โปรแกรมทดสอบความชำนาญ
การวัดสัดส่วนกรดไขมันในน้ำมันพืช

1. หน่วยงานที่รับผิดชอบ

กลุ่มงานวิเคราะห์อินทรีย์เคมี ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ

2. หลักการและเหตุผล

ไขมัน เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกาย นอกจากนี้ไขมันยังช่วยทำให้ร่างกายดูดซึมวิตามิน A, E, D ได้ดี กรดไขมันส่วนใหญ่ได้จากไขมัน และน้ำมัน

กรดไขมัน (fatty acid) เป็นกรดอินทรีย์ที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอกซิล (COOH) ต่อกับสายไฮโดรคาร์บอนขนาดต่างๆกัน มีโครงสร้างทั่วไปเป็น R-COOH โดย R คือ สายไฮโดรคาร์บอน ในธรรมชาติจะพบกรดไขมันเป็นองค์ประกอบของไตรกรีเซอไรด์ (triglyceride) หรือไตรเอซิลกรีเซอรอล (triacylglycerol) อยู่ในน้ำมัน (oil) และไขมัน (fat) ทั้งจากพืชและสัตว์

กรดไขมันมักมีโครงสร้างเป็นสายตรง ไม่แตกแขนงและมีคาร์บอนเป็นจำนวนคู่ สายไฮโดรคาร์บอนของกรดไขมันอาจมีพันธะคู่หรือไม่มีก็ได้

กรดไขมันสามารถแยกตามประเภทได้ 4 ชนิดคือ

1. กรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) คือกรดไขมันที่ไม่มีพันธะคู่ กรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยกว่า 12 อะตอม เรียกว่า short and medium chain fatty acid ซึ่งพบในน้ำมันมะพร้าว กรดไขมันอิ่มตัวที่มีมากที่สุดตามธรรมชาติคือ กรดพาลมิติก (palmitic acid: C16) รองลงมา คือสเตอริค (stearic acid: C18)

2. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) เป็นกรดไขมันที่มีพันธะคู่อยู่บนโครงสร้างคาร์บอนมากกว่า 2 พันธะ พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีโครงสร้าง 2 แบบ คือแบบ cis และ trans โดยปกติพันธะคู่ของกรดไขมันจะถูกคั่นด้วยหมู่ methylene (-CH_2-) เช่น กรดลิโนเลอิก (linoleic, C18:2) กรดลิโนเลนิก (linilenic, C18:3) และกรดอะราชิโดนิก (arachidonic, C20:4)

3. กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated fatty acid) คือกรดไขมันที่มีพันธะคู่ 1 พันธะ เช่น กรดพาล์มิโทเลอิก (palmitoleic, C16:1) กรดโอเลอิก (oleic acid, C18:2)
4. กรดไขมันทรานส์ (trans fatty acid) พบในปริมาณน้อยในอาหารทั่วไป (เช่น ผลิตภัณฑ์จากนม เนื้อวัวและเนื้อแกะ) ไขมันทรานส์มักเกิดขึ้นในระหว่างการกลั่นของเหลวจากน้ำมันพืช (เช่น คาโนลา และ น้ำมันถั่วเหลือง) ไขมันทรานส์จะเกิดขึ้นเมื่อถูกผลิตด้วยกระบวนการเติมไฮโดรเจนลงไปในน้ำมันพืช (Hydrogenation) ซึ่งกระบวนการนี้เปลี่ยนน้ำมันที่อยู่ในรูปของเหลวให้มีลักษณะกึ่งของแข็งอย่าง เช่น เนยเทียมหรือมาการีน

สัดส่วนของกรดไขมันที่ผสมอยู่ในไขมันแต่ละชนิดนั้นมักจะมีกรดไขมันบางตัวที่มีสัดส่วนสูงกว่ากรดไขมันตัวอื่นๆ ในประเภทเดียวกัน การวิเคราะห์เพื่อให้ทราบสัดส่วนกรดไขมันในน้ำมันและไขมันมีประโยชน์ต่อผู้สุขภาพของบริโภค ช่วยให้สามารถเลือกบริโภคไขมันที่เป็นประโยชน์ เช่น ไขมันที่ประกอบด้วยกรดไขมัน

ไม่อิ่มตัวช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวและไขมันทรานส์ เป็นไขมันที่ส่งผลร้ายต่อสุขภาพ

เพื่อให้มีความถูกต้องและน่าเชื่อถือในผลการวิเคราะห์ทางเคมี จำเป็นต้องนำระบบประกันคุณภาพและการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมมาใช้ ทั้งการควบคุมคุณภาพจากภายใน และภายนอก การควบคุมคุณภาพจากภายใน เช่น เลือกวิธีวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้ และผ่านการตรวจสอบความใช้ได้แล้ว มีการตรวจสอบและควบคุมความเที่ยง และความแม่นยำของวิธี เช่นการวิเคราะห์ซ้ำ การควบคุมความแม่นยำโดยการใช้สารมาตรฐาน เช่น การวิเคราะห์สารอ้างอิงรับรอง (certified reference material, CRM) และการควบคุมคุณภาพจากภายนอก เช่น การวัดเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

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

ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติได้ทำการศึกษาการผลิตวัสดุอ้างอิงรับรองสำหรับการวิเคราะห์สัดส่วนกรดไขมัน และเล็งเห็นความสำคัญและประโยชน์ของการเข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการในประเทศที่ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มดังกล่าว เพื่อสร้างความเชื่อมั่นในผลการวัดและพัฒนาความสามารถของห้องปฏิบัติการ จึงได้จัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญขึ้นโดยจัดเตรียม ศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรโดยกลุ่มงานวิเคราะห์อินทรีย์เคมี

3. การเตรียมตัวอย่างและการบรรจุ

ตัวอย่างน้ำมันพืชประมาณ 3 ลิตร จะถูกกวนผสมเพื่อให้มีความเป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนบรรจุในขวดแก้วสีชาขนาด 30 มล. โดยทำการพ่นด้วยก๊าซไนโตรเจนก่อนปิดฝา ตัวอย่างที่บรรจุขวดแล้วจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

4. การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรของตัวอย่าง

ทำการสุ่มเลือกตัวอย่างจำนวน 11 ขวด เพื่อศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เทคนิค GC-FID โดยแต่ละขวดจะแบ่งตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์สองซ้ำ และใช้ปริมาณตัวอย่างซ้ำละ 1 กรัม ทำการ esterify และฉีดเข้าเครื่อง GC-FID เป็นลำดับแบบสุ่ม (random order) ทำการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันตามแนวทางใน ISO Guide 35 โดยใช้ one way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

การศึกษาความเสถียรของตัวอย่างระยะสั้น (short-term stability) โดยใช้ isochronous scheme เริ่มต้น ตัวอย่างจะถูกเก็บที่อุณหภูมิอ้างอิงคือ 4 °C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่คาดว่าตัวอย่างจะมีความเสถียรจากนั้นตัวอย่างจะถูกนำออกมาวางในเตาอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นระยะเวลาต่างๆ กันคือ 1 2 และ 4 สัปดาห์ แล้วจึงทำการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดพร้อมๆ กัน ภายใต้สภาวะการทดลองเดียวกัน (repeatability conditions) ซึ่งจะสามารถลดผลกระทบที่อาจเกิดจากความไม่คงที่ของการตอบสนองของเครื่องมือ วิธีการ

เตรียมตัวอย่างและวิธีวิเคราะห์ รวมทั้งการทำกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ที่เวลาต่างๆกัน นอกจากนี้ตัวอย่างบางส่วนจะถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C เพื่อศึกษาความเสถียรระยะยาว (long-term stability) โดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 1 3 6 9 และ 12 เดือน

5. ตารางการดำเนินงานชั่วคราว (tentative timetable)

รายการ	เวลา
เตรียมตัวอย่าง	มี.ค. 2561
ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน	มี.ค. 2561
ทดสอบความเสถียรระยะสั้น (short term stability)	เม.ย. 2561
เชิญห้องปฏิบัติการต่างๆ เข้าร่วมโปรแกรม	พ.ค. 2561
วันสิ้นสุดการลงทะเบียน	พ.ค. 2561
ส่งตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการ	29 มิ.ย. 2561
ส่งผลการวิเคราะห์	***31 ก.ค. 2561***
ร่างรายงาน	30 ส.ค. 2561

6. การเก็บรักษาตัวอย่างและการวิเคราะห์

- ผู้เข้าร่วมโปรแกรมทดสอบความชำนาญจะได้รับตัวอย่างน้ำมันพืชจำนวน 3 ขวด พร้อมแบบฟอร์มการรับตัวอย่าง เมื่อได้รับตัวอย่างให้ตรวจดูลักษณะทางกายภาพของขวดตัวอย่าง และลักษณะอื่นๆ ที่สำคัญ ซึ่งอาจมีผลต่อการวิเคราะห์และบันทึกลงในแบบฟอร์มการรับตัวอย่าง และส่งแบบฟอร์มคืนผู้จัดทางอีเมล์ cheerapa@nimt.or.th
- ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งควรใช้น้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1 กรัม โดยใช้วิธีมาตรฐานที่ห้องปฏิบัติการเห็นว่ามีความเหมาะสม หรือเป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เป็นประจำ
- เลือกวิเคราะห์และรายงานผลเพียง 1 ขวด (หากมีความจำเป็นอาจใช้ตัวอย่างอีกสองขวดสำหรับการพัฒนาหรือปรับปรุงวิธี)

7. การรายงานผลการวิเคราะห์และค่าความไม่แน่นอน

7.1 รายงานผลการวิเคราะห์กรดไขมันในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (w/w) พร้อมค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (standard uncertainty) และค่าความไม่แน่นอนขยาย (expanded uncertainty) โดยกรอกรายละเอียดในแบบฟอร์มรายงานผลการวัด (F 004)

7.2 ระบุรายละเอียดวิธีวิเคราะห์ ลงในแบบฟอร์มรายงานผลการวัด ดังนี้

- วิธีวิเคราะห์
- ชื่อเครื่องมือที่ใช้ รุ่น ประเทศผู้ผลิต
- การเตรียมตัวอย่างก่อนฉีดเข้าเครื่องมือ เช่น sample clean-up esterification เป็นต้น
- 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 https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

8. การประเมินผลการวิเคราะห์

8.1 ใช้ค่า z-score เป็นเกณฑ์การประเมินผลการทดสอบ

8.2 ค่าอ้างอิงที่ใช้คือค่าที่ได้จากการวิเคราะห์โดยกลุ่มงานวิเคราะห์อินทรีย์เคมี ฝ่ายมาตรวิทยาเคมีและชีวภาพ

9. กำหนดส่งผลการวิเคราะห์

9.1 รายงานค่าความเข้มข้นของกรดไขมันในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (w/w) และส่งผลการวัดภายใน ***วันที่ 31 ก.ค. 2561***

9.2 ส่งผลการวิเคราะห์ถึง ดร. จีรพา บุญญคง

สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ

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

โทรศัพท์ 02-5775100 ต่อ 2352

E-mail: cheerapa@nimt.or.th