

การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในน้ำมันปลา โดยวิธี Isotope Dilution Mass Spectrometry-Exact Signal Matching

กนกพร อธิสุข และวิชาดา จงมีวาสนา

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ชนิด p, p'-DDE ในน้ำมันปลา โดยวิธี Isotope dilution mass spectrometry (IDMS)-Exact signal matching ซึ่งเป็นวิธี primary method และยืนยันความถูกต้องและแม่นยำของวิธีโดยการวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรองน้ำมันปลา BCR CRM 589 มีค่าอ้างอิงปริมาณ p, p'-DDE เท่ากับ $610 \pm 40 \mu\text{g/kg}$ ผลตรวจพบปริมาณเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำ เท่ากับ $610 \mu\text{g/kg}$ โดยมีค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ $13 \mu\text{g/kg}$ และเมื่อนำวิธี IDMS มาวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำมันปลาในโครงการ Trace organic Interlaboratory Comparison-APMP.QM-P4 ซึ่งเป็นโครงการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการที่ดำเนินการโดยคณะกรรมการที่ปรึกษาทางด้านมาตรวิทยาเคมี (The Consecutive Committee for Amount of Substance, CCQM) พบว่า ปริมาณที่ตรวจพบจากวิธีดังกล่าวมีค่าเท่ากับ $158.0 \pm 3.5 \mu\text{g/kg}$ ซึ่งมีค่าเข้าใกล้ค่าอ้างอิงของโครงการที่กำหนดไว้ที่ $160.4 \pm 10.0 \mu\text{g/kg}$ ความสำเร็จจากการพัฒนาวิธีดังกล่าว ทำให้ห้องปฏิบัติการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร มีความพร้อมในการเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศในด้านการวัดปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในอาหาร สามารถทำหน้าที่ถ่ายทอดมาตรฐานการวัดให้แก่ผู้ต้องการใช้ในประเทศ พัฒนา จัดหา และให้ค่าอ้างอิงแก่วัตถุอ้างอิง เป็นผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญการวัด และเป็นตัวแทนประเทศไทยในการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัด Key comparison ทั้งในระดับภูมิภาคและระดับโลก

บทนำ

การสอบกลับได้ของการวัด (Measurement traceability) เป็นคุณสมบัติของผลการวัดหรือค่ามาตรฐานใดๆ ซึ่งเชื่อมโยงไปยังค่าอ้างอิงระดับชาติ หรือระดับนานาชาติผ่านการเปรียบเทียบอย่างต่อเนื่อง (unbroken chain of comparison) โดยมีค่าความไม่แน่นอนการวัด (Measurement uncertainty) ระบุไว้⁽¹⁾ สำหรับการวิเคราะห์ที่เป็น การวัดแบบตรงไปตรงมาตัวอย่างเช่น การชั่งน้ำหนัก หรือการวัดอุณหภูมิ เป็นการวัดที่สามารถสอบกลับได้ไปยัง Systeme Internationale (SI) units แต่ผลการวัดที่ได้จากการวิเคราะห์ที่มีขั้นตอน

ซับซ้อนหากต้องการให้สอบกลับได้ไปยัง SI units อาจทำได้โดยใช้วิธี primary method หรือใช้วิธีวัดที่เทียบกับปริมาณของ pure sample of analyte หรือใช้วิธีวัดที่เทียบกับค่าของวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material, CRM) ที่เหมาะสม หรือวัดโดยวิธี defined method

วิธี primary method เป็นวิธีที่มีคุณภาพทางมาตรวิทยาส่งสุด (the highest metrological qualities) ซึ่งวิธีการสามารถอธิบายและเข้าใจได้ในหน่วย SI units และผลการวัดยอมรับได้โดยไม่ต้องอ้างอิงสารมาตรฐานและมีค่าความไม่แน่นอน

น้อยที่สุด วิธี primary method จะไม่นำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป (routine laboratory) วิธี primary methods ได้แก่ วิธี gravimetry, titrimetry, coulometry, differential scanning calorimetry, isotope dilution-inductive couple plasma-mass spectrometry (ID-ICP-MS), instrumental neutron activation analysis (INAA), nuclear magnetic resonance spectrometry (NMR), cavity ring down spectrometry และ isotope dilution mass spectrometry (IDMS)

เทคนิค isotope dilution mass spectrometry (IDMS) ได้ถูกพัฒนาขึ้นครั้งแรกในทศวรรษ 1950 ใช้ในการวิเคราะห์แร่ธาตุ ต่อมาเมื่อเครื่องมือถูกพัฒนาให้ใช้งานง่ายขึ้น จึงมีการขยายมาประยุกต์ใช้กับอินทรีย์วิเคราะห์ (organic analysis) ในทศวรรษ 1970⁽²⁾ การใช้เทคนิค IDMS ในปัจจุบันถูกนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารตกค้างปริมาณน้อยในงานประจำ เช่น dioxin, nitrofurans metabolites เป็นต้น เมื่อเทคนิค double IDMS หรือ exact signal matching ได้ถูกนำเสนอโดย Mackay LG และคณะ⁽³⁾ โดยการเติมสาร isotopically labeled spike solution (¹³C-labeled analogue สำหรับ organic analyte) ลงในตัวอย่าง (sample blend) และสารมาตรฐาน (calibration blend) และปริมาณของ analyte ใน calibration standard เท่ากับปริมาณของ analyte ในตัวอย่าง เพื่อลดความไม่แน่นอนของการวัดให้น้อยที่สุด วิธี IDMS-exact signal matching นี้ถือได้ว่าเป็นวิธี primary method

ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชและยาสัตว์ตกค้าง ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร (สคอ.) ได้ให้บริการตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในอาหารมาเป็นเวลานาน โดยดำเนินการโดยนักวิเคราะห์ที่ผ่านการฝึกอบรมและมีประสบการณ์สูง ใช้วิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการทดสอบความถูกต้อง ใช้

สารมาตรฐานและวัสดุอ้างอิงที่สอบกลับได้ และมีกระบวนการควบคุมคุณภาพทั้งภายในและภายนอก ทำให้มีความมั่นใจว่าคุณภาพผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและเชื่อถือได้ตั้งนั้นเมื่อคณะกรรมการที่ปรึกษาทางด้านมาตรวิทยาเคมี (chemical metrology) เรียกว่า CCQM (The Consecutive Committee for Amount of Substance) ซึ่งทำหน้าที่เป็นผู้ประสานการเปรียบเทียบระดับนานาชาติ (intercomparison at international level) ที่เรียกว่า key comparisons มอบให้สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติของประเทศออสเตรเลีย (National Measurement Institute Australia, NMIA) เป็นผู้ประสานการเปรียบเทียบระดับภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิก ซึ่งเรียกโครงการเปรียบเทียบระดับภูมิภาคนี้เรียกว่า APMP (The Asia Pacific Metrology Programme)⁽⁴⁾ ในเดือนธันวาคม 2548 NMIA ได้ดำเนินการโครงการทดลอง ชื่อ APMP.QM-pilot study P4-Determination of p, p'-DDE in fish oil ขึ้น สาร p, p'-DDE เป็นสารเมตาโบไลต์ของสาร p, p'-DDT ในกลุ่มออร์กาโนคลอรีนที่มีความคงตัวสูงตกค้างในห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อมนานถึงแม้ว่าในประเทศต่าง ๆ จะมีกฎหมายห้ามใช้นำเข้า และจำหน่าย มานานกว่า 20 ปีแล้ว การเลือกสาร p, p'-DDE เนื่องจากเป็นสารที่มีการตรวจวิเคราะห์ในอาหารอยู่ในทุกประเทศและเป็นปัญหาทางด้านสุขภาพ ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการครั้งนี้ไม่ได้จำกัดเฉพาะสถาบันมาตรวิทยาที่ใช้วิธี primary method สคอ. จึงได้ขอสมัครเข้าร่วม โดยได้รับความเห็นชอบจากสถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติของประเทศไทย (National Institute of Metrology Thailand, NIMT) สคอ. ได้วิเคราะห์ปริมาณในตัวอย่าง fish oil โดยใช้วิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในงานประจำ (routine analysis) ด้วยเครื่องมือ gas chromatograph-electron capture detector (GC-ECD) และได้รายงานปริมาณที่พบพร้อมค่า

ความไม่แน่นอน (full uncertainty budget) ด้วยโครงการนี้มีประเทศต่างๆ ในภูมิภาคเอเชียและแปซิฟิกเข้าร่วม 9 ประเทศ 12 หน่วยงาน ได้แก่ ออสเตรเลีย (2 หน่วยงาน) สหราชอาณาจักร (2 หน่วยงาน) เกาหลี มาเลเซีย (2 หน่วยงาน) นิวซีแลนด์ (2 หน่วยงาน) ฟิลิปปินส์ และประเทศไทย ซึ่งหน่วยงานที่เข้าร่วมของประเทศญี่ปุ่น คือ National Metrology Institute of Japan (NMIJ) เกาหลี คือ Korea Research Institute of Standards and Science (KRISS) และ 1 ใน 2 แห่งของออสเตรเลีย คือ NMIA เป็นสถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติซึ่งเคยเข้าร่วมในโครงการ key comparison ระดับโลก คือ CCQM ด้วย จึงถือว่าเป็นการเชื่อมโยงระหว่างโครงการระดับโลกสู่ระดับภูมิภาค ผลพบว่า ค่าของประเทศไทยที่ สคอ. เป็นตัวแทนได้รายงานเท่ากับ $152.2 \pm 14.2 \mu\text{g/kg}$ อยู่ในช่วงที่ยอมรับของค่าอ้างอิงเท่ากับ $160.4 \pm 10.0 \mu\text{g/kg}$ อย่างไรก็ตาม การตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีที่ใช้ในงานประจำด้วยเครื่องมือ GC-ECD มีความไม่แน่นอนมากกว่าเทคนิค IDMS ที่สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติของประเทศอื่นใช้⁽⁵⁾ ดังนั้นเพื่อเตรียมความพร้อมในการเข้าร่วม key comparison ครั้งต่อไป สคอ. จึงดำเนินการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในน้ำมันปลาด้วยเทคนิค IDMS-Exact signal matching โดยใช้เครื่องมือ GC-mass spectrometer (GC-MS) และนำวิธีที่ได้พัฒนาขึ้นมาใช้วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงรับรอง และตัวอย่างน้ำมันปลาของการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ APMP.QM-P4

รายงานนี้นำเสนอผลการวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในตัวอย่างน้ำมันปลา (APMP.QM-P4) โดยวิธี IDMS-Exact signal matching ที่ได้พัฒนาขึ้น และเปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบโดยวิธีดังกล่าวกับผลการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี modified AOAC ที่ใช้ในงานประจำ และผลการ

ตรวจวิเคราะห์ของสถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติของต่างประเทศที่เข้าร่วมโครงการ โดยมุ่งหมายที่แสดงเทคนิควิธีการวิเคราะห์ และวิธีการประมาณค่าความไม่แน่นอน เพื่อแสดงให้เห็นว่าความสำเร็จในการพัฒนาวิธี IDMS-Exact signal matching ทำให้ห้องปฏิบัติการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารมีความพร้อมในการเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศในด้านการวัดปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในอาหาร สามารถทำหน้าที่ถ่ายทอดมาตรฐานการวัดให้แก่ผู้ต้องการใช้ในประเทศพัฒนา จัดหา และให้ค่าอ้างอิงแก่วัสดุอ้างอิงเป็นผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญการวัดและเป็นตัวแทนประเทศไทยในการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัด Key comparison ทั้งในระดับภูมิภาคและระดับโลก

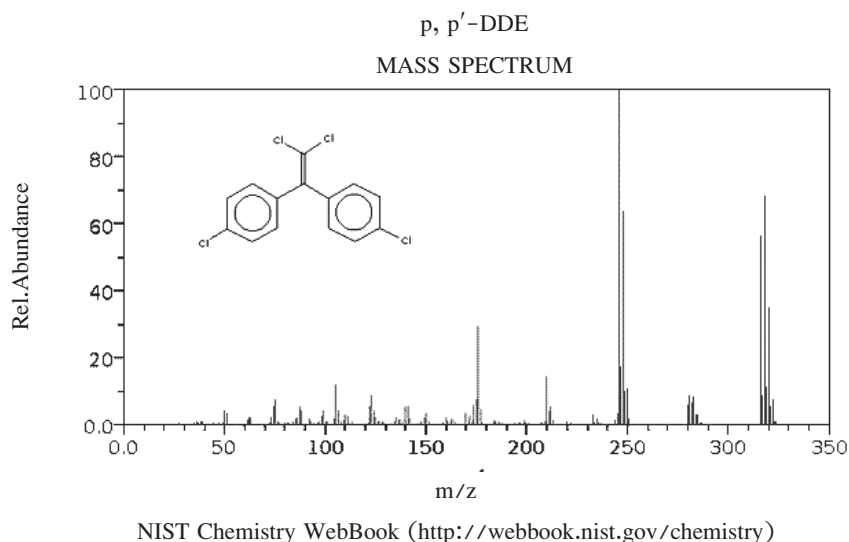
วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ตัวอย่าง fish oil ในโครงการ Trace organic Interlaboratory Comparison-APMP.QM-P4

สารมาตรฐาน

Certified Reference Material (CRM 430) ของ Community Bureau of Reference (BCR); Organochlorine pesticides in pork fat, p, p'-DDE $0.82 \pm 0.06 \text{ mg/kg}$, Certified Reference Material (CRM 598) ของ BCR; Organochlorine pesticides in cod liver oil, p, p'-DDE $610 \pm 40 \mu\text{g/kg}$, p, p'-DDE IPO 119 ความบริสุทธิ์ $99.8 \pm 0.1\%$ (m/m) ของ Institute of Industrial Organic Chemistry Analytical Department, Poland, p, p'-DDE in MeOH $100.2 \mu\text{g/ml}$ ของ Accu Standard Inc. U.S.A. และ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ความบริสุทธิ์ 99% ของ Cambridge Isotope Laboratories, Inc. U.S.A.



ภาพที่ 1 แสดงสูตรโครงสร้างและแมสสเปกตรัมของ p, p'-DDE (p, p'-(Dichlorodiphenyl) -2, 2-dichloroethylene) **Formula** : $C_{14}H_8Cl_4$ **Molecular weight** : 318.0241 **CAS Registry Number** : 72-55-9

สารเคมี

acetone AR, acetonitrile AR, aluminium oxide AR (90 active, neutral, 70-230 mesh for column chromatography), n-hexane PR, sodium chloride AR, sodium sulfate anhydrous AR (granular), น้ำกลั่น

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง, เครื่องชั่งละเอียด 5 ตำแหน่ง, muffle furnace, rotary evaporator, water bath อุณหภูมิน้อยกว่า 40°C ประกอบด้วยระบบ น้ำหล่อเย็นหมุนเวียนอุณหภูมิต่ำกว่า -15°C , shaker, GC-ECD (Agilent Technologies 6890N) มีสถานะเครื่องมือ ดังนี้

Column : RTX-Cl Pesticide, 30 m, 0.32 mm id, 0.5 μm film thickness

Temperature : Injector 250°C , splitless mode

Oven - initial 70°C hold 1 min, rate $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 210°C , rate $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to final 250°C hold 1 min

Detector 300°C

Flow : Helium (constant flow) - 1.5 ml/min

Nitrogen (make up) - 60 ml/min
และ GC-MS (Agilent Technologies 6890N-5973 Inert) มีสถานะเครื่องมือ ดังนี้

Column : DB-35ms, 30 m, 0.25 mm id, 0.25 μm film thickness

Temperature : Injector 250°C , splitless mode

Oven - initial 70°C hold 1 min, rate $30^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to 220°C , rate $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ to final 255°C hold 2 min

Detector - MSD transfer line 280°C

Flow : Helium (constant flow) 1.2 ml/min

MSD parameter : MS Quadrupole temperature 150°C

MS source temperature 230°C

Ionisation mode : Electron impact

Selective Ion Monitoring with

Ion 1 246 AMU, 30 ms dwell

Ion 2 248 AMU, 30 ms dwell

Ion 3 258 AMU, 30 ms dwell

Ion 4 260 AMU, 30 ms dwell

การเตรียมสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน p, p'-DDE และ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ที่ใช้ในการวิเคราะห์โดยเทคนิค IDMS เตรียมโดยใช้เครื่องซึ่งละเอียดทศนิยม 5 ตำแหน่ง ขณะชั่งและเตรียมสารมาตรฐาน จะต้องควบคุมอุณหภูมิห้องให้อยู่ในช่วง $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ตลอดเวลา ชั่งซ้ำ 5 ครั้ง ใช้เทคนิค double zero reading

1. Stock standard solution ความเข้มข้นประมาณ $50 \mu\text{g/g}$: ชั่ง volumetric flask ขนาด 50 ml แล้วชั่งสารมาตรฐานใส่ใน volumetric flask ให้ได้น้ำหนักสารประมาณ 2.5 mg เติม n-hexane ปรับปริมาตรให้ครบ 50 ml แล้วนำไปชั่งน้ำหนักทั้งหมดอีกครั้ง

2. Intermediate standard ความเข้มข้นประมาณ $1 \mu\text{g/g}$ หรือ $1,000 \text{ ng/g}$: ชั่ง volumetric flask ขนาด 50 ml ปิเปิด stock standard solution ปริมาตร 1 ml ใส่ใน volumetric flask แล้วชั่งน้ำหนัก เติม n-hexane ปรับปริมาตรให้ครบ 50 ml แล้วนำไปชั่งน้ำหนักทั้งหมดอีกครั้ง

วิธีวิเคราะห์

การวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ เริ่มจากการสกัดและทำให้บริสุทธิ์ โดยวิธี modified AOAC แล้วตรวจวิเคราะห์ปริมาณโดยเครื่องมือ GC-ECD เพื่อทราบปริมาณนำมาเป็นแนวทางในการเตรียม sample blend (ตัวอย่าง) และ calibration blend (สารมาตรฐาน) วิเคราะห์ซ้ำด้วยวิธี IDMS-exact signal matching อีกครั้งหนึ่งโดยทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอน ดังนี้

1. การสกัดและการทำให้บริสุทธิ์ ตามวิธี modified AOAC⁽⁶⁾ ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ (duplicate analysis) ซึ่งตัวอย่าง 1 g ลงใน separatory funnel ขนาด 250 ml แล้วละลายด้วย n-hexane 13 ml สกัดด้วย acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วย n-hexane 30 ml 3 ครั้ง นำชั้น acetonitrile มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 500 ml, saturated sodium chloride solution 40 ml แล้วสกัดด้วย n-hexane 100 ml 1 ครั้ง 50 ml 1 ครั้ง รวมชั้น n-hexane ล้างด้วยน้ำกลั่น 100 ml 2 ครั้ง กำจัดน้ำในชั้น n-hexane ด้วย sodium sulfate anhydrous แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง นำไประเหยลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator จนเหลือปริมาตรประมาณ 3 ml สารสกัดถูกทำให้บริสุทธิ์ โดยผ่าน aluminium oxide column (25% deactivated) 10 g, elute column ด้วย n-hexane 100 ml นำ eluate ไประเหยลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator จนเกือบแห้ง ปรับปริมาตรด้วย n-hexane วิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ด้วยเครื่อง GC-ECD โดยนำสารสกัดที่ได้ฉีดเข้าเครื่อง GC-ECD เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน และคำนวณปริมาณ p, p'-DDE ที่ตรวจพบจากสูตร

$\text{ng/g p, p'-DDE found}$

$$= \frac{\text{peak area of analyte in sample} \times \text{ng of standard}}{\text{peak area of standard} \times \text{g of sample injected}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE โดยวิธี

IDMS-Exact signal matching^(3, 4)

เตรียม sample blend (B) คือ สารผสมระหว่างตัวอย่างกับ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE โดยชั่งตัวอย่างไขมัน (x) และเติม $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ให้มีความเข้มข้นเท่ากับปริมาณ p, p'-DDE ที่คำนวณได้จากการวิเคราะห์ด้วย GC-ECD น้ำหนักของตัวอย่างและน้ำหนักของ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ใน sample blend ใช้สัญลักษณ์ m_x และ m_y

เตรียม calibration blend (Bc) คือ สารผสมระหว่างสารมาตรฐาน p, p'-DDE กับ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE โดยชั่งสารมาตรฐาน p, p'-DDE และ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE น้ำหนักเท่ากับที่ผสมใน sample blend (โดยน้ำหนักของ standard p, p'-DDE และ $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ใน calibration blend นี้ ใช้สัญลักษณ์ m_{zc} และ m_{yc})

ฉีด sample blend และ calibration blend เข้าระบบ GC-MS โดย ฉีด blend ละ 5 μL คำนวณ mean ion abundance ratio ของ sample blend (R_B) และ mean ion abundance ratio ของ calibration blend (R_{Bc}) โดยค่า R_B ควรเข้าใกล้ 1 หรือควรอยู่ในช่วง 1 ± 0.05 ถ้าไม่อยู่ในช่วงกำหนด ต้องเตรียม sample blend ใหม่ แต่ถ้า R_B อยู่ในช่วงที่กำหนดให้พิจารณาค่า R_{Bc} ว่าเป็นค่าใกล้เคียงกับ R_B โดยต้องไม่มีความแตกต่างกันเกินกว่า 5.0%

คำนวณความเข้มข้น C_x ของสาร p, p'-DDE ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$C_x = C_z \cdot \frac{m_y}{m_x} \cdot \frac{m_{zc}}{m_{yc}} \cdot \frac{R_{Bc}}{R_B}$$

where

C_x - concentration of analyte in sample X

C_z - concentration of analyte in standard Z

m_y - mass of spike Y added to the sample X to prepare the sample blend B

m_x - mass of sample X added to the spike Y to prepare the sample blend B

m_{zc} - mass of standard solution Z added to the spike Y to make calibration blend Bc

m_{yc} - mass of spike Y added to the standard solution Z to make calibration blend Bc

R_B - isotope amount ratio of sample blend B

R_{Bc} - isotope amount ratio of calibration blend Bc

ในกรณีที่ sample blend ให้ค่า R_B อยู่ในช่วงที่กำหนด แต่ calibration blend ให้ค่า R_{Bc} ที่ไม่ใกล้เคียงกับ R_B ให้เตรียมเฉพาะ calibration blend ใหม่ เพื่อให้ R_B และ R_{Bc} มีความแตกต่างไม่เกิน 5.0% การเตรียม sample blend และ calibration blend แต่ละครั้ง เรียกว่า iteration การผสมครั้งแรกเรียกว่า first iteration หากค่า ion abundance ratio ยังมีความแตกต่างเกินค่าที่กำหนด คือ 5.0% ต้องเตรียม second iteration หรือ third iteration ต่อไปจนกว่าค่า ion abundance ratio ของ sample blend และ calibration blend จะแตกต่างกันไม่เกิน 5.0%

การประมาณค่าความไม่แน่นอน

ประมาณค่าความไม่แน่นอนตามวิธี EURACHEM Guide⁽¹⁾ โดยคำนึงถึงแหล่งความไม่แน่นอนของแต่ละวิธี และคำนวณความไม่แน่นอนขยายโดยใช้ค่า $k = 2$ ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%

1. วิธี modified AOAC และวิเคราะห์ปริมาณ GC-ECD มีแหล่งความไม่แน่นอนมาจากน้ำหนักตัวอย่างไขมัน ปริมาตรสุดท้ายของสารสกัด ความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐานและการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความถูกต้อง (Bias) และความแม่นยำของวิธี (Method Precision)

2. วิธี IDMS-exact signal matching มีแหล่งความไม่แน่นอนมาจากน้ำหนัก isotope $^{13}\text{C}_{12}$ - p, p'-DDE ใน sample blend; m_y , น้ำหนักตัวอย่างไขมันใน sample blend; m_x , น้ำหนักสารมาตรฐานใน calibration blend; m_{zc} , น้ำหนัก isotope ใน calibration blend; m_{yc} , สารมาตรฐาน (ความบริสุทธิ์ และการชั่ง) และความแม่นยำของวิธี (Method Precision)

การควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์

วิเคราะห์ CRM 430 โดยวิธี Modified AOAC และวิเคราะห์ CRM 598 โดยวิธี IDMS-Exact signal matching ควบคู่ไปกับตัวอย่างใช้สถิติช่วงความเชื่อมั่น (confidence interval)⁽⁷⁾ ในการประเมิน

ผล

ผลการตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่าง fish oil ในโครงการ Trace organic Interlaboratory Comparison-APMP.QM-P4 ซึ่งมีค่าอ้างอิงเท่ากับ $160.4 \pm 10.0 \mu\text{g/kg}$ โดยวิธี modified AOAC เพื่อให้ทราบปริมาณ p, p'-DDE ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี IDMS-exact signal matching ได้ปริมาณเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 2 ซ้ำเท่ากับ $152.2 \mu\text{g/kg}$ โดยมีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ $\pm 14.2 \mu\text{g/kg}$ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี IDMS ได้ปริมาณเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 5 ซ้ำเท่ากับ $158.0 \mu\text{g/kg}$ โดยมีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ $\pm 3.5 \mu\text{g/kg}$ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ปริมาณ p, p'-DDE และค่าความไม่แน่นอน (U) ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95% ของตัวอย่าง fish oil ในโครงการ TCQM/APMP Trace organic Interlaboratory Comparison-APMP.QM-P4 ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ปริมาณ p, p'-DDE ในตัวอย่าง	p, p'-DDE $\pm$ U ($\mu\text{g/kg}$)
- ค่าอ้างอิง (Reference value)	160.4 ± 10.0
- ค่าที่ได้จากวิธี modified AOAC	152.2 ± 14.2
- ค่าที่ได้จากวิธี IDMS-Exact signal matching	158.0 ± 3.5

ตารางที่ 2 ปริมาณ p, p'-DDE และค่า relative expanded uncertainty ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95% ของตัวอย่าง fish oil ในโครงการ Trace organic Interlaboratory Comparison-APMP.QM-P4 ของประเทศต่าง ๆ

ประเทศ	p, p'-DDE ($\mu\text{g/kg}$)	Relative expanded uncertainty (%)
ไทย (DMSc)	158.0	2.2
ออสเตรเลีย (NMIA)	157.0	2.9
เกาหลี (KRISS)	161.7	1.1
ญี่ปุ่น (NMIJ)	163.0	2.0

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเฉลี่ยที่ได้จากวิธี IDMS-exact signal matching และค่า relative expanded uncertainty กับปริมาณและ uncertainty ที่สถาบันมาตรวิทยาของประเทศต่างๆ ได้แก่ ออสเตรเลีย เกาหลี และญี่ปุ่น วิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกัน และรายงานโครงการ APMP.QM-P4 พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2)

การประมาณค่าความไม่แน่นอน ตามวิธี EURACHEM Guide ได้คำนวณปริมาณความไม่แน่นอน (Quantify uncertainty components) ความไม่แน่นอนรวม (Calculate total uncertainty) และความไม่แน่นอนขยาย (Expanded uncertainty) ของวิธี modified AOAC วิเคราะห์ปริมาณด้วยเครื่อง GC-ECD และของวิธี IDMS-exact signal matching (ตารางที่ 3 และ 4 และภาพที่ 2 และ 3) แสดงสัดส่วนขององค์ประกอบแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในไขมันโดยวิธี modified AOAC และวิธี IDMS-Exact signal matching

เพื่อเป็นการแสดงคุณภาพของวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ ได้แก่ วิธี modified AOAC ด้วยเครื่องมือ GC-ECD นำมาวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน CRM 430 (certified value เท่ากับ 0.82 ± 0.06 mg/kg) การวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ได้ปริมาณเท่ากับ 0.70 ± 0.06 mg/kg เมื่อคำนวณเป็น % Recovery ได้เท่ากับ 85.6% และพบว่าอยู่ในช่วงยอมรับของ confidence limit ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ 0.67 ถึง 0.97 mg/kg และเมื่อนำวิธีที่พัฒนาขึ้น ได้แก่ วิธี IDMS-exact signal matching ด้วยเครื่องมือ GC-MS ใช้วิเคราะห์วัสดุอ้างอิงมาตรฐาน CRM 598 (certified value เท่ากับ 610 ± 40 $\mu\text{g/kg}$) การวิเคราะห์ 5 ซ้ำ ได้ปริมาณเท่ากับ 610 ± 13 $\mu\text{g/kg}$ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณที่วิเคราะห์ได้กับค่าอ้างอิง พบว่า ไม่มีความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้กับค่าอ้างอิง

ตารางที่ 3 การคำนวณความไม่แน่นอนรวมการวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในไขมัน โดยวิธี modified AOAC

Component	Value, x	u(x)	u(x)/x
1. Sample weight	1 g	0.00124 g	0.00124
2. Final volume			
- Calibration	5 ml	0.01021 ml	0.00204
- Dilution	5 ml	0.01155 ml	0.00231
Total			0.00308
3. Standard			
3.1 Purity	100 µg/ml	2.88675 µg/ml	0.02887
3.2 Dilution (I)			
- Calibration	1 ml	0.00285 ml	0.00286
- Temperature	1 ml	0.00231 ml	0.00231
- Calibration	50 ml	0.02449 ml	0.00049
- Temperature	50 ml	0.11547 ml	0.00231
3.3 Dilution (II)			
- Calibration	1 ml	0.00285 ml	0.00286
- Temperature	1 ml	0.00231 ml	0.00231
- Calibration	25 ml	0.01633 ml	0.00065
- Temperature	25 ml	0.05774 ml	0.00231
Total			0.02953
4. Bias, Recovery	88.13%	3.099%	0.03516
5. Precision	0.702 mg/kg	0.0035 mg/kg	0.00499
Combined uncertainty			0.04657

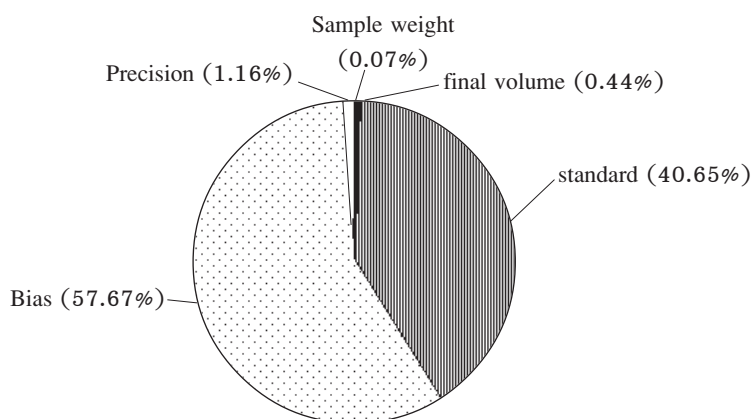
รายงานปริมาณ p, p'-DDE เท่ากับ 152.2 ± 14.2 µg/kg

ตารางที่ 4 การคำนวณความไม่แน่นอนรวมการวิเคราะห์ p, p'-DDE ในไขมัน โดยวิธี IDMS-Exact signal matching

Component	Value, x	u(x)	u(x)/x
1. m_y	0.27872 g	1.61×10^{-5} g	5.97×10^{-5}
2. m_x	0.51977 g	1.61×10^{-5} g	3.10×10^{-5}
3. m_{zc}	0.25069 g	5.72×10^{-5} g	0.00023
4. m_{yc}	0.24960 g	6.53×10^{-5} g	0.00026
5. c_z			
5.1 Purity	99.8%	0.05%	0.00050
5.2 Mass			
- Stock	0.00295 g	1.61×10^{-5} g	0.00547
- Intermediate	0.40743 g	1.61×10^{-5} g	3.96×10^{-5}
Total			0.00549
6. Precision	610 µg/kg	5.814 µg/kg	0.00953
Combined uncertainty			0.01100

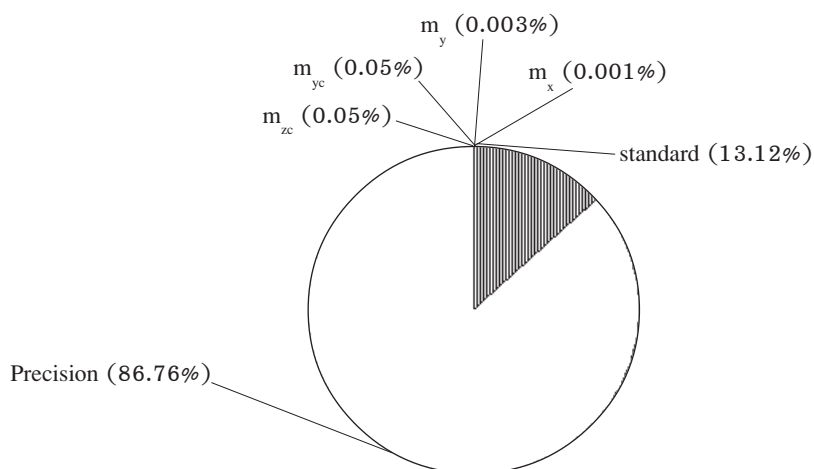
รายงานปริมาณ p, p'-DDE เท่ากับ 158.0 ± 3.5 µg/kg

Contributions of Measurement Uncertainty
(modified AOAC)



ภาพที่ 2 สัดส่วนขององค์ประกอบแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในไขมัน โดยวิธี modified AOAC

Contributions of Measurement Uncertainty
(IDMS-Exact Signal Matching)



ภาพที่ 3 สัดส่วนขององค์ประกอบแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ปริมาณ p, p'-DDE ในไขมัน โดยวิธี IDMS-Exact signal matching

วิจารณ์

การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์สารอินทรีย์ โดยเทคนิค IDMS เป็นการใช้เครื่องมือ Gas Chromatograph (GC) ซึ่งมี Mass spectrometer (MS) เป็นตัวตรวจวัด ใช้ isotopically labeled analogue ของสารที่ต้องการวิเคราะห์เติมลงไปเพื่อใช้เป็น internal standard ดังเช่น การใช้ $^{13}\text{C}_{12}$ -p, p'-DDE เป็น internal standard ในการตรวจวิเคราะห์ p, p'-DDE โดยเลือก ion m/z 246 และ 258 เพื่อทำการวิเคราะห์มวลของสารทั้งสองตามลำดับ เนื่องจากการใช้สาร isotopically labeled analogue เป็น internal standard สามารถชดเชยการสูญหายหรือการสลายตัวของสารที่สนใจที่อาจเกิดขึ้นในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง และหลักการคำนวณผลโดยใช้สัดส่วน (ratio) ระหว่างปริมาณสารที่สนใจกับสาร isotopically labeled analogue ทำให้ไม่ต้องคำนึงถึง total recovery ของวิธี ซึ่งเป็นข้อดีเหนือกว่าการคำนวณโดยใช้ external standard ในปัจจุบันการวิเคราะห์นี้ได้นำมาใช้ในการวิเคราะห์สารตกค้างปริมาณน้อยในงานประจำ เช่น การวิเคราะห์ยาสัตว์ตกค้างในอาหาร nitrofurans metabolites เป็นต้น

การตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี IDMS หากต้องการความถูกต้อง แม่นยำสูง เพื่อให้ค่าที่วิเคราะห์ได้เข้าใกล้ค่าจริงมากที่สุด สอบกลับได้โดยตรงกับ SI unit และมีค่าความไม่แน่นอนน้อย ซึ่งจัดว่าเป็นวิธี primary method ใช้เป็นวิธีอ้างอิงในการกำหนดค่าอ้างอิงของวัสดุอ้างอิงรับรองได้ในการวิเคราะห์จำเป็นต้องมีความระมัดระวังและควบคุมขั้นตอนต่าง ๆ ตลอดการวิเคราะห์ให้มีความถูกต้องแม่นยำสูงสุด ในการเตรียมตัวอย่างและสารมาตรฐานจะต้องทำการเตรียมโดยผ่านการชั่งเท่านั้น (gravimetric preparation) ทำให้สามารถลดผลกระทบจากอุณหภูมิที่มีต่อการขยายตัว

ของปริมาตรของสารละลาย ทำให้ค่าความไม่แน่นอนของความเข้มข้นของสารละลายที่เตรียมขึ้นมีค่าน้อย ด้วยเหตุนี้ในการวิเคราะห์จึงต้องให้ความสำคัญกับการชั่งเป็นอย่างยิ่ง โดยจำเป็นต้องใช้เครื่องชั่งที่มีความละเอียดที่เหมาะสม อย่างน้อย 5 ตำแหน่ง มีการสอบเทียบและบำรุงรักษาอย่างดี สม่ำเสมอ พร้อมกับการควบคุมสถานะชั่ง และเพื่อลด mass bias ของการชั่งให้ค่าน้ำหนักที่อ่านได้มีความถูกต้องแม่นยำมากขึ้น จำเป็นต้องทำการอ่านซ้ำหลายครั้ง รวมทั้งใช้เทคนิคการอ่านแบบ double zero reading ซึ่งเป็นการอ่านค่าน้ำหนักสารโดยไม่ทำการ tare และทำการบันทึกค่า zero ทั้งก่อนชั่งและหลังชั่งนี้เพื่อลดผลกระทบที่เกิดจากการ drift ของเครื่องชั่งที่อาจเกิดในระหว่างทำการชั่ง นอกจากนั้นการเลือกหลักการคำนวณผลของวิธี IDMS แต่ละหลักการนั้นจะมีผลกระทบต่อความถูกต้องและค่าความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์อีกด้วย เช่น ในการใช้หลักการคำนวณผลโดยกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ถึงแม้ว่าจะใช้สัดส่วนระหว่างปริมาณสารที่สนใจกับสาร isotopically labeled analogue ในการคำนวณเพื่อลดแหล่งความไม่แน่นอนที่เกิดจาก total recovery ของวิธีแล้วก็ตาม แต่ถ้าสัดส่วนดังกล่าวไม่เท่ากับสัดส่วนที่อยู่กึ่งกลางของกราฟมาตรฐานนั้นก็ทำให้เกิดค่าความไม่แน่นอนของการคำนวณผลจากการใช้กราฟมาตรฐานได้ ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาเทคนิคการคำนวณผลที่เรียกว่า IDMS - exact signal matching นำเสนอโดย Sargent M และคณะ⁽²⁾ และ Mackay LG และคณะ⁽³⁾ มีหลักการสำคัญ คือ การคำนวณปริมาณสารที่สนใจในตัวอย่างจะทำได้ก็ต่อเมื่อสัดส่วนระหว่างปริมาณสารที่สนใจกับสาร isotopically labeled analogue ทั้งในสารละลายตัวอย่างที่เรียกว่า sample blend และในสารละลายสารมาตรฐานที่เรียกว่า calibration

blend มีค่าเท่ากันพอดีจนมีสัดส่วนเท่ากับ 1 (ratio = 1) ซึ่งหมายความว่า ณ จุดนี้จะไม่มีความไม่แน่นอนที่เกิดจากการคำนวณผลโดยใช้สารละลายมาตรฐานดังกล่าว ทำให้ลดแหล่งของความไม่แน่นอนของวิธีวิเคราะห์ได้ ดังนั้น ในทางปฏิบัติก่อนที่จะทำการวิเคราะห์วิธี IDMS จึงจำเป็นต้องทำการหาปริมาณเบื้องต้นโดยใช้การวิเคราะห์อื่นเพื่อจะได้นำปริมาณสารที่ได้มาคำนวณในการเตรียม sample blend และ calibration blend ให้มีค่าสัดส่วนเข้าใกล้กันมากที่สุด ซึ่งกรณีนี้ กำหนดให้สัดส่วนดังกล่าวแตกต่างกันไม่เกิน 5% แต่ในความเป็นจริงเป็นการยากมากที่จะเตรียมให้ได้สัดส่วนเท่ากันในครั้งแรก จึงจำเป็นต้องมีการทำซ้ำโดยเทคนิคที่เรียกว่า iteration กล่าวคือ เมื่อเตรียม first iteration แล้วสัดส่วนดังกล่าวยังไม่เป็นไปตามกำหนด ให้นำความเข้มข้นของ first iteration มาคำนวณเพื่อเตรียม second, third หรือ fourth iteration จนกว่าสัดส่วนดังกล่าวจะเป็นไปตามกำหนดจึงจะทำการคำนวณผล และปริมาณสารที่ตรวจพบในตัวอย่างที่คำนวณได้จะถือว่าเป็น definitive value แต่อย่างไรก็ตาม วิธีนี้ยังคงมีแหล่งค่าความไม่แน่นอนที่สำคัญที่เกิดจากค่าความไม่แน่นอนของความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณ ดังนั้น การเลือกใช้สารมาตรฐานที่มีค่าความไม่แน่นอนของความบริสุทธิ์น้อยนั้น ย่อมส่งผลถึงค่าความไม่แน่นอนของวิธีที่ลดลงด้วย แต่สารมาตรฐานชนิดดังกล่าวจะมีราคาสูงมาก จากที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นว่าวิธี IDMS-exact signal matching ที่จะใช้เป็น primary method นั้นเป็นวิธีที่ต้องมีการควบคุมค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งต่างๆ ให้เกิดขึ้นน้อยที่สุด จึงเป็นวิธีที่ใช้เวลาในการวิเคราะห์มาก ค่าใช้จ่ายสูง ใช้เป็นวิธีวิเคราะห์เพื่อวัตถุประสงค์เฉพาะที่ต้องการผลที่มีความถูกต้องแม่นยำสูงมากเท่านั้น ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานบริการ

จากประสบการณ์ด้านการวิเคราะห์สารเคมี ป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในอาหารโดยใช้วิธี modified AOAC เป็นงานประจำมากกว่า 30 ปี ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารกำจัดศัตรูพืชและยาสัตว์ตกค้าง สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้พัฒนาวิธีและจัดหาเครื่องมือที่มีความจำเพาะ (specificity) และความไว (sensitivity) ที่เหมาะสม ได้แก่ เครื่องมือ GC-ECD และในระหว่างการปฏิบัติงานได้ดำเนินการควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ทั้งภายในและภายนอก โดยจัดหาวस्तุอ้างอิงที่เหมาะสมและเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญโดยการเปรียบเทียบกับระหว่างห้องปฏิบัติการกับหน่วยงานต่างประเทศที่มีความน่าเชื่อถืออย่างสม่ำเสมอ เมื่อนำวิธีดังกล่าวมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่างในโครงการ APMP.QM-P4 จากรายงานที่ได้รับโครงการฯ ได้กำหนดค่าอ้างอิง (reference value) เท่ากับ $160.4 \pm 10.0 \mu\text{g/kg}$ นั่นคือค่าอ้างอิงอยู่ในช่วง 150.4 ถึง $170.4 \mu\text{g/kg}$ และปริมาณที่ สคอ. ได้รายงานตรวจพบเท่ากับ $152.2 \pm 14.2 \mu\text{g/kg}$ อยู่ในช่วงการยอมรับของค่าอ้างอิงที่น่าพอใจ และเมื่อเปรียบเทียบกับประเทศมาเลเซีย (2 ห้องปฏิบัติการ) ฟิลิปปินส์ และนิวซีแลนด์ ที่ใช้เครื่องมือ GC-ECD พบว่ามีเพียง 2 แห่ง ซึ่งรวมประเทศไทย ที่รายงานปริมาณอยู่ในช่วงการยอมรับของค่าอ้างอิง นอกจากนั้นในโครงการนี้ได้กำหนดให้รายงานค่าความไม่แน่นอน (uncertainty) รวมทั้งหลักการประเมิน uncertainty budget ซึ่งประเทศไทยรายงานค่า relative expanded uncertainty ประมาณ 10% แต่หน่วยงานมาตรวิทยาแห่งชาติที่ใช้วิธี IDMS - exact signal matching ได้รายงานค่า relative expanded uncertainty อยู่ที่ 1 - 3% เท่านั้น

เมื่อห้องปฏิบัติการได้พัฒนาวิธี IDMS-exact signal matching แล้ว ได้ใช้วัสดุอ้างอิงรับรองในการแสดงคุณภาพของวิธี พบว่า ค่าที่วิเคราะห์ได้ไม่มีความแตกต่างจากค่าอ้างอิง จึงได้ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างของโครงการ APMP. QM-P4 อีกครั้ง ซึ่งปริมาณ p, p'-DDE ที่ตรวจพบเท่ากับ $158.0 \pm 3.5 \mu\text{g/kg}$ เมื่อเทียบกับค่าอ้างอิง $160.4 \pm 10.0 \mu\text{g/kg}$ พบว่าค่าที่ได้จากวิธีนี้มีค่าใกล้เคียงค่าอ้างอิง และมีค่า relative expanded uncertainty ประมาณ 2% จากผลวิเคราะห์ตัวอย่างดังกล่าวทั้งวิธี modified AOAC และ วิธี IDMS-exact signal matching และเพื่อยืนยันความสามารถของห้องปฏิบัติการ สคอ. จึงได้ขอรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 และได้รับการรับรองจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เมื่อเดือนสิงหาคม 2550 แสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการสามารถจัดตั้งตรูพืชและยาสัตว์ตกค้างของ สคอ. มีความรู้ ความชำนาญ ความสามารถ และมีความพร้อมในการเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศในด้านการวัดปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนคลอรีนตกค้างในอาหาร สามารถทำหน้าที่ถ่ายทอดมาตรฐานการวัดให้แก่ผู้ต้องการใช้ในประเทศ พัฒนา จัดทำ และให้ค่าอ้างอิงแก่วัสดุอ้างอิง เป็นผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญการวัด และเป็นตัวแทนประเทศไทยในการเข้าร่วมเปรียบเทียบผลการวัด Key comparison ทั้งในระดับภูมิภาคและระดับโลก

สรุป

จากการที่สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้พัฒนาวิธีการวิเคราะห์ p, p'-DDE ในตัวอย่างน้ำมันปลาโดยเทคนิค IDMS-exact signal matching ซึ่งถือว่าเป็น primary method และ

เตรียมการเพื่อเข้าร่วมการเปรียบเทียบระดับมาตรฐาน นอกจากจะเป็นก้าวเดินสำคัญที่จะนำไปสู่การเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศไทย สามารถทำหน้าที่ถ่ายทอดมาตรฐานการวัดให้แก่ผู้ต้องการใช้ในประเทศ พัฒนา จัดทำ และให้ค่าอ้างอิงแก่วัสดุอ้างอิงรับรอง เป็นผู้ดำเนินการแผนทดสอบความชำนาญการวัดแล้ว ยังเป็นการพัฒนาองค์ความรู้ใหม่ให้แก่บุคลากรในหน่วยงานอีกด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ เกสัชกรหญิง อมรา วงศ์-พุทธพิทักษ์ เกสัชกรหญิง ยุพดี พยัคฆพันธ์ และคุณหรรษา ไชยวานิช ที่ได้ให้การสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ Dr. Lindsey Gillian Mackay ที่ได้ให้ความรู้เทคนิค IDMS - exact signal matching และคุณทิพวรรณ นิ่งน้อย และคุณวันทนีย์ ขำเลิศ ที่ได้เสนอแนะสถิติและวิธีการประมาณค่าความไม่แน่นอนการวัด

เอกสารอ้างอิง

1. EURACHEM/CITAC Guide CG4 - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement 2nd ed. 2000.
2. Sargent M, Harrington C, Harte R, editors. Guidelines for achieving high accuracy in isotope dilution mass spectrometry (IDMS). Cambridge : Royal Society of Chemistry; 2002. p. 3.
3. Mackay LG, Taylor CP, Myors RB, Hearn R, King B. High accuracy analysis by isotope dilution mass spectrometry using an iterative exact matching technique. Accred Qual Assur 2003; 8 : 191-4.
4. อัจฉรา เจริญสุข. มาตรฐานห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพฯ : สถาบันมาตรฐานแห่งชาติ; 2548. หน้า 6.

5. Mackay LG. APMP.QM-P4 Pilot study – Determination of p, p'-DDE in fish oil. Sydney (NSW) : National Measurement Institute; 2005. (Final report)
6. Parfitt Ch, editor. Chapter 10 : Pesticide and Industrial Chemical Residues : Organochlorine and organophosphorus pesticide residues.
- In : Horwitz W, editor. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed. Gaithersburg (MD): AOAC International; 2000. Official method 970.52, p. 5–6.
7. Miller JN, Miller JC. Statistics and chemometrics for analytical chemistry. 5th ed. Hants : Ashford Colour Press; 2005. p. 28.

Development of Isotope Dilution Mass Spectrometry–Exact Signal Matching Method for Quantitation of p, p'-DDE in Fish Oil

Kanokporn Atisook and Wischada Jongmevasna

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Analytical method of organochlorine pesticides: p, p'-DDE in fish oil using the isotope dilution mass spectrometry (IDMS)–exact signal matching technique which was known as primary method has been developed. The developed method was confirmed for their accuracy and precision by analyzing the certified reference material fish oil (BCR CRM 589) which the certified value was 610 ± 40 µg/kg. The result showed that the mean value from 5 replicates analysis was 610 µg/kg and the standard deviation was 13 µg/kg. When using developed method to analyze fish oil sample of Trace organic Interlaboratory Comparison APMP.QM-P4 which was the inter-laboratory comparison program organized by the Consecutive Committee for Amount of Substance (CCQM). The amount of p, p'-DDE found was 158.0 ± 3.5 µg/kg which was close to reference value of 160.4 ± 10.0 µg/kg. The accomplishment of developing the method make the Bureau of Quality and Safety of Food ready to become the reference laboratory in the field of organochlorine pesticides in food. The reference laboratory will transfer the traceability of measurement to user in Thailand, develop, establish and characterize the reference value for producing reference material, provide proficiency testing scheme and to be nominated as the representative of Thailand to participate in regional or global key comparison.

Keywords : Isotope dilution mass spectrometry (IDMS), Exact matching, Primary method, p, p'-DDE, fish oil