ว กรมวิทย พ 2543 ; 42 (1) : 72-81

การวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในอาหาร
Quantitative Determination of Boric Acid in Foods

มาลี เจริญวิทย์วรกุล

กองอาหารส่งออก
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

Malee Jaroenvitvorakul

Division of Food-for-Export
Department of Medical Sciences
Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

บทคัดย่อ การศึกษาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในอาหาร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ โดยการปรับตัวอย่างให้มีความเป็นกรด แล้วสกัดกรดบอริคด้วย 5%ของ 2-ethyl -1,3 -hexanediol (EHD) ใน n-hexane :n-butyl acetate (4:1) จากนั้นให้ทำปฏิกิริยากับ curcumin ในสารละลายที่เป็นกรด ได้สารประกอบสีแดง เรียกว่า Rosocyanine ซึ่งละลายได้ใน acetone นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานและค่าดูดกลืนแสงมีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 0.5 ถึง 6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (R^2) เท่ากับ 0.9995 ค่าต่ำสุดที่ตรวจปริมาณได้ (LOQ) เท่ากับ 5.0 ไมโครกรัมต่อกรัม การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ (%Recovery)ในตัวอย่าง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นช่วง 10.0 ถึง 500.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ให้ผลร้อยละ 94.2 ถึง 108.0 และการทำซ้ำได้ของวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%RSD) เท่ากับ 2.6 และ 3.8 เมื่อนำวิธีไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณกรดบอริคในอาหารต่าง ๆ จำนวน 45 ตัวอย่าง ตรวจพบ 20 ตัวอย่าง ปริมาณที่ตรวจพบ 5.1 ถึง 786.0 ไมโครกรัมต่อกรัม

ABSTRACT The study of determination of boric acid amount in foods was conducted by using colorimetric method at 550 nm.The method was verified and found rapid and simple means to analyse boric acid by color - developing reaction with curcumin in non - aqueous and acidic condition after chelating extraction of 5% 2 - ethyl -1,3 - hexanediol (EHD) in n-hexane :n-butyl acetate mixture (4:1) and produced the red compound called rosocyanine. The calibration curve of boric acid was linear within the range of 0.5 to 6.0 μg/ml, providing correlation coefficient (R^2) to 0.9995. The Limit of Quantitation (LOQ) was 5.0 μg/g. The accuracy test showed the results of percent recovery between 94.2

to 108.0 in six kinds of foods at the concentration of 10.0 to 500.0 μg/g. The precision of method by analysis two kinds of samples resulted in the percentage of the relative standard deviation (%RSD) to 2.6 and 3.8. Contents of boric acid in 45 samples were analysed and the amount of boric acid ranging from 5.1 to 786.0 μg/g were detected in 20 samples.

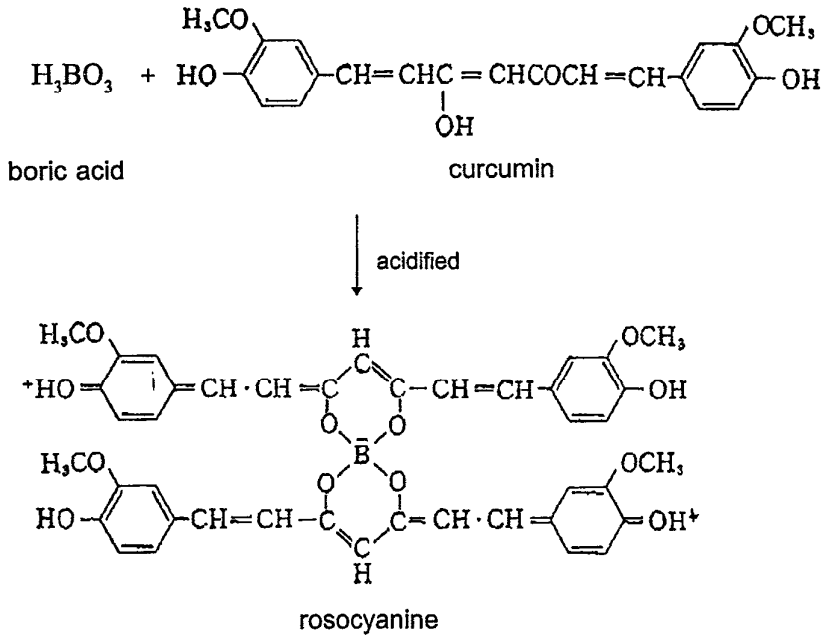
Key words : boric acid, Colorimetric method

บทนำ

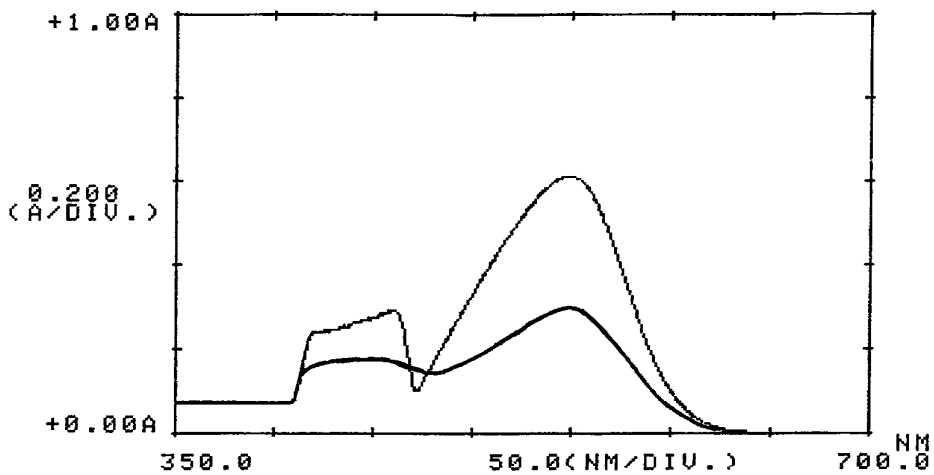
กรดบอริค (H_3BO_3) เป็นวัตถุเจือปนที่ห้ามใช้ในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 151 (พ.ศ.2536) เนื่องจากเป็นพิษต่อร่างกายโดยไปสะสมในเนื้อเยื่อกรวยไตและทำให้ไตอักเสบ เมื่อบริโภคเข้าไปอาจทำให้เกิดอาการ คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง ตะคริวที่ช่องท้อง มีอาการแสบร้อน มีผื่นแดงตามผิวหนังและเยื่อบุต่าง ๆ ระบบการไหลเวียนโลหิตในร่างกายล้มเหลว หัวใจเต้นเร็วผิดปกติ ผิวหนังเป็นสีเขียวคล้ำเนื่องจากขาดออกซิเจน เพ้อคลั่ง มีอาการชักและถึงขั้นตายได้ ถ้าเด็กกินในปริมาณ 2-5 กรัม และผู้ใหญ่ ในปริมาณ 5-20 กรัม (สุทธจิตต์, 2531; Budavari,1989) อย่างไรก็ตามในปัจจุบันยังพบว่ามีการใช้กรดบอริค หรือในชื่ออื่น ๆ ว่าบอแรกซ์ น้ำประสานทอง เม่งแซ และ ผงกรอบ ผสมในอาหารและขนมต่าง ๆ อยู่เสมอเพื่อใช้กันการเน่าเสีย (Antiseptic effect) หรือ ทำให้อาหารมีความเหนียว กรอบ ซึ่งถือว่าเป็นการผิดกฎหมาย ประเทศญี่ปุ่นมีข้อกำหนดปริมาณกรดบอริคในอาหารนำเข้า เช่น แมงกะพรุนหมักเกลือ และกุ้งแช่แข็ง ไม่เกิน 150 ไมโครกรัมต่อกรัม (Ogawa *et al.*, 1979)

การวิเคราะห์กรดบอริคในอาหารมีทั้งเชิงคุณภาพและปริมาณ การวิเคราะห์เชิงปริมาณมีหลายวิธี (Helrich, 1990) เช่น Titrimetric method, Emission spectroscopic method และ Colorimetric method (Ito and Iwaida, 1975; Anonymous, 1990) ซึ่งวิธีเหล่านี้มีขั้นตอนที่ซับซ้อนและใช้เวลามาก เช่น การย่อยสลายตัวอย่างด้วยด่างแล้วนำไปเผาให้เป็นเถ้า (Ashing) บางวิธีไม่สามารถวิเคราะห์ในอาหารที่มีเกลือปนอยู่ วิธีที่ใช้อยู่เดิมเป็นวิธีของ Ogawa *et al.* (1979) ซึ่งสกัดตัวอย่างด้วยสารละลาย 5% ของ 2-ethyl -1,3 -hexanediol (EHD) ใน n-hexane:n-butyl acetate(4:1) แล้วทำให้เกิดสีโดยทำปฏิกิริยากับสารละลายcurcumin ซึ่งขั้นตอนนี้ต้องใช้เครื่องระเหย Rotary evaporator เพื่อให้สารมีสีที่เกิดขึ้นอยู่ในสภาพที่ปราศจากน้ำ แต่จากการทำในห้องปฏิบัติการปัญหาที่พบ มักจะมีการย้อนกลับของหยดน้ำลงไปทำให้ปฏิกิริยานั้นเกิดไม่สมบูรณ์ ผลที่ได้มีความผิดพลาด ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาวิธีของ Tsuji *et al.* (1989) หลักการของวิธีคือ กรดบอริคในตัวอย่างถูกสกัดด้วย 5%ของ 2-ethyl -1,3 -hexanediol (EHD) ใน n-hexane:n-butyl acetate(4:1) ในสภาวะที่เป็นกรด ทำให้เกิดสีโดยการทำปฏิกิริยากับ curcumin ที่ละลายใน กรดอะซิติค และกรดซัลฟูริคเข้มข้น โดยทิ้งให้ทำปฏิกิริยานาน 30 นาที (ภาพที่ 1) จากนั้นเติมน้ำกลั่น เพื่อสลาย curcumin ที่เหลือ (protonated curcumin) จากการทำปฏิกิริยา ใช้ acetone ละลายสารประกอบสีแดง (Rosocyanine) ที่เกิดขึ้น วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร ทดสอบความถูกต้อง ความแม่นยำ ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจได้ (LOQ) และช่วงความเป็น

เส้นตรงของวิธี นอกจากนั้นได้ทำการสำรวจปริมาณกรดบอริคในอาหารชนิดต่าง ๆ เพื่อระวังความปลอดภัยของอาหารที่ผลิต เพื่อจำหน่ายในประเทศไทยและเพื่อการส่งออก



ภาพที่ 1 สมการเคมีการเกิด rosocyanine (Anonymous, 1996)



- - - - - สารมาตรฐานกรดบอริค

———— กรดบอริคในตัวอย่าง

ภาพที่ 2 ยูวีสเปคตรัมของกรดบอริค

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

High speed homogenizer, Shaker, Spectrophotometer

สารเคมีและสารมาตรฐาน

sodium sulphate anhydrous AR, hydrochloric acid AR, sulfuric acid AR, acetone AR , 5%(v/v) 2-ethyl-1,3 hexanediol (EHD) ใน n-hexane:n-butyl acetate (4:1) , 0.375%(w/v) curcumin solution ใน acetic acid glacial

สารมาตรฐาน กรดบอริค ความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 99 ของ Merck

ตัวอย่าง

อาหารชนิดต่างๆ ได้แก่ กุ้งแช่แข็ง แมงกะพรุน หมักเกลือ ลูกชิ้นปลา ลูกชิ้นหมู ไส้กรอก หมูบด วุ้นมะม่วงดอง และหัวผักกาดแห้งปรุงรส ซื้อจากแหล่งจำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานครจำนวน 10 ตัวอย่าง เขตนนทบุรี จำนวน 8 ตัวอย่าง และอาหารนำมาส่งตรวจที่กองอาหารส่งออก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 27 ตัวอย่าง รวม 45 ตัวอย่าง

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดบอริคในน้ำให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งกรดบอริคน้ำหนักแน่นอน 0.1 กรัม ละลายน้ำกลั่นและเจือจางจนครบปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานเจือจางที่ได้ 10 มิลลิลิตร ลงใน separatory funnel ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม hydrochloric acid 1 มิลลิลิตร สกัดด้วยสารละลาย 5%EHD 3 ครั้ง ๆ ละ 30 มิลลิลิตร เก็บชั้นของสารละลาย 5%EHD ใส่รวมกันใน erlenmeyer flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม sodium sulphate anhydrous ประมาณ 20 กรัม กรองส่วนใสผ่านกระดาษกรองลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย 5%EHD ปิเปต 20 มิลลิลิตร ของสารละลายที่ได้ลง volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบด้วย 5%EHD จะได้สารละลายมาตรฐานเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เป็นสารละลายสำหรับทำกราฟมาตรฐาน

การสกัดตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียด 5.0 กรัม เติม hydrochloric acid 1 มิลลิลิตร, น้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร และ 5%EHD 30 มิลลิลิตร ปั่นด้วย homogenizer 2 นาที ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เติม 20 กรัม sodium sulphate anhydrous ปั่นต่อ 2 นาที กรองส่วนสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ปั่นตัวอย่างด้วย 5%EHD 30 มิลลิลิตร ซ้ำอีก 2 ครั้ง ปรับปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย 5%EHD

การทำให้เกิดสีและวัดค่าการดูดกลืนแสง

1. ทำกราฟมาตรฐานของกรดบอริค

ปิเปต 0.25, 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิลิตร ของสารละลายมาตรฐานเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แยกใส่ในหลอดทดลองที่มีขีดบอกระดับปริมาตร (Conical oak ridge centrifuge tube, polypropylene) ขนาด 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรในแต่ละหลอดให้เท่ากันคือ 3.0 มิลลิลิตร ด้วย 5% EHD จะได้ความเข้มข้นของกรดบอริคเป็น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 6.0 ไมโครกรัมต่อหลอดทดลองตามลำดับ

ทำให้เกิดสีตามขั้นตอนต่อไปนี้

เติม 1 มิลลิลิตร ของสารละลาย curcumin และ 0.5 มิลลิลิตร ของ sulfuric acid ปิดฝาให้สนิท เขย่านาน 30 นาที ด้วยเครื่องshaker ที่อุณหภูมิห้อง นำมาเติม น้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วย acetone เขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร เทียบกับสารละลาย blank สร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับค่าความเข้มข้นของสารละลายกรดบอริค

2. สารละลาย blank

ใช้ 3.0 มิลลิลิตรของ 5% EHD แทนสารละลายมาตรฐาน ทำให้เกิดสีเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

3. การหาปริมาณกรดบอริคในตัวอย่าง

ปิเปตสารละลายสกัดตัวอย่างมา 3.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีขีดบอกระดับปริมาตร (polypropylene) ขนาด 50 มิลลิลิตร ใช้วิธีการทำให้เกิดสีเช่นเดียวกับสารละลายมาตรฐานนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง เทียบกับสารละลาย blank หาความเข้มข้นของกรดบอริคโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน และคำนวณปริมาณเป็นไมโครกรัมต่อกรัม

การทดสอบประสิทธิภาพวิธี

1. การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์ (Linearity and range)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดบอริคเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 และ 6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนการทำให้เกิดสี ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ วัดค่าการดูดกลืนแสงและสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสง เพื่อศึกษาความเป็นเส้นตรงของระบบ (Linearity of system) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์

นำข้อมูลที่ได้จากการทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์ในตัวอย่างมะม่วงดอง ซึ่งเติมสารละลายมาตรฐาน 3 ระดับความเข้มข้น มาสร้างกราฟมาตรฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างสารมาตรฐานที่เติมและปริมาณที่ตรวจพบ เพื่อศึกษาความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ (Linearity of Method) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์

2. การทดสอบค่าต่ำสุดที่คำนวณปริมาณได้ (Limit of Quantitation, LOQ)

เติมสารมาตรฐานกรดบอริคในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบกรดบอริค (Blank sample) โดยทดสอบในกุ้งแช่แข็ง ให้มีความเข้มข้นความเข้มข้นเท่ากับ 5.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณค่า percent recovery และร้อยละของค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%RSD)

3. การทดสอบความถูกต้องของวิธี (Accuracy)

นำตัวอย่างได้แก่ กุ้งแช่แข็ง แมงกะพรุนหมักเกลือ มะม่วงดอง หมูบด ลูกชิ้นหมู และวุ้น ชั่งน้ำหนักชนิดละ 5.0 กรัม เติมสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 10.0, 100.0 และ 500.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ความเข้มข้นละ 4–5 ซ้ำ ตรวจตามวิธีการวัดปริมาณข้างต้น คำนวณค่า percent recovery

4. การทดสอบความแม่นยำ (Precision)

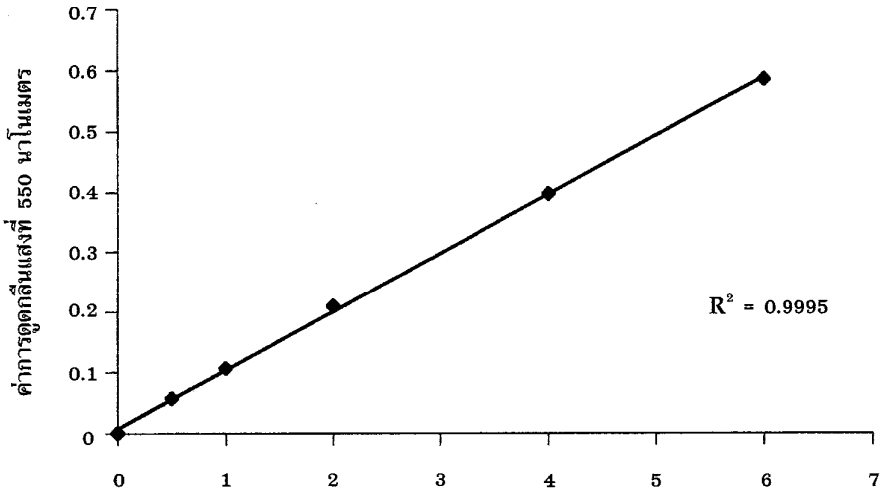
วิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในตัวอย่างมะม่วงดอง และ แมงกะพรุนหมักเกลือ วิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง คำนวณร้อยละของค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%RSD)

ผล

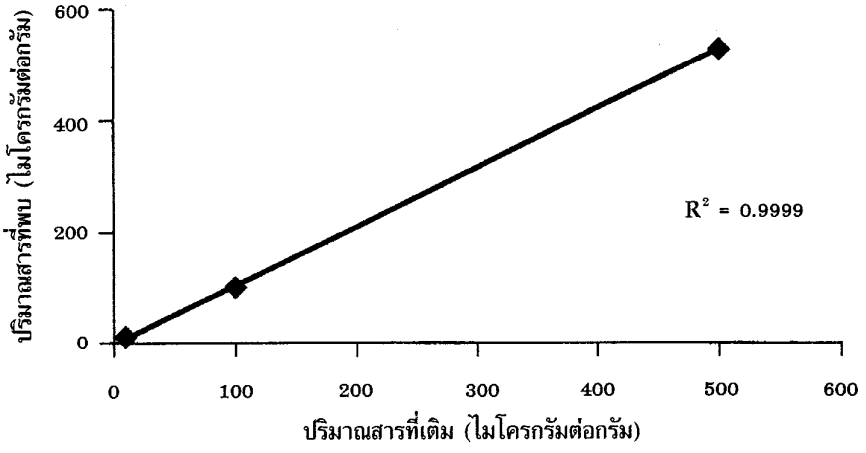
การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงของการวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐานของกรดบอริคที่ระดับความเข้มข้น 0.5–6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรได้กราฟเป็นเส้นตรง (ภาพที่ 3) มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์เท่ากับ 0.9995 และจากการวิเคราะห์ตัวอย่างมะม่วง

ดองที่เติมสารละลายมาตรฐานกรดบอริค 3 ระดับความเข้มข้น แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่เติมและปริมาณที่ตรวจพบ มีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น 10.0 ถึง 500.0 ไมโครกรัมต่อกรัม (ภาพที่ 4) มีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ เท่ากับ 0.9999



ภาพที่ 3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดบอริค



ภาพที่ 4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดบอริคที่เติมและปริมาณที่ตรวจพบ

การทดสอบค่าต่ำสุดที่คำนวณปริมาณได้

ผลการศึกษาความถูกต้องและความแม่นยำที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่คำนวณปริมาณได้ โดยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ตรวจไม่พบกรดบอริค เข้มข้น 5.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 6 ครั้ง คำนวณร้อยละประสิทธิภาพวิธีเฉลี่ย (%Recovery) ได้ 97.5 ± 4.3 และค่าร้อยสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%RSD) เท่ากับ 4.4

การทดสอบความถูกต้องของวิธี

จากการหาประสิทธิภาพของวิธีเฉลี่ย (% Recovery) ที่ 10.0, 100.0 และ 500.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ในอาหารชนิดต่าง ๆ 6 ชนิด คือ กุ้งแช่แข็ง แมงกะพรุนหมักเกลือ มะม่วงดอง หมูบด ลูกชิ้นหมู และ วุ้น มีค่าตั้งแต่ 94.2 ถึง 108.0 ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การทดสอบประสิทธิภาพวิธีวิเคราะห์

ตัวอย่าง	ปริมาณที่เติม (ไมโครกรัมต่อกรัม)	ปริมาณที่ตรวจพบ (ไมโครกรัมต่อกรัม) Mean ± SD	% Recovery Mean ± SD
กุ้งแช่แข็ง	10.0	9.4 ± 0.2	94.2 ± 2.3
	100.0	102.2 ± 2.8	102.2 ± 2.8
แมงกะพรุนหมักเกลือ*	10.0	10.7 ± 1.1	107.3 ± 10.5
	100.0	103.8 ± 3.9	103.8 ± 3.9
มะม่วงดอง*	10.0	9.6 ± 0.5	96.2 ± 4.6
	100.0	100.2 ± 3.5	100.2 ± 3.5
	500.0	529.8 ± 27.0	106.6 ± 5.4
หมูบด	10.0	10.4 ± 1.0	103.7 ± 10.4
	100.0	105.0 ± 4.2	105.0 ± 4.2
ลูกชิ้นหมู	10.0	10.2 ± 0.2	102.4 ± 1.9
	100.0	106.4 ± 2.2	106.4 ± 2.2
วุ้น	10.0	10.8 ± 0.1	108.0 ± 1.2
	100.0	99.1 ± 2.8	99.1 ± 2.8

* วิเคราะห์ซ้ำ 5 ครั้ง

การทดสอบความแม่นยำ

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในมะม่วงดอง และแมงกะพรุนหมักเกลือ ตัวอย่างละ 10 ซ้ำ พบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนร้อยละ 2.6 และ 3.8 ตามลำดับ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในอาหาร

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริคในอาหารชนิดต่าง ๆ ที่นำมาส่งตรวจที่กองอาหารส่งออก รวมทั้งแหล่งจำหน่ายในเขตกรุงเทพมหานคร และนนทบุรี จำนวน 45 ตัวอย่าง ตรวจพบปริมาณกรดบอริคอยู่ระหว่าง 5.1–786.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ใน 20 ตัวอย่าง ซึ่งในมะม่วงดองมีการพบปริมาณกรดบอริคสูงกว่าตัวอย่างชนิดอื่น ดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 2

วิจารณ์

การวิเคราะห์ปริมาณกรดบอริค ในอาหาร โดยวิธีของ S.Tsuji และ คณะ เป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการตรวจรับรองคุณภาพอาหารนำเข้าของเมืองโกเบ ประเทศญี่ปุ่น ใช้อยู่ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว เนื่องจากไม่มีขั้นตอนการทำ alkaline ashing ของตัวอย่างก่อนการสกัดซึ่งอาจใช้เวลาเป็นวัน แต่จะใช้สารละลาย 5% EHD สกัดกรดบอริคจากตัวอย่าง (Chelate extraction) ซึ่งจะลดการรบกวนของเกลือต่าง ๆ และสารรบกวนอื่น ที่จะไปขัดขวางการทำปฏิกิริยาของกรดบอริค กับสารละลาย Curcumin (Anonymous, 1990; Ogawa, 1979)

จากการทดสอบวิธีผู้วิจัยมีข้อแนะนำไว้ดังนี้คือ ตามวิธีของ Tsuji *et al.* (1989) สามารถใช้น้ำหนัก

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดบอริคในอาหารชนิดต่าง ๆ

ชนิดตัวอย่าง	จำนวนตัวอย่าง		ปริมาณกรดบอริค (ไมโครกรัมต่อกรัม)
	วิเคราะห์	ตรวจพบ	ต่ำสุด – สูงสุด
กุ้งแช่แข็ง	8	–	–
แมงกะพรุนหมักเกลือ	8	8	30.2 – 59.3
ลูกชิ้นปลา	2	–	–
ลูกชิ้นหมู	9	2	5.1 – 12.6
ไส้กรอก	2	1	11.2
หมูบด	2	–	–
วุ้น	2	–	–
มะม่วงดอง	9	6	10.1 – 786.0
หัวผักกาดแห้งปรุงรส	3	3	22.2 – 43.0
รวม	45	20	5.1 – 786.0

ตัวอย่างตั้งแต่ 1.0 ถึง 10.0 กรัม ขึ้นกับปริมาณของกรดบอริค กรณีใช้น้ำหนักตัวอย่างน้อยต้องระวังการเตรียมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกันให้มากขึ้นเพื่อได้ค่าที่มีความถูกต้องแม่นยำดี ในอาหารที่มีไขมันสูง เช่น หมูบด และ ไส้กรอก ถ้าใช้น้ำหนักตัวอย่างมากไปจะทำให้สารละลายที่นำไปวัดการดูดกลืนแสงมีสารแขวนลอยขุ่นทำให้ค่าที่ได้สูงเกินจริง ผู้วิจัยเลือกใช้น้ำหนักตัวอย่างที่ 5.0 กรัม เพื่อสะดวกในการทดสอบ และพบว่าใช้ได้กับทุกตัวอย่างที่ทดสอบ

เนื่องจากกราฟมาตรฐานของกรดบอริคมีช่วงเป็นเส้นตรงระหว่าง 0.5–6.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (หรือความเข้มข้นในตัวอย่าง 3.3–40.0 ไมโครกรัมต่อกรัม) ซึ่งเป็นช่วงที่ไม่กว้างนัก ดังนั้นตัวอย่างที่มีการตรวจพบกรดบอริคในปริมาณสูง ต้องมีการเจือจางสารละลายสกัดที่ได้ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วย 5%EHD ก่อนการทำให้เกิดสี และพบว่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารที่เติมและปริมาณที่ตรวจพบ มีลักษณะเป็นเส้นตรงตลอดช่วง 10.0 ถึง 500.0 ไมโครกรัมต่อกรัม

ในการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ พบว่าค่า percent recovery อยู่ในช่วง 94.2 ถึง 108.0 ซึ่งแสดงถึงความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ และการวิเคราะห์ซ้ำในตัวอย่างมะม่วงดอง และแมงกะพรุนหมักเกลือ ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน เท่ากับร้อยละ 2.6 และ 3.8 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์

การตรวจหาปริมาณกรดบอริคในอาหารชนิดต่าง ๆ ส่วนใหญ่พบว่ามีปริมาณที่ต่ำหรือตรวจไม่พบ ได้แก่ ลูกชิ้น ไส้กรอก กุ้งแช่แข็ง หมูบด และ วุ้น ส่วนแมงกะพรุนพบกรดบอริคระหว่าง 30.2 ถึง 59.3 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งไม่เกินข้อกำหนดของประเทศญี่ปุ่น ในมะม่วงดองมีตั้งแต่ตรวจไม่พบ และในบางตัวอย่างพบปริมาณที่สูงถึง 786.0 ไมโครกรัมต่อกรัม สำหรับหัวผักกาดแห้งปรุงรสพบ 22.2–43.0 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งจากการศึกษาของ Kingkate *et al.* (1981) ปริมาณกรดบอริคในมะม่วง และ หัวผักกาดสด เฉลี่ย 9.0 และ 10.5 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับแสดงว่ามีการใส่กรดบอริคในมะม่วงดองบางตัวอย่าง เพื่อทำให้มะม่วงดองมีความกรอบ แต่ในหัวผักกาดแห้งปรุงรสนั้น ไม่น่ามีการใช้กรดบอริค เพราะสูงกว่าหัวผักกาดสดไม่มากนัก แต่อาจมีการปนเปื้อนจากเกลือทะเลที่ใช้ดอง (Kingkate *et al.* 1981) และจากรายงานในประเทศญี่ปุ่นพบกรดบอริคในหัวผักกาดสดสูง 4.0–22.6 ไมโครกรัมต่อกรัม จะเห็นได้ว่าการตรวจพบการใช้กรดบอริคในอาหารยังมีอยู่เสมอ แม้จะมีกฎหมายห้ามใช้ ดังนั้นหน่วยงานของรัฐควรที่จะเพิ่มมาตรการบทลงโทษให้มากขึ้น และให้ผู้ผลิตทราบถึงอันตรายของการใช้กรดบอริค เพื่อความปลอดภัยของประชาชนผู้บริโภค

สรุป

การวิเคราะห์ปริมาณบอริคในอาหารด้วยเครื่องมือสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ตามวิธีของ Tsuji *et al.* (1989) สามารถใช้วิเคราะห์อาหารได้หลายประเภทอย่างมีความถูกต้องและแม่นยำอยู่ในเกณฑ์ดี โดยมีประสิทธิภาพของวิธีเฉลี่ยร้อยละ 102.7 $\pm$4.3 สามารถตรวจวัดปริมาณกรดบอริคต่ำสุดในตัวอย่างเท่ากับ 5.0 ไมโครกรัมต่อกรัม และเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว เพราะไม่มีขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่างที่ใช้เวลานาน เหมาะที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ Ms.Mitsue Ota, ผู้เชี่ยวชาญญี่ปุ่น ในโครงการ Strengthening of Food Sanitation Activities, JICA ที่จัดหาวิธีวิเคราะห์ รวมทั้งคำแนะนำในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

สุทธจิตต์ ม.สารพิษรอบตัวเรา. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์ดาว คอมพิวกราฟิค , 2531 : 179.

Anonymous. Standard Methods of Analysis for Hygenic Chemists With Commentary.Quantitative Analysis of Boric acid in Foods .The Pharmacuetical Society of Japan.Kanehara Publishing Co.,Tokyo Japan, 1990 : 590-592.

Anonymous. The Pharmacopoeia, 13 th ed. Ministry of Health and Welfare, Japan, 1996 : B286-B287.

Budavari S.The Merck Index of chemicals, drugs and biologicals, 11th ed. Merck &Co., Inc., USA, 1989 : 203-204 .

Helrich K. AOAC. Official Method of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc.,Virginia, USA, 1990 : 1146-1147.

Ito Y, Iwaida M. Journal of Food Hygeinic Society of Japan 1975; 16 : 41-45.

Kingkate A, Jaengsawang C, Thanissorn W, *et al.* Determination of Boric acid in Fresh and Salted Mango and Turnip By Spectrophotometric Method. Promotion of Provincial Health Services, Interim Report II. Division of Food Analysis, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand, 1981 : 322-329.

Ogawa S, Toyoda M, Tonogai Y, *et al.* Colorimetric Determination of Boric acid in Prawns, Shrimp, and Salted Jelly Fish by Chelate Extraction with 2-Ethyl -1,3 Hexanediol.J Assoc Off Anal Chem 1979; 62 (3) : 610-614.

Tsuji S, Ogawa S, Shibata T, *et al.* Rapid and Simple Determination Method for Boric Acid in Foods with a Protonated Curcumin Color-Developing System. Journal of Food Hygeinic Society of Japan 1989; 30 (1) :14-18.