

โปรแกรมการทดสอบความชำนาญ

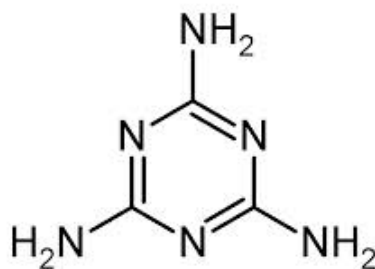
การวิเคราะห์เมลามีนในนมผง

1. หน่วยงานที่รับผิดชอบ

กลุ่มวิเคราะห์อินทรีย์เคมี ฝ่ายมาตรฐานวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรฐานแห่งชาติ

2. หลักการและเหตุผล

เมลามีนเป็นสารอินทรีย์ที่สังเคราะห์จากการให้ความร้อนแก่ dicyanamide ทำให้เกิดแอมโมเนียและเมลามีน ชื่อทางเคมีของเมลามีนคือ 1,3,5-triazine-2,4,6-triamine ($C_3H_6N_6$) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ละลายน้ำได้เล็กน้อย เมื่อนำเมลามีนไปผสมกับฟอร์มาลดีไฮด์จะได้เมลามีนเรซินซึ่งสามารถขึ้นรูปได้ด้วยความร้อน มีความทนทาน จึงมีประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติก แผ่นฟอรัไมกา จานชาม และกาว เป็นต้น



เมลามีนมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบสูงถึง 66.7% โดยน้ำหนัก จึงมักนำมาใช้ผสมในวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารสัตว์ เพื่อเพิ่มปริมาณไนโตรเจนที่เรียกว่า non protein nitrogen (NPN) แต่การย่อยเมลามีนในกระเพาะของสัตว์เคี้ยวเอื้องเกิดได้ไม่สมบูรณ์เท่ากับการย่อยโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ

ในบางครั้งพบการปนปลอมของเมลามีนในนมและอาหาร เพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนอย่างผิดกฎหมาย เนื่องจากการทดสอบโปรตีนในอาหารมักใช้การวัดปริมาณไนโตรเจนตามวิธี kjeldahl หรือ Dumas การเติมเมลามีนลงไปจึงทำให้เข้าใจผิดว่ามีปริมาณโปรตีนสูงเพราะไนโตรเจนส่วนใหญ่มาจากเมลามีน

การปนเปื้อนเมลามีนในนมเกิดขึ้นครั้งแรกในประเทศจีน และสร้างความตื่นตระหนกไปทั่วโลก สำหรับประเทศไทยมีเพียงการนำเข้าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของนมจากจีน เช่น ขนมหั้วกรอบ ช็อคโกแลต นมรสช็อคโกแลต นมเคลือบน้ำตาล ลูกอมรสโยเกิร์ต เป็นต้น ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ร่วมมือกันเพื่อเฝ้าระวัง และตรวจวัดปริมาณเมลามีนที่ปลอมปนในอาหารเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคโดยเฉพาะผู้บริโภคที่เป็นเด็ก

ความเป็นพิษและอันตรายของเมลามีน

1. แม้เมลามีนจะมีความเป็นพิษต่ำ แต่หากรับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณมากๆ และติดต่อกันเป็นเวลานาน จะก่อให้เกิดนิ่วในไต หรือมีอาการไตวาย เนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยเมลามีนได้ นอกจากนี้เมลามีนยังมีผลทำลายระบบสืบพันธุ์
2. หากสูดดมหรือสัมผัสทางผิวหนังจะเกิดการระคายเคือง หรือผิวหนังอักเสบ

3. การใช้ภาชนะเมลามีนไม่ควรใช้ที่ความร้อนสูงเกิน 100 °C เพราะอาจทำให้สารฟอร์มัลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งแพร่ออกมาได้

คณะกรรมการอาหารและยาได้กำหนดเกณฑ์ความปลอดภัยของปริมาณสารเมลามีนในอาหาร ดังนี้

1. ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับนมผงทุกชนิด
2. ไม่เกิน 2.5 มิลลิกรัม/กิโลกรัม สำหรับอาหารที่มีนม หรือองค์ประกอบของนมเป็นส่วนผสม

เพื่อให้มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือในผลการวิเคราะห์ทางเคมี จำเป็นต้องนำระบบประกันคุณภาพ และการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมมาใช้ ทั้งการควบคุมคุณภาพจากภายใน และภายนอก การควบคุมคุณภาพจากภายใน เช่น เลือกวิธีวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ และผ่านการตรวจสอบความใช้ได้แล้ว มีการตรวจสอบ และควบคุมความเที่ยง และความแม่นยำของวิธี เช่นการวิเคราะห์ซ้ำ การควบคุมความแม่นยำโดยการใช้สารมาตรฐาน เช่น การวิเคราะห์สารอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material, CRM) และการควบคุมคุณภาพจากภายนอก เช่น การวัดเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

การเข้าร่วมในโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ เป็นกระบวนการหนึ่งของการควบคุมคุณภาพจากภายนอก (external quality control) เพื่อประเมินความสามารถเชิงเทคนิคของการวิเคราะห์การวิเคราะห์ทางเคมี หากห้องปฏิบัติการต้องการขอการรับรองตามระบบคุณภาพ ISO/IEC 17025 มีข้อกำหนดหนึ่งที่ระบุให้ห้องปฏิบัติการทำการประเมินความสามารถโดยการเข้าร่วมในโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ ซึ่งทำให้ห้องปฏิบัติการมีเครื่องมือที่เป็นรูปธรรมในการตรวจประเมินความสามารถ หากความแม่นยำของวิธีและขั้นตอนการวิเคราะห์ และใช้ผลจากการเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญในการปรับปรุงขั้นตอนการปฏิบัติงาน วิธีทดสอบ และควบคุมส่วนปฏิบัติงานต่างๆ ที่เกี่ยวข้องอย่างต่อเนื่อง

ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติได้ทำการศึกษาการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับการวิเคราะห์เมลามีนในอาหาร และเล็งเห็นความสำคัญและประโยชน์ของการเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการในประเทศที่ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มดังกล่าว เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในผลการวัดและพัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการ จึงได้จัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญขึ้นโดยใช้ตัวอย่างเมลามีนในนมซึ่งจัดเตรียมและศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรโดยห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อินทรีย์เคมี

3. การเตรียมตัวอย่างและการบรรจุ

เติมสารละลายเมลามีนลงในนมผงเพื่อให้คนผสมได้ง่ายและมีลักษณะข้นหนืด (paste) จากนั้นเติมสารละลายเมลามีนเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของเมลามีนในปริมาณที่เหมาะสม ทำการคนผสมเป็นเวลา 4 ชม. จากนั้นนำไปใส่ถาดเพื่ออบที่อุณหภูมิ 50-60°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการบดและร่อนคัดขนาดให้ได้อนุภาคที่เล็กกว่า 500 µm ก่อนบรรจุตัวอย่างที่ได้ในขวดแก้วสีชา ขวดละประมาณ 20 กรัม และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

4. การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของตัวอย่าง

ทำการสุ่มเลือกตัวอย่างจำนวน 11 ขวด เพื่อศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เทคนิค IDMS Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) โดยแต่ละขวดจะแบ่งตัวอย่าง

เพื่อทำการวิเคราะห์สองซ้ำ และใช้ปริมาณตัวอย่างซ้ำละ 1 กรัม สกัดตัวอย่าง และฉีดเข้าเครื่อง LC-MS/MS เป็นลำดับแบบสุ่ม (random order) โดยทำการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันตามแนวทางใน ISO Guide 35 โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

การศึกษาความเสถียรของตัวอย่างระยะสั้น (short-term stability) โดยใช้ isochronous scheme เริ่มต้น ตัวอย่างจะถูกเก็บที่อุณหภูมิอ้างอิงคือ -20°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่คาดว่าตัวอย่างจะมีความเสถียร จากนั้นตัวอย่างจะถูกนำออกมาวางในเตาอบที่อุณหภูมิ 45°C เป็นระยะเวลาต่างๆ กันคือ 1 2 3 และ 4 สัปดาห์ แล้วจึงทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดพร้อมๆ กัน ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (repeatability conditions) ซึ่งจะสามารถลดผลกระทบที่อาจเกิดจากความไม่คงที่ของการตอบสนองของเครื่องมือ วิธีการเตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ รวมทั้งการทำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ที่เวลาต่างๆ กัน นอกจากนี้ตัวอย่างบางส่วนจะถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อศึกษาความเสถียรระยะยาว (long-term stability) โดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 3 6 12 18 และ 24 เดือน

5. ตารางการดำเนินงานชั่วคราว (tentative timetable)

รายการ	เวลา
เตรียมตัวอย่าง	ธ.ค. 2560
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน	ม.ค. 2561
ทดสอบความเสถียรระยะสั้น (short term stability)	ก.พ. 2561
เชิญห้องปฏิบัติการต่างๆ เข้าร่วมโปรแกรม	มี.ค. 2561
วันสิ้นสุดการลงทะเบียน	เม.ย. 2561
ส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ	พ.ค. 2561
ส่งผลการวิเคราะห์	13 ก.ค. 2561
ร่างรายงาน	30 ส.ค 2561

6. การเก็บรักษาตัวอย่างและการวิเคราะห์

- ผู้เข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญจะได้รับตัวอย่างแครกเกอร์จำนวน 3 ขวด (ความเข้มข้นของเมลามีนอยู่ในช่วง $0.5 - 2 \mu\text{g/g}$) พร้อมแบบฟอร์มการรับตัวอย่าง เมื่อได้รับตัวอย่างให้ตรวจสอบดูลักษณะทางกายภาพของขวดตัวอย่างและลักษณะอื่นๆ ที่สำคัญซึ่งอาจมีผลต่อการวิเคราะห์และบันทึกลงในแบบฟอร์มการรับตัวอย่าง และส่งแบบฟอร์มคืนผู้จัดทำทางอีเมล cheerapa@nimt.or.th
- ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งควรใช้น้ำหนักตัวอย่างไม่น้อยกว่า 1 กรัม โดยใช้วิธีที่ห้องปฏิบัติการเห็นว่ามีเหมาะสม หรือเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เป็นประจำ
- เลือกวิเคราะห์และรายงานผลเพียง 1 ขวด (หากมีความจำเป็นอาจใช้ตัวอย่างอีกขวดหนึ่งสำหรับการพัฒนาหรือปรับปรุงวิธี)

- ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญควรวิเคราะห์ค่าความชื้นของตัวอย่าง แล้วนำไปหักลบออกจากน้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่งเพื่อทำการวิเคราะห์ ดังนี้
 1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1 กรัม อย่างน้อย 3 ช้ำ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
 2. วางตัวอย่างไว้ใน desiccator ที่มีสารดูดความชื้น เช่น silica gel หรือ anhydrous calcium sulfate (DRIERITE ®) อย่างน้อย 7-10 วัน
 3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างจนกระทั่งน้ำหนักตัวอย่างคงที่
 4. ควรทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในช่วงเวลาเดียวกับที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณเมลามินในตัวอย่าง

7. การรายงานผลการวิเคราะห์และค่าความไม่แน่นอน

7.1 รายงานผลการวิเคราะห์ของเมลามินในหน่วย $\mu\text{g/g}$ พร้อมค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (standard uncertainty) และค่าความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty) โดยกรอกรายละเอียดในแบบฟอร์มรายงานผลการวัด (F 004)

- 7.2 ระบุรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ ลงในแบบฟอร์มรายงานผลการวัด ดังนี้
- วิธีวิเคราะห์
 - ชื่อเครื่องมือที่ใช้ รุ่น ประเทศผู้ผลิต
 - การเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่องมือ เช่น liquid-liquid extraction, SPE clean-up, กรณียใช้ column ในการ clean-up ตัวอย่างให้ระบุชนิดของ packing material และบริษัทผู้ผลิต
 - ผู้วิเคราะห์ และ/หรือผู้รับผิดชอบการรายงานผลการวิเคราะห์

- 7.3 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนจากการวิเคราะห์
- ให้คำนวณค่าความไม่แน่นอนจากทุกแหล่งที่เป็นไปได้ เช่น
- ค่าความไม่แน่นอนจากการชั่งตัวอย่าง
 - ความไม่แน่นอนจากการวัดซ้ำ (Repeatability)
 - ความเที่ยงของวิธี (Method precision)
 - ความไม่แน่นอนจากการทำกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)
 - ความไม่แน่นอนจากการเตรียมสารมาตรฐาน
 - ค่าการได้คืนกลับ (Recovery)
 - แหล่งอื่นๆ

ห้องปฏิบัติการอาจใช้แนวทางการคำนวณค่าความไม่แน่นอนตามแนวทางในเอกสาร Eurachem/CITAC Guide CG 4 third edition ซึ่งสามารถ download ได้ที่

http://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

8. การประเมินผลการวิเคราะห์

- 8.1 ใช้ค่า z-score เป็นเกณฑ์การประเมินผลการทดสอบ
- 8.2 ค่าอ้างอิงที่ใช้คือค่าที่ได้จากการวิเคราะห์โดยกลุ่มวิเคราะห์อินทรีย์เคมี ฝ่ายมาตรวิทยาเคมี และชีวภาพ

9. กำหนดส่งผลการวิเคราะห์

9.1 รายงานค่าความเข้มข้นของเมลามีนในหน่วย $\mu\text{g/g}$ กำหนดวันรายงานผล ให้ส่งผลการวัดภายใน **วันที่ 13 ก.ค. 2561**

9.2 การส่งผลการวิเคราะห์ถึง ดร. จีรพา บุญญคง

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ

3/4-5 ม. 3 ต. คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120

โทรศัพท์ 02-5775100 ต่อ 2352 โทรสาร 02-5775096

E-mail: cheerapa@nimt.or.th