สมการที่ 6

$$u_C = \sqrt{u_{char}^2 + u_{homo}^2 + u_{lts}^2} \quad (5)$$

$$U_{CRM} = 2 * u_C \quad (6)$$

โดย

u_{homo} ได้จากผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน
 u_{lts} ได้จากผลการศึกษาความเสถียรระยะยาว
 u_{char} ได้จากการสุ่มวิเคราะห์ตัวอย่างผงฟ้าทะเลลายโจร

ตารางที่ 5 ผลการให้ค่าอ้างอิงแก่วัสดุอ้างอิงสำหรับวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะเลลายโจร (On dry mass basis)

Elements	Mass fraction (mg/kg)	u_{homo} (mg/kg)	u_{lts} (mg/kg)	u_{char} (mg/kg)	u_C (mg/kg)	U_{CRM} (95% CI) (mg/kg)
As ^(a)	1.28	0.02	0.03	0.02	0.04	0.09
Ca ^(a)	20,231	211	486	199	566	1,133
Cd ^(a)	0.141	0.001	0.003	0.0005	0.004	0.008
Cr ^(a)	1.25	0.029	0.021	0.0005	0.036	0.080
Cu ^(a)	5.64	0.06	0.12	0.05	0.147	0.30
Fe ^(a)	659	13.7	5.0	8.6	16.9	34
Mg ^(a)	5,616	42.1	146	77	170	340
Mn ^(a)	54.4	0.34	1.32	0.75	1.56	3.1
Ni ^(a)	1.60	0.03	0.04	0.02	0.05	0.11
P ^(a)	2,726	25.9	20.5	32.9	46.6	94
Pb ^(a)	1.23	0.02	0.02	0.006	0.032	0.07
Zn ^(a)	30.9	0.35	0.20	0.20	0.45	0.9
Hg ^(b)	0.017	0.0004	0.0008	0.0005	0.001	0.003
Na ^(b)	200	0.564	3.00	2.44	3.91	10

(a) Certified values เป็นค่าที่ได้จากการใช้วิธีการวิเคราะห์ 2 หรือมากกว่า 2 วิธีขึ้นไป

(b) Information values เป็นค่าที่ให้ไว้เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้ที่ใช้ที่สนใจ แต่ยังมีข้อมูลไม่เพียงพอที่จะประเมินความไม่แน่นอน จึงไม่ระบุความไม่แน่นอน

4. สรุป (Conclusion)

กลุ่มงานวิเคราะห์หัตถ์เคมี ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ผลิตัวสดอ้างอิงรับรองสำหรับวัดปริมาณธาตุในผงฟ้าทะลายโจร (TRM-F-2006) จำนวน 337 หน่วย โดยได้ทำการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของวัสดุอ้างอิง รวมถึงได้ให้ค่าอ้างอิงของธาตุ 14 ชนิด โดยแบ่งเป็นค่าอ้างอิง (Certified value) 12 ธาตุ คือ As (1.28 ± 0.09) mg/kg, Ca ($20,231 \pm 1,133$) mg/kg, Cd (0.141 ± 0.008) mg/kg, Cr (1.25 ± 0.08) mg/kg, Cu (5.64 ± 0.30) mg/kg, Fe (659 ± 34) mg/kg, Mg ($5,616 \pm 340$) mg/kg, Mn (54.4 ± 3.1) mg/kg, Ni (1.60 ± 0.11) mg/kg, P ($2,726 \pm 94$) mg/kg, Pb (1.23 ± 0.07) mg/kg และ Zn (30.9 ± 0.9) mg/kg และค่าเพื่อเป็นข้อมูล (Information value) 2 ธาตุ คือ Hg ($0.014 - 0.020$) mg/kg และ Na (190-210) mg/kg โดยวิเคราะห์ด้วยเทคนิคต่าง ๆ ได้แก่ ID-ICP-MS, GSA-ICP-MS, GSA-ICP-OES, Ext-ICP-MS และ Ext-ICP-OES ซึ่งกระบวนการผลิต TRM เป็นไปตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองตามระบบคุณภาพ ISO 17034 สามารถสอบย้อนกลับได้ทางมาตรวิทยา จึงสามารถนำวัสดุอ้างอิงรับรองที่พัฒนาขึ้นไปใช้ในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ รวมถึงนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการ ซึ่งช่วยทำให้การวิเคราะห์ทดสอบสมุนไพรมีผลการวัดที่มีความถูกต้อง และมีความน่าเชื่อถือ

5. กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการเพิ่มความสามารถในการแข่งขันของประเทศ (บพข.) ผู้สนับสนุนงบประมาณ

6. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] กระทรวงสาธารณสุข, กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก. แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทย ฉบับที่ 1 พ.ศ. 2560-2564. นนทบุรี: กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข; 2559. 1-216.
- [2] สำนักงานนโยบายและแผนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. แผนปฏิบัติการจัดการความหลากหลายทางชีวภาพ พ.ศ. 2560-2564. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์เจอร์นัล พับลิเคชัน จำกัด; 2560. 1-122.
- [3] ชนิตรนันท์ สุริยวิทยาเวช. จากยุทธศาสตร์ชาติ 20 ปีสู่แผนแม่บทแห่งชาติว่าด้วยการพัฒนาสมุนไพรไทยด้วยการบูรณาการการศึกษาเกษตร. วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม. 2562;18:240-50.
- [4] International Organization for Standardization (ISO). General requirements for the competence of reference material producers. ISO 17034:2016(E). Switzerland: (ISO) [Internet]. 2016 [cited 2017 Aug 10]; Available from: <https://www.iso.org/standard/29357.html>
- [5] Valiente L, Saxby D, Merrick J, Kotzeva BG, Mester Z, Yang L, et al. Final report on CCQM-K89: Trace and essential elements in Herba Ecliptae. Metrologia [Internet]. 2013 [cited 2022 Dec 5]; 50(1A):08003. Available from: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0026-1394/50/1A/08003>
- [6] Inagaki K, Narukawa T, Hioki A, Miyashita S, Long SE, Ellisor MB, et al. CCQM-K108.2014: Determination of arsenic species and total arsenic in brown rice flour. Final Report. Japan: National Metrology Institute of Japan (NMIJ); 2017. 20 p.
- [7] Merrick J, Saxby D, Dutra ES, Sena RC, Araujo TO, Almeida MD, et al. CCQM-K125: Elements in infant formula. Final report. Hong Kong: Government Laboratory of the Hong Kong Special Administrative Region (GLHK); 2017. 57 p.
- [8] Jun W, Jingbo C, Chao W, Haifeng L, Qian W, Panshu S, et al. CCQM-K145: Toxic and essential elements in bovine liver. Final report. China: National Institute of Metrology P.R. China (NIM); 2020. 53 p.
- [9] Shin R, Dewi F, Peng SL. APMP.QM-S17: Elements in lipstick material supplementary comparison. Final report. Singapore: Health Sciences Authority (HSA); 2022. 31 p.
- [10] Grinberg P, Mester Z. SIM.QM-S10: Supplementary comparison for trace elements in skim milk powder. Final report. Ottawa: National Research Council Canada (NRC), Metrology; 2021. 57 p.
- [11] Ma L, Wang Q, Wei C, Wong Y, Tang P, Lee H, et al. CCQM-K128: Measurement of heavy metals and organo-tin in leather powder. Final report. China: National Institute of Metrology P.R. China (NIM); 2018. 80 p.

- [12] Mackay LG, Taylor CP, Myors RB, Hearn R, King B. High accuracy analysis by isotope dilution mass spectrometry using an iterative exact matching technique. *Accredit Qual Assur.* 2003;8:191-94.
- [13] Ohata, M. CRM Production and calibration service on inorganic analysis. Report of technical peer review on the National Institute of Metrology Thailand. Japan: National Metrology Institute of Japan (NMIJ); 2021. 10 p.