วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับพิเศษ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2558 Vol. 57 Supplement 3 July - September 2015

ว กรมวิทย พ 57 (ฉบับพิเศษ 3) ก.ค. - ก.ย. 2558 Bull Dept Med Sci 57 (Suppl 3) July - September 2015

ISSN 0125-684X

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	
ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นพ.อภิชัย มงคล	นางจุรีภรณ์ บุณยวงศ์วิโรจน์
	พญ.วารุณี จินารัตน์	นพ.วันชัย สัตยาวุฒิพงศ์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	ภญ.อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์	พญ.มยุรา กุสุมภ์
	ภญ. ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท
	ภญ.สุภัทรา อิ่มเอิบ	ภญ. ดร.สุมล ปวิตรานนท์
	ดร.ปนัดดา ซิลวา	
บรรณาธิการ	สพญ. ดร.เยาวภา พงษ์สุวรรณ	
คณะบรรณาธิการ	ศ. ดร. นพ.สมชัย บวรกิตติ	ศ. ดร. นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล
	ศ. ดร.อรษา สุตเธียรกุล	ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุธวัฒนะ
	ดร.อารี ทัตติยพงศ์	นางสาวจุไร โชติธนาทวีวงศ์
	นายศิริ ศรีมโนรถ	ดร.อุษาวดี ถาวระ
	นางกนกพร อธิสุข	นางวิชชุดา จริยะพันธ์
	นายสุธน วงษ์ชีรี	นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชย์
	ดร.สุวรรณา เธียรอังกูร	นางสิริภากร แสงกิจพร
	ดร.วิมล เพชรกาญจนาพงศ์	ดร.ประไพ วงศ์สินคงมั่น
	ภญ. ดร.เจริญดี ปิงสุทธิวงศ์	ภญ. ดร.วลัยลักษณ์ เมธาภัทร
	ดร.อารีรัตน์ สง่าแสง	
เลขานุการ	นางไพรวรรณ์ บุญวงษ์	
ฝ่ายธุรการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ	
	นางสาวประสาน จุลวงษ์	

กำหนดออก	ราย 3 เดือน
อัตราสมาชิก	ในประเทศปีละ 200.- บาท
	ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
	88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000
	โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297
พิมพ์ที่	หจก. อรุณการพิมพ์
	457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200
	โทร. 0-2282-6033-4

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับพิเศษ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2558 **Vol. 57 Supplement 3 July - September 2015**

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ *Benzo* (a) pyrene ในน้ำมันบริโภค 263

จิตผกา สันทัดรบ และกนกพร อธิสุข

การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2551-2557 275

กรรณิกา จิตติยศรา พิชยา ดีศรี และสาคร สิงศาลาแสง

ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ตามมาตรฐาน ISO 15189 287

ณฐมน เทียนมณี สุธน วงษ์ชีรี สุรศักดิ์ หมื่นพล ปนัดดา วิรุฬห์บุญภัทร และชมไฉไล สินธุสาร

ความเสี่ยงสุขภาพของเจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ 302

ราเมศ กรณีย์ อนุสรณ์ ดิษฐสวรรค์ และศิริพร ป้อมใย

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดสำหรับแผนงานทดสอบความชำนาญ 312

สุดธิดา หมีทอง และกมลลักษณ์ อินทรัศมี

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

คุณภาพผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่จำหน่ายในประเทศไทยปี พ.ศ. 2555 - 2556 323

ศิริพร ทองประกายแสง กมลลักษณ์ อินทรัศมี และจำเริญ ดวงงามยิ่ง

บทความปริทัศน์

การทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก 337

สุวรรณา เธียรอังกูร

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES
ปีที่ 57 ฉบับพิเศษ 3 กรกฎาคม - กันยายน 2558 Vol. 57 Supplement 3 July - September 2015

CONTENTS

Page

Original Articles

Development of Analytical Method for Benzo (a) Pyrene in Edible Oil 263
Jitpaka Suntudrob and Kanokporn Atisook

Potential of Analytical Laboratories of Lead and Cadmium in Water in Thailand during 2008 - 2014 275
Kannika Jittiyossara Pichaya Deesri and Sakorn Singsalasaeng

Factors Affected the Duration of Corrective Action Time of Medical Laboratory Assessment According to ISO 15189 287
Natamol Tianmanee Suthon Vongsheree Surasak Muenpon Panadda Vironboonyaphat and Chomchailai Sinthusarn

Health Risk of Laboratory's Staffs of Regional Medical Sciences Center 3 Nakhon Sawan in Using of Hazardous 302
Rames koranee Anusorn Ditsawan and Siriporn Pomyai

Developing of Sunscreen Formulation for Proficiency Testing Scheme 312
Sudthida Meethong and Kamonluck Intharatsamee

Laboratory Findings

Quality of Hair Dye Products in Thailand between 2012 - 2013 323
Siriporn Thongprakaisang Kamonluck Intharatsamee and Jumrern Duangngnamying

Review Articles

Alternative toxicology Tests 337
Suwunna Tienungoon

ว กรมวิทย พ 2558 ฉบับพิเศษ 3 : 263-274

การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo (a) Pyrene ในน้ำมันบริโภค

จิตผกา สันทัดรบ และกนกพร อธิสุข

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ได้ศึกษาและพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo (a) pyrene (BaP) ในน้ำมันบริโภคซึ่ง BaP เป็น marker ของสารกลุ่ม Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ในน้ำมันบริโภค เนื่องจากองค์การอนามัยโลกกำหนดเป็นสารก่อมะเร็งต่อมนุษย์ วิธีที่พัฒนาขึ้นนำไปใช้ในการสำรวจปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภคที่จำหน่ายในประเทศ ผู้วิจัยได้ศึกษาและเลือกใช้เทคนิค liquid-liquid extraction ร่วมกับ solid phase extraction (SPE) ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ BaP ด้วย HPLC-Fluorescence detector จากการทดสอบความถูกต้องของวิธี (Method validation) พบว่ามีความเหมาะสมของระบบโครมาโทกราฟ มีความจำเพาะเจาะจง คือสาร BaP ให้พีคที่เวลา 15.3 นาที โดยไม่ถูกรบกวนจากสารอื่น มีความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกับพื้นที่ใต้พีคตลอดช่วงความเข้มข้น 1-10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร และความสัมพันธ์ของความเข้มข้นสารมาตรฐานที่เติมกับความเข้มข้นที่ตรวจพบในช่วง 1-10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) เท่ากับ 0.9997 และ 0.9996 ตามลำดับ ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ เท่ากับ 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ผลการทดสอบร้อยละการคืนกลับจากการวิเคราะห์ spiked sample ที่ความเข้มข้น 4 ระดับ ระดับละ 10 ซ้ำ ได้ค่า mean recovery อยู่ในช่วงเท่ากับร้อยละ 81-86 และมีความเที่ยง (precision) ทั้ง repeatability แสดงด้วยค่า %RSD อยู่ในช่วงร้อยละ 3.2-7.4 และ within-laboratory reproducibility เท่ากับร้อยละ 86 การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ค่า relative standard uncertainty เท่ากับ 15.6% โดยค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์ (Relative expanded uncertainty, U) เท่ากับ 31.2% เมื่อนำวิธีที่พัฒนามาสำรวจปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภค ในช่วงปี พ.ศ. 2551-2556 รวม 126 ตัวอย่าง พบสาร BaP 34 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 27.0 ปริมาณที่ตรวจพบอยู่ในช่วงน้อยกว่า 1.0 ถึง 21.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมี 9 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันรำข้าว น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันที่ไม่ระบุหรือไม่ทราบชนิด ตรวจพบปริมาณ BaP สูงกว่ามาตรฐานปริมาณสูงสุดที่ยอมให้มีได้ (Maximum Limit, ML) ในน้ำมันและไขมันบริโภคที่สหภาพยุโรปกำหนดไว้ที่ปริมาณ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

Accepted for publication, 22 September 2015

บทนำ

นอกจากกลุ่มอาหารปิ้งย่างที่มีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของสารประกอบในกลุ่มโพลีไซคลิก อะโรเมติกไฮโดรคาร์บอน (polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) แล้ว[1] อาหารซึ่งเกิดจากกระบวนการแปรรูปชนิดอื่นก็มีความเสี่ยงเช่นเดียวกัน เช่น น้ำมันที่ใช้บริโภคหรือปรุงอาหาร ซึ่งเป็นน้ำมันพืชผ่านกรรมวิธี (refined vegetable oil) ที่ได้จากกระบวนการสกัดในระบบอุตสาหกรรม เนื่องจากกระบวนการผลิตต้องใช้ความร้อนหลายขั้นตอน ได้แก่ การนำเมล็ดพืชมาผ่านความร้อน แล้วบดละเอียด สกัดน้ำมันออกจากเมล็ดพืชด้วย hexane แยกกากออก นำไปประเหยไล่ hexane จากนั้นเติม phosphoric acid เพื่อกำจัดยางเหนียว (gum) แล้วเติม sodium hydroxide เพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระบางชนิด แล้วล้างด้วยน้ำ น้ำมันพืชที่ผ่านการล้างจะมีน้ำเจือปน จึงต้องใช้เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) จากนั้นนำไปต้มกลั่นเพื่อไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 220-230 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะสุญญากาศเพื่อมิให้น้ำมันไหม้จนเกิดสีเหลืองคล้ำ หลังจากต้มกลั่นแล้ว นำไปฟอกสีโดยต้มกับถ่านที่อุณหภูมิ 175 - 225 องศาเซลเซียส เติมก๊าซไนโตรเจน เพื่อป้องกันการเหม็นหืนและเติมวิตามินอีสังเคราะห์ลงไปทดแทนวิตามินอีที่สูญเสียไปจากกระบวนการผลิต แล้วจึงนำมาบรรจุขวดออกจำหน่าย เบนโซ (เอ) ไพรีน [benzo (a) pyrene; BaP] เป็นสารประกอบในกลุ่ม PAHs และใช้เป็น marker ของการปนเปื้อนของสารกลุ่มนี้ในอาหาร มีรายงานว่าสารนี้เกิดพิษในสัตว์ทดลองหลายระบบ เช่น ในหนู หากได้รับสารนี้ในขณะตั้งท้อง ตัวอ่อนจะมีลักษณะผิดปกติ นอกจากนี้ยังมีพิษต่อระบบภูมิคุ้มกัน ไขสันหลัง มีพิษต่อยีนทางพันธุกรรม (genotoxic) และก่อมะเร็ง[2] การตรวจวิเคราะห์สารนี้ในน้ำมันบริโภคมีรายงานการศึกษาพัฒนาวิธีไว้หลายรูปแบบเทคนิคที่ใช้ส่วนใหญ่ใช้การสกัด (extract) แบบ liquid-liquid extraction ก่อน แล้วกำจัดสารรบกวนที่เหลืออีกโดยใช้ Solid Phase Extraction (SPE)[3-7] ซึ่ง packing ของ SPE มีหลายชนิด เช่น alumina-N, C8, C18, florisil, silica หรือใช้เทคนิค Gel Permeation Chromatography (GPC)[4] โดยผสมตัวอย่างน้ำมันบริโภคกับตัวทำละลายแล้วผ่านเข้า GPC column ซึ่งวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ BaP โดยเทคนิค GC-MS[6], GC-TOFMS[8] และ HPLC-fluorescence detector[3, 4, 7] ผู้วิจัยได้ศึกษาและเลือกเทคนิคที่เหมาะสมกับเครื่องมือและอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการเป็นหลักก่อน โดยสกัดตัวอย่างด้วย liquid-liquid extraction ร่วมกับ solid phase extraction (SPE) ซึ่งได้พัฒนาวิธีการสกัดและการเลือกใช้ SPE ให้เหมาะสมกับการวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณของ BaP ทำการทดสอบความถูกต้องของวิธี (Method validation) โดยศึกษาช่วงวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง ความจำเพาะเจาะจง ขีดจำกัดของการตรวจพบ ขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ ความเที่ยง ร้อยละของการคืนกลับและการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดของวิธีวิเคราะห์ ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใช้สำรวจปริมาณการปนเปื้อนของ BaP ในน้ำมันพืชผ่านกรรมวิธีที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีรายงานข้อมูลปริมาณการปนเปื้อนของสารดังกล่าว

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี : acetonitrile, hexane และ methanol (HPLC grade) ผลิตภัณฑ์ของ Burdick & Jackson Laboratories, Inc., sodium chloride (AR grade) ผลิตภัณฑ์ของ Merck, sodium sulfate anhydrous (AR grade) ผลิตภัณฑ์ของ Fisher chemical และน้ำปราศจากอิออน (deionized water, Type I) ผลิตจากเครื่องของ Millipore

สารมาตรฐาน : benzo (a) pyrene (BaP) ผลิตภัณฑ์ Dr.Ehrenstorfer ความบริสุทธิ์ 99.5%

การเตรียมสารละลายและสารละลายมาตรฐาน

สารละลายมาตรฐาน BaP 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร : ชั่งสารมาตรฐาน BaP 2.5 มิลลิกรัม ละลายใน methanol ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ใช้เป็น stock standard solution

สารละลาย acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วย hexane (เตรียมใหม่ทุกครั้ง) : เตรียมโดยเติม acetonitrile 250 มิลลิลิตรและ hexane 100 มิลลิลิตร ใส่ใน separatory funnel ขนาด 500 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ แล้วตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น สารละลาย acetonitrile (ชั้นล่าง) ใช้ในการสกัด

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่ง ความละเอียด 0.01 และ 1 มิลลิกรัม (Sartorius), ชุดเครื่องระเหยสุญญากาศ (Buchi), HPLC system (Agilent 1100 Series) ประกอบด้วย quaternary pump, autosampler, คอลัมน์ PAH C18 ขนาด 250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร บรรจุอนุภาคขนาด 5 ไมโครเมตร, column oven, เครื่องตรวจวัดชนิด fluorescence, erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร, glass syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร, hand pump ประกอบด้วย syringe ขนาด 20 มิลลิลิตร และ plunger, round-bottom flask ขนาด 50, 125 และ 250 มิลลิลิตร, screw cap vial ขนาด 2 มิลลิลิตร, seperatory funnel ขนาด 125 และ 500 มิลลิลิตร, sep-pak ชนิด C18 plus (Waters), syringe filter PTFE 0.20 ไมโครเมตร ขนาด 13 มิลลิเมตร

ตัวอย่าง

ในการทดสอบความถูกต้องของวิธีใช้น้ำมันมะกอกเป็น matrix blank ส่วนการสำรวจการปนเปื้อนของ BaP ในน้ำมัน ได้วิเคราะห์น้ำมันบริโภคที่ผลิตทั้งภายในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศจากปีงบประมาณ 2551 – 2556 รวม 126 ตัวอย่าง ได้แก่ น้ำมันข้าวโพด น้ำมันคาโนลา น้ำมันงา น้ำมันงาผสมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันปาล์มผสมน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะกอก น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันรำข้าว น้ำมันสลัดและน้ำมันอะโวคาโด

วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่าง 1.0 กรัม ใส่ใน separatory funnel ขนาด 125 มิลลิลิตร เติม hexane 15 มิลลิลิตร แกว่งเบา ๆ ให้รวมตัวกับตัวอย่าง สกัดด้วยสารละลาย acetonitrile ที่อิ่มตัวด้วย hexane จำนวน 2 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร เขย่าแรง ๆ 2 นาที แยกชั้น acetonitrile ใส่รวมใน separatory funnel ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ 100 มิลลิลิตร, สารละลาย sodium chloride ที่อิ่มตัว 10 มิลลิลิตรและสกัดด้วย hexane 25 มิลลิลิตร เขย่านาน 2 นาที ตั้งทิ้งให้แยกชั้น ไขชั้นล่าง (aqueous layer) ลงใน separatory funnel ขนาด 500 มิลลิลิตร ใบที่ 2 แล้วสกัดด้วย hexane จำนวน 2 ครั้ง ครั้งละ 25 มิลลิลิตร เขย่านาน 2 นาที ไขชั้นล่างทิ้ง รวมชั้น hexane ที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 ครั้ง เข้าด้วยกัน ล้างด้วยน้ำปราศจากอิออน 25 มิลลิลิตร 2 ครั้ง โดยการแกว่งเบา ๆ ไขชั้นน้ำทิ้ง (ชั้นล่าง) จากนั้นไขชั้น hexane ลงใน erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร กำจัดน้ำโดยเติม sodium sulfate anhydrous แล้วกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองใส่ใน round-bottom flask ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปประเหยจนแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วเติม acetonitrile 2 มิลลิลิตร เพื่อดำเนินการกำจัดสารรบกวนที่เหลือในสารสกัดตัวอย่างด้วย sep-pak C18 plus ต่อไป

เตรียม sep-pak C18 plus โดยต่อเข้ากับ syringe ขนาด 10 มิลลิลิตร ล้างด้วย acetonitrile 5 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผ่านสารที่สกัดได้จากตัวอย่างลงไป ใช้ flow rate ประมาณ 2 หยดต่อวินาที ใส่ใน round-bottom flask ขนาด 50 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้ sep-pak แห้ง แล้วเติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เป็นตัวชะ (eluent) เก็บสารละลาย

ส่วนที่ผ่านออกมา นำไประเหยจนแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เติม methanol 1 มิลลิลิตร กรองผ่าน syringe filter PTFE เก็บใน screw cap vial ขนาด 2 มิลลิลิตร สำหรับวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

สภาวะเครื่อง HPLC

Column	: PAH C18, 5 ไมโครเมตร ขนาด 250 มิลลิเมตร × 4.6 มิลลิเมตร
Mobile phase	: acetonitrile: deionized water (80:20)
Flow rate	: 1 มิลลิลิตรต่อนาที
Column oven	: 40 องศาเซลเซียส
Detector	: Fluorescence ที่ความยาวคลื่น Ex 264 นาโนเมตร, Em 410 นาโนเมตร
Injection volume	: 10 ไมโครลิตร

ตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (system suitability) โดยการฉีดสารละลายมาตรฐาน BaP ความเข้มข้น 4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร 3 ซ้ำ เกณฑ์ยอมรับค่าการตรวจสอบความเหมาะสมของระบบดังนี้

%RSD ของ retention time < 0.3

%RSD ของ peak area ≤ 2

tailing factor< 2

การทดสอบความถูกต้องของวิธี

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง (Specificity)

โดยการวิเคราะห์ method blank และ matrix blank

method blank : สกัดสารเคมีที่ใช้ทั้งหมดตามวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนา

matrix blank : สกัดตัวอย่างน้ำมันมะกอกตามวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนา (3 ซ้ำ)

ฉีด method blank, matrix blank และสารละลายมาตรฐาน BaP ความเข้มข้น 4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร เข้าระบบ HPLC เพื่อตรวจสอบการแยกของสาร BaP จากสารรบกวนอื่นในตัวอย่าง ซึ่งต้องมีค่า retention time แยกจากกันชัดเจน

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (Linearityand working range)

ฉีดสารละลายมาตรฐาน BaP ความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร สร้างกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน (Pearson correlation coefficient : r) ซึ่งควรมีค่าใกล้เคียง 1

ทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธี โดยเติมสารละลายมาตรฐาน BaP ในน้ำมันมะกอกที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม วิเคราะห์ระดับละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นที่เติมกับความเข้มข้นที่ตรวจพบ ซึ่งควรมีค่าใกล้เคียง 1

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐาน BaP ในน้ำมันมะกอกที่ระดับต่ำๆ วิเคราะห์ 3 ซ้ำ ค่า LOD เท่ากับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานที่ให้พีคที่มีความสูงเท่ากับ 3 เท่า signal to noise ratio คำนวณความเข้มข้นในตัวอย่างเป็นไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ทดสอบโดยการเติมสารละลายมาตรฐาน BaP ในน้ำมันมะกอกประมาณ 2 เท่าของค่า LOD วิเคราะห์ 10 ซ้ำ คำนวณปริมาณ BaP ในตัวอย่าง แล้วคำนวณ %recovery ซึ่งต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 60-120 และ %RSD ซึ่งต้องไม่เกิน 2 Predicted RSD_r ตาม Horwitz's equation

การทดสอบร้อยละของการคืนกลับและความเที่ยง (Percent recovery and precision)

ทดสอบร้อยละการคืนกลับและความเที่ยงของการวิเคราะห์ในช่วงการวิเคราะห์ที่เป็นเส้นตรง โดยเติมสารมาตรฐาน BaP ในน้ำมันมะกอกที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม วิเคราะห์ระดับละ 10 ซ้ำ แล้ว คำนวณ %recovery และ %RSD โดยมีเกณฑ์การยอมรับ[9] ดังนี้

%recovery ช่วงที่ยอมรับได้คือร้อยละ 60 – 120

$\%RSD_r \leq$ 2 Predicted RSD_r ตาม Horwitz's equation

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement uncertainty)[10]

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดโดยใช้องค์ประกอบของความไม่แน่นอนที่เกี่ยวข้อง นำมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้ coverage factor เท่ากับ 2

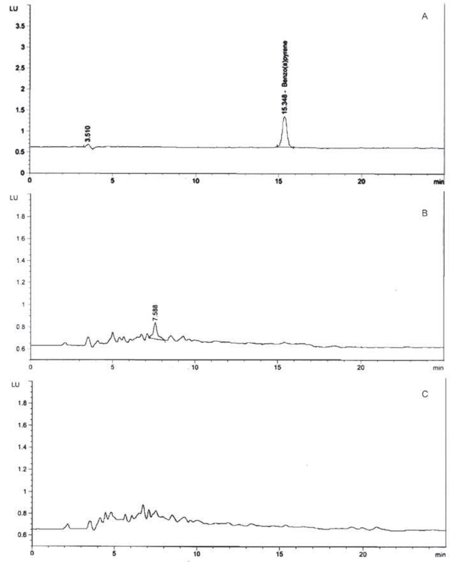
ผล

การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ

จากการฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 4 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร 3 ซ้ำ ได้ค่า %RSD ของ retention time และ peak area เท่ากับ 0.917 และ 1.254 ตามลำดับ และค่า tailing factor เท่ากับ 1.086

การทดสอบความจำเพาะเจาะจง

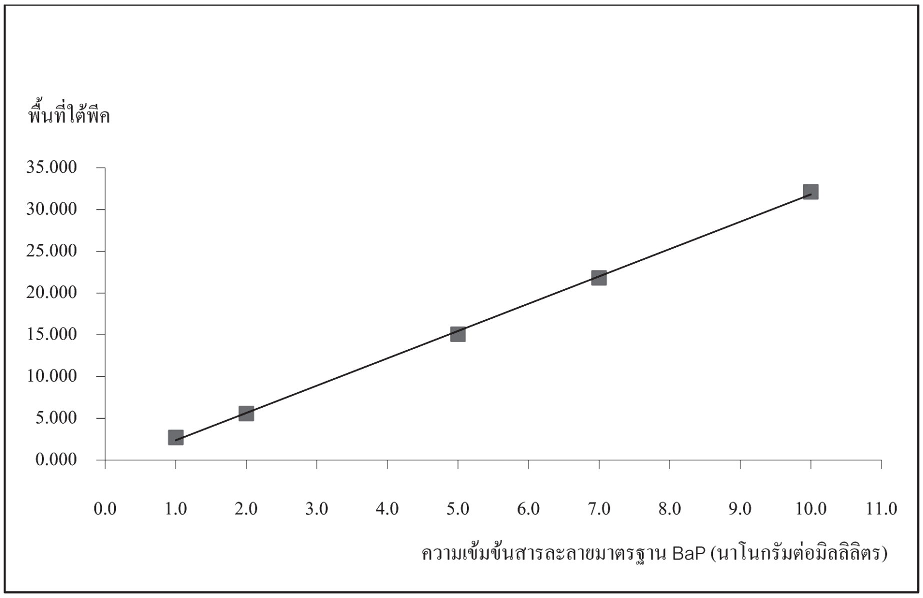
จากการฉีดสารละลายมาตรฐาน, method blank และ matrix blank พบว่าไม่มี peak รบกวนจากสารอื่นในตัวอย่าง โดยสาร BaP ให้ค่า retention time เท่ากับ 15.3 นาที (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐาน BaP (A), method blank (B) และ matrix blank (C)

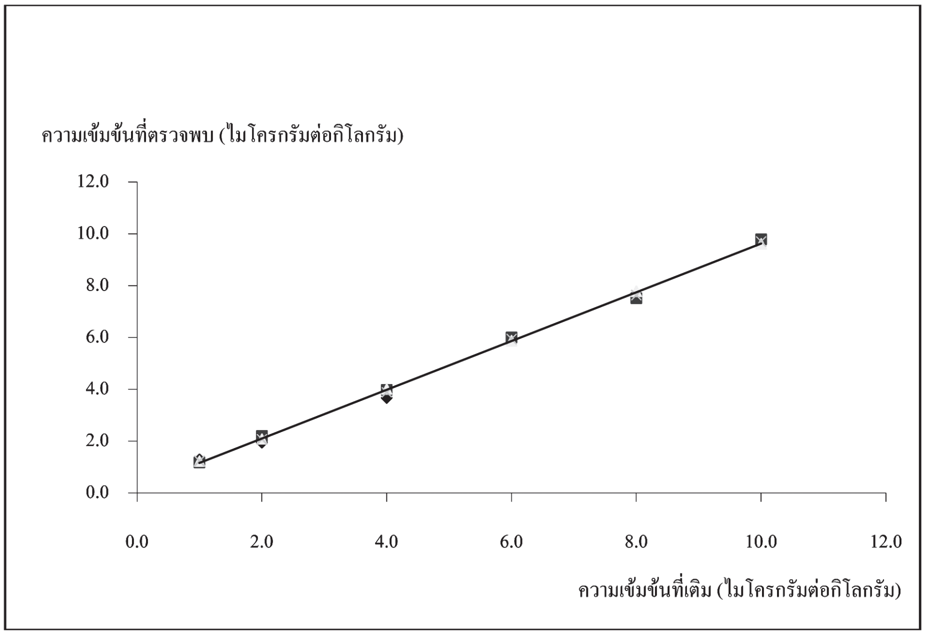
การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์

จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน BaP กับพื้นที่ใต้พีค พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงเส้นตลอดช่วงความเข้มข้น 1-10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร โดยมีค่า r เท่ากับ 0.9997 (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีคของสารละลายมาตรฐาน benzo (a) pyrene

จากการวิเคราะห์ปริมาณ BaP ในตัวอย่างน้ำมันมะกอกที่ระดับความเข้มข้น 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมระดับละ 3 ซ้ำ และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ BaP ที่เติมในตัวอย่างกับความเข้มข้นที่ตรวจพบมีความสัมพันธ์เชิงเส้น โดยมีค่า r เท่ากับ 0.9996 (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นที่เติมกับความเข้มข้นที่ตรวจพบของ BaP ในน้ำมันมะกอก

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบและขีดจำกัดของการหาเชิงปริมาณ

ผลการทดสอบได้ค่า LOD ที่ระดับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า signal-to-noise จากการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง เท่ากับ 22.1, 27.6 และ 27.4 ตามลำดับ ส่วนค่า LOQ เท่ากับ 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดย %recovery เฉลี่ย จากการเติมสารละลายมาตรฐาน BaP ในตัวอย่างน้ำมันมะกอก ซึ่งวิเคราะห์ 10 ซ้ำเท่ากับ 81.2% และ %RSD เท่ากับ 3.7%

การทดสอบร้อยละของการคืนกลับและความเที่ยง

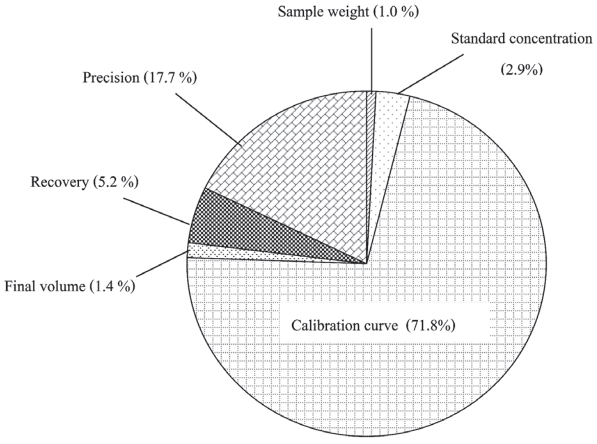
การทดสอบร้อยละการคืนกลับและความเที่ยงด้วยการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างน้ำมันมะกอกที่ความเข้มข้น 4 ระดับ ระดับละ 10 ซ้ำ พบว่า %recovery อยู่ในช่วง 80.5–85.9% และค่า %RSD_r เท่ากับ 3.7, 7.4, 3.2 และ 3.2% ตามลำดับ ซึ่งไม่เกินค่า Predicted RSD_r จาก Modified Horwitz's equation[9] (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบร้อยละการคืนกลับและความเที่ยงเมื่อเติมสารมาตรฐาน BaP ที่ระดับต่าง ๆ ในน้ำมันบริโภค (n = 10)

Spiked level (ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)	%Recovery (mean ± SD)	%RSD_r	%Predicted RSD_r
1.0	81.2 ± 3.0	3.7	29.6
2.0	85.9 ± 6.4	7.4	26.7
5.0	83.3 ± 2.7	3.2	23.4
10.0	80.5 ± 2.6	3.2	21.1

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

องค์ประกอบความไม่แน่นอนได้แก่ การชั่งน้ำหนักของตัวอย่างและสารมาตรฐาน ใบรับรองผลการสอบเทียบเครื่องชั่ง ใบรับรองความบริสุทธิ์ของสารมาตรฐานและเครื่องแก้ววัดปริมาตรที่ใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ความไม่แน่นอนจากการทำซ้ำ (precision) การทดสอบร้อยละของการคืนกลับ (recovery) และความไม่แน่นอนของสาร BaP ในสารละลายตัวอย่างที่อ่านได้จาก calibration curve โดยประมาณค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับ LOQ (ความเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม) ได้ค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์ (Relative expanded uncertainty) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่า coverage factor (k) เท่ากับ 2 ได้ค่าเท่ากับ 31.2% (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 สัดส่วนขององค์ประกอบแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ BaP ในน้ำมันบริโภค

การสำรวจปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภค

จากการสำรวจปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภคที่จำหน่ายในประเทศ ในปี พ.ศ. 2551 – 2556 จำนวน 126 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่ผลิตในประเทศ 69 ตัวอย่าง และนำเข้าจากต่างประเทศ 57 ตัวอย่าง โดยนำเข้าจากประเทศกรีซ อิตาลี ญี่ปุ่น ตุรกี มาเลเซีย สิงคโปร์ สเปน และสหราชอาณาจักร พบว่า น้ำมันคาโนลา น้ำมันดอกคำฝอย น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันสลัด และน้ำมันอะโวคาโด รวม 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 11.9) ตรวจไม่พบการปนเปื้อนของ BaP ทุกตัวอย่าง ส่วนน้ำมันข้าวโพด น้ำมันงา น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันมะกอก น้ำมันมะพร้าว น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันรำข้าวและน้ำมันที่ไม่ระบุหรือไม่ทราบชนิด ตรวจพบการปนเปื้อนจำนวน 34 ตัวอย่าง (ร้อยละ 27.0) ปริมาณที่ตรวจพบ น้อยกว่า 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ถึง 21.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ในจำนวนนี้พบว่า น้ำมันเมล็ดชา น้ำมันรำข้าว น้ำมันมะพร้าว และน้ำมันที่ไม่ระบุหรือไม่ทราบชนิด 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 7.1) ตรวจพบปริมาณ BaP สูงกว่ามาตรฐานกำหนดที่สหภาพยุโรปยอมให้มีได้ (Maximum Limit, ML) ในน้ำมันและไขมันบริโภค คือ 2 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการสำรวจการปนเปื้อนของ BaP ในน้ำมันบริโภค (พ.ศ. 2551 – 2556)

ชนิดน้ำมันบริโภค	จำนวนตัวอย่าง		ปริมาณที่พบ
	วิเคราะห์	พบ	(ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม)
ข้าวโพด	3	1	1.3
คาโนลา	2	0	-
งา	11	5	น้อยกว่า 1.0 - 1.1
ดอกคำฝอยและทานตะวัน	9	0	-
ถั่วเหลือง	4	2	น้อยกว่า 1.0 -1.0
ปาล์ม	18	5	น้อยกว่า 1.0
มะกอก	31	3	น้อยกว่า 1.0 - 1.6
มะพร้าว	6	3	น้อยกว่า 1.0 - 11.0
เมล็ดชา	5	5	น้อยกว่า 1.0 -21.6
รำข้าว	17	7	น้อยกว่า 1.0 - 3.1
สลัด	3	0	-
อะโวคาโด	1	0	-
ไม่ระบุ/ทราบชนิด	16	3	2.0 -2.7
รวม	126	34	น้อยกว่า 1.0 - 21.6

วิจารณ์

สารในกลุ่ม PAHs เป็นสารที่มีโครงสร้างวงเบนซีนหลายวงต่อกันเป็น planar molecules เกิดจากการเผาไหม้ของสารประกอบคาร์บอนหรือกระบวนการทางอุตสาหกรรม ซึ่งมีมากกว่า 100 ชนิดนั้น องค์การสิ่งแวดล้อมของสหรัฐอเมริกา (Environmental Protection Agency, EPA) จัดลำดับเป้าหมายตรวจวัดในตัวอย่างสิ่งแวดล้อมไว้ 16 ชนิด ได้แก่ Naphthalene, Acenapthylene, Acenapthene, Fluorene, Phenanthrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benzo(a) anthracene, Chrysene, Benzo(b) fluoranthene, Benzo(k) fluoranthene, Benzo(a) pyrene, Dibenz(a, h) anthracene, Benzo(g, h, i) perylene และ Ideno

(1, 2, 3, c-d) pyrene ซึ่งสารเหล่านี้จัดเป็นสารก่อมะเร็งโดย BaP ได้รับความสนใจมากที่สุด The International Agency of Research on Cancer (IARC) ได้สรุปว่าจากหลักฐานผลการวิจัยการก่อมะเร็งของ BaP ในสัตว์หลากหลายสายพันธุ์และหลักฐานอื่น ๆ ในมนุษย์ จึงจัด BaP เป็นสารก่อมะเร็งต่อมนุษย์ (Human carcinogen, Group 1)[11] การสำรวจปริมาณปนเปื้อนของสารก่อมะเร็งนี้ในอาหารจึงมีความสำคัญ ผู้วิจัยได้รายงานการพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์และผลการสำรวจปริมาณการปนเปื้อน BaP ในอาหารปิ้งย่าง[1] ได้แก่ ไก่ย่าง ปลาดุกย่าง และหมูปิ้ง ซึ่งจากข้อมูลที่ได้พบว่าปริมาณ BaP ปนเปื้อนต่ำกว่าค่ากำหนดปริมาณสูงสุดของ Commission Regulation (EU) No. 208/2005[12] เพื่อให้ครอบคลุมชนิดอาหารมากขึ้น ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาวิธีวิเคราะห์ในน้ำมันบริโภค ซึ่งเป็นประเภทอาหารที่มีความเสี่ยงเช่นกัน วิธีวิเคราะห์ปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภคที่พัฒนาขึ้น ได้เลือกใช้หลักการของ liquid-liquid partition ร่วมกับการใช้ SPE ชนิด C18 ซึ่งมีความเหมาะสม สำหรับแยก PAHs ที่ประกอบด้วยวงเบนซีน 4-6 วง โดยที่ BaP ประกอบด้วยวงเบนซีน 5 วง เรียงต่อกัน มีความเป็นขั้วต่ำ (low polarities) เลือกใช้ acetonitrile เป็นตัวชะ BaP ออกมา ผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภคได้ค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 0.5, 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับ LOQ เท่ากับ 0.31 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่ง Commission Regulation (EU) No. 835/2011[13] กำหนดปริมาณสูงสุดของ BaP ในน้ำมัน และไขมัน (ที่มีวัตถุประสงค์สำหรับการบริโภคของมนุษย์โดยตรงหรือใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร) ไว้ที่ 2.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้น วิธีวิเคราะห์นี้มีความเหมาะสมที่สามารถรองรับการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับนี้ได้ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการขยายขอบข่ายการวิเคราะห์สารในกลุ่มนี้ ซึ่ง Commission Regulation (EU) No. 835/2011[13] ได้เพิ่มการกำหนดปริมาณสูงสุดเป็นผลรวมของ Benzo(a) pyrene, Benzo(a) anthracene, Benzo(b) fluoranthene และ Chrysene เท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม นอกเหนือจากที่ได้กำหนดค่าปริมาณสูงสุดของ Benzo(a) pyrene ไว้แล้ว

จากการนำวิธีที่พัฒนานี้มาวิเคราะห์ปริมาณ BaP ในน้ำมันบริโภคที่จำหน่ายในประเทศ รวม 126 ตัวอย่าง โดยการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ได้ใช้ reference material RM T0631 ของ FAPAS มีค่า assigned value ของ BaP เท่ากับ 0.79 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่า satisfactory range เท่ากับ 0.44 – 1.14 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีที่พัฒนานี้ตรวจพบ BaP 0.56 – 0.69 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (n = 6) ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ยอมรับและในการวิเคราะห์ทุก batch โดยกำหนดไว้ไม่เกิน 10 ตัวอย่างจะทำการควบคุมภายในโดยการเติมสารมาตรฐาน BaP ที่ระดับ 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงในตัวอย่างน้ำมัน 1 ครั้ง พบค่าเฉลี่ย %recovery เท่ากับ 86.4 และ RSD (intermediate precision) เท่ากับ 10.3% (n=24) นอกจากนี้ได้เข้าร่วมในการทดสอบความชำนาญ FAPAS 0640 (April – June 2009) ตัวอย่างเป็นน้ำมันมะกอก assigned value เท่ากับ 1.78 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้เท่ากับ 1.52 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งมีค่า z-score เท่ากับ -0.7 อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ซึ่งตัวอย่างทดสอบความชำนาญนี้ นอกจากเติม BaP แล้วยังมีการเติมสารอีก 4 ชนิดในกลุ่มนี้ ได้แก่ Benzo(a) anthracene, Benzo(b) fluoranthene, Ideno(1,2,3,c-d) pyrene, Benzo(g, h, i) perylene ด้วยวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนานี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการวิเคราะห์สารชนิดอื่น ๆ ในกลุ่มนี้ที่ไม่รบกวน BaP ได้อีกด้วย

ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำมันบริโภคบรรจุขวดที่จำหน่ายในท้องตลาดที่มีชื่อการค้าทั้งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ ส่วนใหญ่ไม่พบหรือพบการปนเปื้อนต่ำกว่า 2.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ยกเว้น น้ำมันรำข้าว 2 ตัวอย่าง พบ 2.3 – 3.1 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม น้ำมันที่ไม่ระบุชนิด 2 ตัวอย่าง พบ 2.6 - 2.7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนตัวอย่างที่การปนเปื้อนปริมาณสูงกว่าค่ากำหนดมาก ๆ คือ น้ำมันมะพร้าว 2 ตัวอย่าง พบ 10.3-11.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม น้ำมันเมล็ดชา 3 ตัวอย่าง พบ 3.6, 8.7 และ 21.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 2)

ในกลุ่มสหภาพยุโรปข้อมูลจาก Rapid Alert System for Food and Feed[14] ในช่วงปี 2008 – 2013 ประเทศลิทัวเนียมีการส่งคืนน้ำมันมะพร้าวที่นำเข้าจากอินเดียโดยตรวจพบ BaP 5.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ที่ประเทศฟินแลนด์ส่งคืนน้ำมันงา ที่นำเข้ามาจากฮ่องกง ซึ่งตรวจพบ BaP 5.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนที่กรีซตรวจพบในน้ำมันดอกทานตะวัน 2.7 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมที่นำเข้ามาจากประเทศอียิปต์ นอกจากนี้ยังมีการเตือนให้เฝ้าระวังจากเบลเยียมที่ตรวจพบ 4.6 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมใน rapeseed oil นำเข้ามาจากประเทศเนเธอร์แลนด์ และที่ประเทศสโลวาเกียตรวจพบ BaP 17.99 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในน้ำมันมะกอกที่นำเข้ามาจากอิตาลี เป็นต้น ข้อมูลเหล่านี้ทำให้หน่วยราชการต้องมีการเฝ้าระวังเพื่อคุ้มครองผู้บริโภค ซึ่งข้อมูลการตรวจพบในน้ำมันที่จำหน่ายในประเทศยังคงยืนยันได้ว่าน้ำมันบริโภคที่จำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่มีความปลอดภัยเพียงพอในการบริโภค ส่วนผู้บริโภคควรเลือกชนิดของน้ำมันให้เหมาะสมกับการปรุงอาหารแต่ละประเภท เพื่อให้ได้คุณค่าและความปลอดภัยต่อสุขภาพด้วยเช่นกัน

สรุป

ผลจากการศึกษาพัฒนาวิธีวิเคราะห์สรุปได้ว่ามีความถูกต้องและเหมาะสมที่จะใช้ในการตรวจหาชนิดและปริมาณของสาร BaP ในน้ำมันบริโภคได้โดยมีค่า Limit of quantitation เท่ากับ 1.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวแสนดี ว่องวุฒิ และนางสาวอัจฉรี อินแก้ว นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ได้ช่วยวิเคราะห์ตัวอย่างในการสำรวจปริมาณการปนเปื้อนของ benzo(a) pyrene ในน้ำมันบริโภคครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. จิตผกา สันทัดรบ, ทองสุข ปายะนันทน์ และกนกพร อธิสุข. การพัฒนาวิธีตรวจวิเคราะห์ Benzo(a) pyrene ในเนื้อสัตว์ปิ้งย่าง. ว กรมวิทย พ 2552; 51(3-4): 177-86.
2. U.S. Department of Health and Human Services. Toxicological profile for polycyclic aromatic hydrocarbons. Atlanta, Georgia: U.S. Government Printing Office; 1995.
3. Barranco A, Alonso-Salces RM, Bakkali A, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F, et al. Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. J Chromatogr A 2003; 988: 33-40.
4. Martinez-Lopez S, Morales-Noe A, Pastor-Garcia A, Morales-Rubio A, de la Guardia M. Sample preparation improvement in polycyclic aromatic hydrocarbons determination in olive oils by gel permeation chromatography and liquid chromatography with fluorescence detector. J AOAC Int 2005; 88(4): 1247-54.
5. Wu S, Yu W. Liquid-liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in four different edible oils from China. Food Chem 2012; 134: 597-601.
6. Hossain MA, Salehuddin SM. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in edible oil by gas chromatography coupled with mass spectroscopy. Arabian J Chem 2012; 5: 391-96.
7. Payanan T, Leepipatpiboon N, Varanusupakul P. Low-temperature cleanup with solid-phase extraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils by reversed phase liquid chromatography with fluorescence detection. Food Chem 2013; 141: 2720-6.

8. Drabova L, Tomaniova M, Kalachova K, Kocourek V, Hajslova J, Pulkrabova J. Application of solid phase and two-dimensional gas chromatography coupled with time-of-flight mass spectrometry for fast analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. Food Control 2013; 33: 489-497.
9. Thompson M, Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. Analyst 2000; 125: 385-6.
10. Ellison SLR, Williams A, editors. EURACHEM/CITAC Guide: quantifying uncertainty in analytical measurement. 3rd ed. United Kingdom: EURACHEM; 2012.
11. Benzo(a)pyrene. In: A review of human carcinogens Part F: chemical agents and related occupation. (IARC Monographs Evaluation Carcinogenic Risks Hunans; 100F). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2012. p. 111-144.
12. Commission regulation (EC) No. 208/2005 of 4 February 2005 amending regulation (EC) No 466/2001 as regards polycyclic aromatic hydrocarbons. Official Journal of European Union 2005: L 34/3-4.
13. Commission regulation (EC) No. 835/2011 of 19 August 2011. Amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official Journal of European Union 2011: L 215/7.
14. Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) [online]. [cited 2014 Jan 16]; [2 screens]. Available from: URL: https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/?event=SearchForm&cleanSearch=1.

Development of Analytical Method for Benzo (a) Pyrene in Edible Oil

Jitpaka Suntudrob and Kanokporn Atisook

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

ABSTRACT Benzo(a) pyrene (BaP) is a marker of Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) since WHO specifies as carcinogenic to human. Method of analysis for BaP content in edible oil was studied and developed. Liquid-liquid extraction and solid-phase extraction were used to purify sample and HPLC fluorescence detector was used to quantitive analysis of BaP. The result of method validation showed that the developed method is fit-for purpose. Specificity of chromatographic system was shown by retention time of BaP peak at 15.3 min without interference. There are linearity of calibration standards from 1 to 10 ng/ml and linearity of working range from 1 to 10 μg/kg were shown by Pearson's correlation coefficient (r) of 0.9997 and 0.9996, respectively. Limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 0.5 and 1.0 μg/kg, respectively. The recovery of method was studied by spiking standard in olive oil matrix cover the working range, mean recovery was in the range of 81%-86%. Precision was shown by %RSD of repeatability was 3.2-7.4 and within-laboratory reproducibility was 86. The measurement uncertainty of the method showed by % relative standard uncertainty and relative expanded uncertainty were 15.6% and 31.2%, respectively. From 2008-2013, 126 samples of edible oil sold in Thailand were analyzed by the developed method, 34 samples (27.0%) were contaminated by BaP. The level found was ranged from less than 1.0 to 21.6 μg/kg. The results showed that 9 samples (7.1%) of tea seed oil, rice bran oil, raw coconut oil and unlabeled or unspecified oil were contaminated higher than European Commission is Maximum Limit at 2 μg/kg.

Key words: Benzo(a)pyrene, Edible oil, Polycyclic aromatic hydrocarbons

นิพนธ์ต้นฉบับ ว กรมวิทย พ 2558 ฉบับพิเศษ 3 : 275-286

การพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ ตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2551 - 2557

กรรณิกา จิตติยศรา พิชยา ดีศรี และสาคร สิงศาลาแสง
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ สำนักคุณภาพความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ให้บริการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์โลหะตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำ เพื่อประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการที่สมัครเข้าร่วมการทดสอบ ระหว่างปี พ.ศ. 2551-2557 รวมทั้งสิ้น 7 ครั้ง โดยส่งตัวอย่างที่มีความเป็นเนื้อเดียวกันให้ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์และส่งผลกลับภายในระยะเวลาที่กำหนด นำผลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ค่า z-score ในแต่ละปีมีห้องปฏิบัติการสมาชิกมากกว่า 30 แห่ง โดยมีห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์ตะกั่ว และวิเคราะห์แคดเมียมต่อเนื่อง ครบทุกรอบ จำนวน 12 และ 8 แห่ง ตามลำดับ ผลการประเมินพบว่า ห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์ตะกั่ว 6 แห่ง และ ห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์แคดเมียม 5 แห่ง มีผลการตรวจวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจครบทุกรอบ คิดเป็นร้อยละ 50.0 และ 62.5 ตามลำดับ ในการวิเคราะห์แนวโน้มของคุณภาพของแต่ละห้องปฏิบัติการ จากผลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญอย่างต่อเนื่องที่การประเมินความสามารถใช้ค่า Standard Deviation for PT (SD_{PT}) จากค่า SD (s) ห้องปฏิบัติการสามารถประเมินความสามารถของตนเองอย่างต่อเนื่องได้ โดยหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์รวม (% rsd_{pooled}) ของรอบที่ผ่านมา มาใช้คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานรวม (s_{pooled}) จะได้ค่า z-score ของแต่ละรอบใหม่ ในรายการตะกั่วทำให้พบว่าห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง หลังจากคำนวณค่า z-score ใหม่แล้ว ผลทางห้องปฏิบัติการนั้นมีค่าต่ำกว่า assigned value ทุกครั้ง ซึ่งห้องปฏิบัติการควรค้นหาสาเหตุ และแก้ไข ถึงแม้ว่าค่า z-score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจทุกรอบก็ตาม ห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์แคดเมียม ทุกแห่งมีมาตรฐาน และรักษาคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ให้อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจไว้ได้อย่างสม่ำเสมอ การนำผลการทดสอบความชำนาญฯ หลายครั้งอย่างต่อเนื่องมาวิเคราะห์จะบ่งชี้ได้ว่าห้องปฏิบัติการมีแนวโน้ม การตรวจวิเคราะห์ไปในทิศทางใด เพื่อที่จะได้แก้ไข ปรับปรุง และพัฒนาห้องปฏิบัติการวิเคราะห์โลหะในน้ำของประเทศให้มีคุณภาพและมาตรฐานเท่าเทียมกัน

Accepted for publication, 25 September 2015

บทนำ

น้ำเป็นปัจจัยพื้นฐานในการดำรงชีวิต ซึ่งไม่เพียงแต่จะใช้เพื่อการอุปโภคบริโภคแล้ว น้ำยังกลายเป็นปัจจัยสำคัญในอันที่จะช่วยให้เศรษฐกิจของประเทศดำเนินต่อไปทั้งในส่วนของภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรม ด้านการอุปโภคบริโภค มนุษย์ต้องการน้ำสะอาดเพื่อดื่มกิน ใช้ในการประกอบอาหาร และใช้เพื่อประโยชน์อื่น ๆ ในการดำรงชีวิตประจำวัน ด้านอุตสาหกรรม น้ำเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการผลิตของโรงงานอุตสาหกรรม น้ำถูกใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร แต่ในปัจจุบันจากการขยายตัวของสังคมเมืองไปสู่สังคมอุตสาหกรรมในเขตพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วประเทศ ทำให้แหล่งน้ำตามธรรมชาติที่เคยอยู่ในสภาพที่ดีได้รับความเสียหายก่อให้เกิดปัญหาความเสื่อมโทรมของแหล่งน้ำ ซึ่งทำให้มีการปนเปื้อนจากสารพิษหรือจุลินทรีย์ดังนั้นจึงต้องผ่านกระบวนการกำจัดสารพิษและปรับสภาพน้ำให้เหมาะสมกับการบริโภค หรือใช้ในกิจกรรมอื่น ๆ โดยเฉพาะการปนเปื้อนตะกั่ว และแคดเมียม ซึ่งเป็นโลหะหนักแม้ปริมาณน้อย แต่มีพิษร้ายแรงโดยเฉพาะกับเด็ก(1) เพราะการปนเปื้อนของโลหะเหล่านี้ นอกจากจะปนเปื้อนในน้ำแล้ว ยังสามารถปนเปื้อนได้จากอาหาร หรือสิ่งแวดล้อม มีกำหนดในมาตรฐานน้ำบริโภคฯ(2) และน้ำแร่ธรรมชาติ(3) ในปริมาณที่ต่ำมาก ดังนั้นผลการตรวจวิเคราะห์ตะกั่ว และแคดเมียม จากห้องปฏิบัติการจะต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ และเชื่อถือได้ ห้องปฏิบัติการจึงต้องใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีการยืนยันถึงความเหมาะสม เครื่องมือที่ใช้ต้องได้รับการสอบเทียบ และมีการควบคุมคุณภาพภายในด้วย

การทดสอบความชำนาญ (proficiency testing, PT)(4) เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ โดยการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่เข้าร่วม เป็นกระบวนการประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งมีในข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025(5) นอกจากนี้ ข้อกำหนดในการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการยังระบุให้มีการประกันคุณภาพโดยการเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญในรายการที่ห้องปฏิบัติการนั้นขอการรับรองด้วย(6)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร มีภารกิจในการคุ้มครองผู้บริโภค และพัฒนาศักยภาพห้องปฏิบัติการให้มีมาตรฐานเท่าเทียมกัน จึงได้เริ่มดำเนินแผนทดสอบความชำนาญ (PT Provider) การตรวจวิเคราะห์น้ำทางเคมี เมื่อปี พ.ศ. 2549 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมได้แก่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 13 แห่ง ปี พ.ศ. 2551 ได้ขยายขอบข่ายรายการวิเคราะห์โลหะในน้ำมีหน่วยงานภาครัฐ หรือภายใต้การกำกับดูแลของรัฐ และภาคเอกชนเข้าร่วม เพื่อเป็นทางเลือกให้ห้องปฏิบัติการใช้ตัวอย่างทดสอบความชำนาญที่มีราคาไม่แพง มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในระดับเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข นับถึงปี พ.ศ. 2557 รวม 7 ครั้ง ปัจจุบันยังคงดำเนินการอย่างต่อเนื่อง

ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำ ระหว่างปี พ.ศ. 2551-2557 มาวิเคราะห์ จะทำให้ทราบสถานการณ์ศักยภาพของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์โลหะตะกั่ว แคดเมียม ในน้ำ และการนำข้อมูลของแต่ละห้องปฏิบัติการที่ได้เข้าร่วมการทดสอบอย่างต่อเนื่องมาวิเคราะห์ทางสถิติ มีวัตถุประสงค์เพื่อชี้บ่งปัญหาที่อาจจะพบ หรือแสดงแนวโน้มได้ เพื่อจะได้ให้คำแนะนำแก่ห้องปฏิบัติการได้อย่างมีประสิทธิภาพและประสิทธิผล ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์น้ำในประเทศ สามารถปรับปรุงและพัฒนาให้มีคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์ได้

วัสดุและวิธีการ

ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบความชำนาญ

หน่วยงานของรัฐหรือภายใต้การกำกับดูแลของรัฐ และห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ของบริษัทเอกชน

ตัวอย่างสำหรับการทดสอบ

เตรียมตัวอย่างน้ำโดยการเติมสารมาตรฐานตะกั่ว และแคดเมียม ลงในน้ำกลั่น ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้มีค่าน้อยกว่า 2 ด้วย conc. HNO_3 ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุใส่ขวดพลาสติกชนิด high density polyethylene (HDPE) ขนาด 500 มิลลิลิตร ติดฉลากซึ่งระบุรหัสขวด ชื่อตัวอย่าง รายการวิเคราะห์ รอบของการทดสอบ เดือนที่เตรียมและผู้ดำเนินโครงการ

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

สุ่มตัวอย่างน้ำที่เตรียมพร้อมส่งให้สมาชิกมา 10 ขวด แต่ละขวดวิเคราะห์ 2 ซ้ำแบบสุ่ม โดยใช้วิธี Standard method for the examination of water and wastewater, 22nd Edition. ได้แก่ วิธี 3113 B (ตะกั่ว) 3111 B (แคดเมียม) และนำค่าที่ได้มาประเมินทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA[7]

การส่งตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการ

ส่งตัวอย่างน้ำให้ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งที่เข้าร่วมการทดสอบทางไปรษณีย์ด่วนพิเศษ (EMS) โดยบรรจุขวดตัวอย่างที่ปิดสนิทและผ่านการทดสอบการรั่วซึมลงในกล่องกระดาษ มีวัสดุกันกระแทกพร้อมทั้งแนบเอกสารที่เกี่ยวข้องได้แก่ แบบตอบรับตัวอย่าง ข้อแนะนำก่อนการวิเคราะห์ และแบบรายงานผลการวิเคราะห์ซึ่งระบุเลขรหัสประจำห้องปฏิบัติการ โดยห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งจะได้รับตัวอย่าง 1 ขวด

การวิเคราะห์ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการ

ผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการจะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติที่เหมาะสม เพื่อกำหนดค่า assigned values และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานซึ่งเป็นค่าที่ใช้ประเมินความสามารถของสมาชิก[8] ผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้ระบุเป็นตัวเลขที่แน่นอนจะไม่ถูกประเมินผล

การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการแต่ละรอบ (Individual z-score)

$$\text{z-score} = \frac{(\text{Lab result} - X^*)}{s}$$

Lab result = ผลวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ

X^* = assigned value เป็นค่า robust average คำนวณจาก algorithm A

s = robust standard deviation for proficiency assessment

$|z| \leq 2$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์น่าพอใจ

$2 < |z| < 3$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์น่าสงสัย

$|z| \geq 3$ แสดงว่าผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ไม่น่าพอใจ

การประเมินความสามารถแต่ละห้องปฏิบัติการในระยะยาว (Long-term evaluation)

การเปรียบเทียบความสามารถของห้องปฏิบัติการในแต่ละปีที่ผ่านๆ มา โดยนำร้อยละค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%rsd) ในการทดสอบแต่ละรายการทดสอบแต่ละรอบ มาคำนวณหาค่าร้อยละส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์รวม ($\%rsd_{pooled}$) และนำค่า $\%rsd_{pooled}$ ที่ได้มาใช้คำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (s) ในแต่ละรอบการวิเคราะห์ จะได้ค่า z-score ใหม่ แล้วบันทึก z-score ของรอบต่างๆ

$$\text{z-score} = \frac{(\text{Lab result} - X^*)}{s_{pooled}}$$

$$s_{pooled} = \frac{\text{rsd}_{pooled} \times X^*}{100}$$

s_{pooled} = robust standard deviation for proficiency assessment ซึ่งใช้ในการประเมินระยะยาวคำนวณจาก

$\text{rsd}_{pooled^{(9)}} = ((n_1-1)\ \%\text{rsd}_1^2 + (n_2-1)\%\ \text{rsd}_2^2 + ...(n_7-1)\ \%\text{rsd}_7^2/(n_1-1) + (n_2-1)\ .....(n_7-1))^{1/2}$

$\text{rsd}_1 .... \text{rsd}_7$ = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ปี 2551 – ปี 2557

การแสดงการกระจายของข้อมูลที่มีค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกัน

% CV หรือ %robust CV = $(s/x^*) \times 100$

ผล

การทดสอบความชำนาญฯ ระหว่างปี พ.ศ. 2551-2557 (ดำเนินการปีละ 1 รอบ) จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำแต่ละรอบ (ตารางที่ 1) ห้องปฏิบัติการหลายแห่งไม่ได้เข้าร่วมทดสอบทุกรอบ บางห้องปฏิบัติการเข้าร่วมการทดสอบครั้งเดียวหรือสองครั้ง ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมการทดสอบตะกั่วและแคดเมียมในน้ำครบ 7 รอบ มีจำนวน 12 แห่ง และ 8 แห่ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

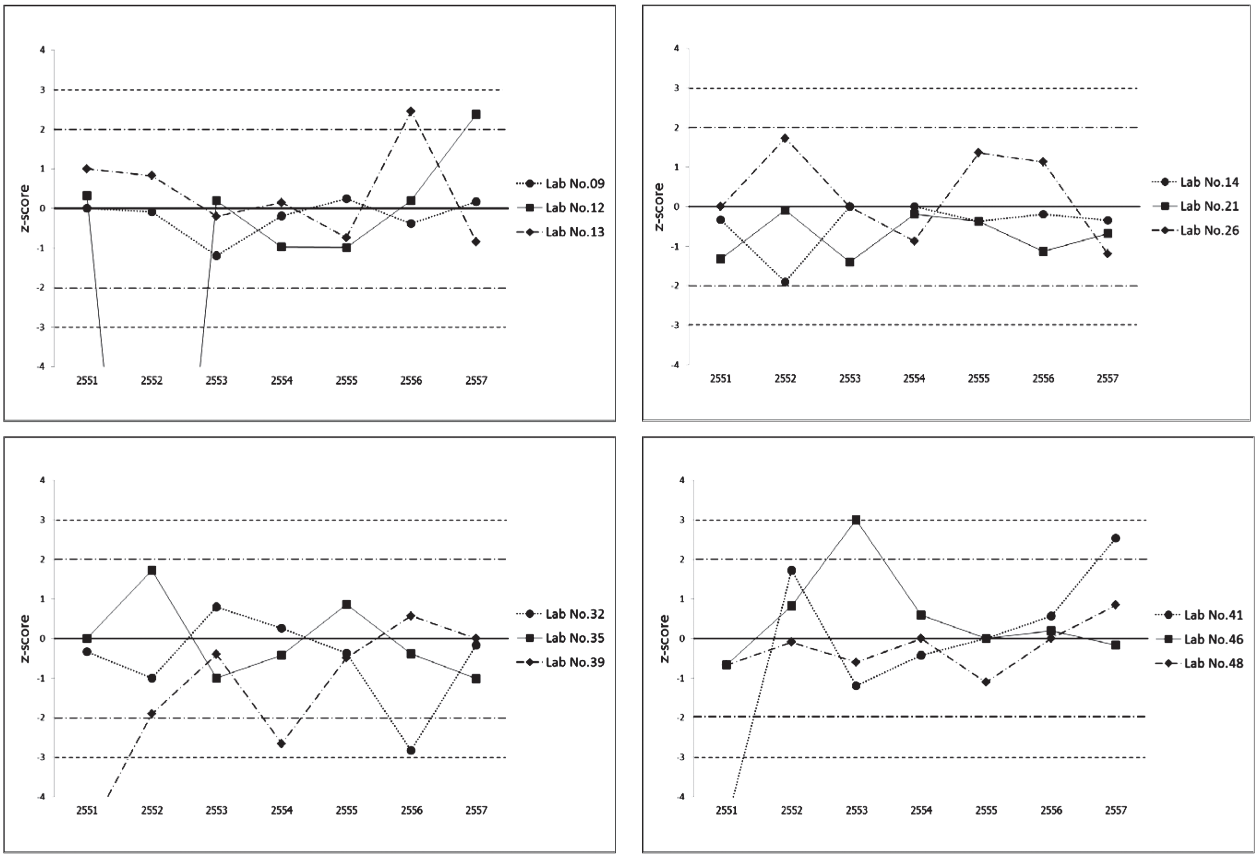
ตารางที่ 1 จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญในแต่ละปี และจำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทุกรอบ รวม 7 รอบ

รายการ	จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมในแต่ละปี พ.ศ.							จำนวนห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วม ครบ 7 รอบ
	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557	
ตะกั่ว	30	31	39	30	37	33	30	12
แคดเมียม	26	25	35	26	33	26	23	8

ผลการประเมินค่า z-score ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ตะกั่วจำนวน 12 ห้องปฏิบัติการ พบว่า 6 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 9, 14, 21, 26, 35 และ 48) มีค่า z–score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจทุกรอบ คิดเป็นร้อยละ 50.1, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no 12) มีค่า z–score เป็น outlier ในรอบที่สองและน่าสงสัยในรอบที่ 7, 2 ห้องปฏิบัติการ (lab no 13, 32) มีค่า z–score อยู่ในเกณฑ์น่าสงสัยในรอบที่ 6, 2 ห้องปฏิบัติการ (lab no 39, 41) มีค่า z–score เป็น outlier ในรอบแรก และน่าสงสัยในรอบที่ 4 และ 7 ตามลำดับ 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no 46) มีค่า z–score อยู่ในเกณฑ์ไม่น่าพอใจในรอบที่ 3 (ตารางที่ 2) เมื่อนำค่า z-score มา plot จะได้แผนภูมิ (ภาพที่ 1)

ตารางที่ 2 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 12 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ ตะกั่ว ในน้ำในแต่ละปี

lab code	ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ						
	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557
	X^* = 0.050 mg/L s = 0.003 mg/L % robust CV = 6.0	X^* = 0.201 mg/L s = 0.011 mg/L % robust CV = 5.5	X^* = 0.052 mg/L s = 0.005 mg/L %robust CV = 9.6	X^* = 0.073 mg/L s = 0.009 mg/L %robust CV = 12.3	X^* = 0.081 mg/L s = 0.0081 mg/L %robust CV = 10.0	X^* = 0.055 mg/L s = 0.0052 mg/L % robust CV = 9.4	X^* = 0.071 mg/L s = 0.0059 mg/L %robust CV = 8.3
09	0.00	-0.09	-1.20	-0.19	0.25	-0.38	0.17
12	0.33	**-16.36**	0.20	-0.98	-0.99	0.19	2.37
13	1.00	0.82	-0.20	0.15	-0.74	2.45	-0.85
14	-0.33	-1.91	0.00	0.00	-0.37	-0.19	-0.35
21	-1.33	-0.09	-1.40	-0.19	-0.37	-1.13	-0.68
26	0.00	1.73	0.00	-0.87	1.36	1.13	-1.19
32	-0.33	-1.00	0.80	0.26	-0.37	-2.83	-0.17
35	0.00	1.73	-1.00	-0.42	0.86	-0.38	-1.02
39	**-5.00**	-1.91	-0.40	-2.66	-0.49	0.57	0.00
41	**-4.67**	1.73	-1.20	-0.42	0.00	0.57	2.54
46	-0.67	0.82	**3.00**	0.60	0.00	0.19	-0.17
48	-0.67	-0.09	-0.60	0.00	-1.11	0.00	0.85

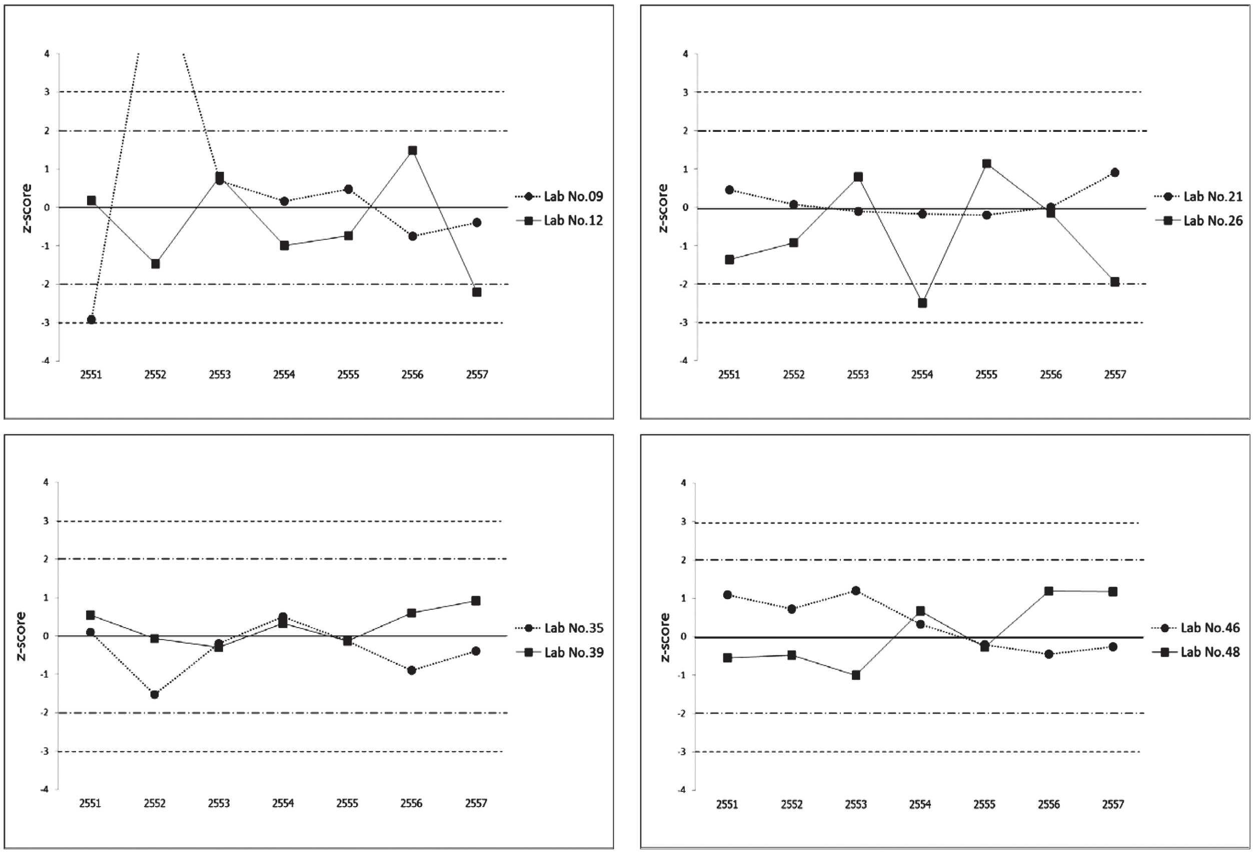


ภาพที่ 1 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 12 ห้องปฏิบัติการ ที่เข้าร่วมทดสอบฯ ตะกั่ว ในน้ำในแต่ละปี

ผลการประเมินค่า z-score ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์แคดเมียม จำนวน 8 ห้องปฏิบัติการ พบว่า 5 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 21, 35, 39, 46 และ 48) มีค่า z–score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจทุกรอบ คิดเป็น ร้อยละ 62.5, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 09) ที่ค่า z–score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าสงสัยในรอบแรกและเป็น outlier ในรอบที่ 2, 2 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 12, 26) ค่า z–score อยู่ในเกณฑ์ที่น่าสงสัยในรอบที่ 7 และรอบที่ 4 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อนำค่า z-score มา plot จะได้แผนภูมิ (ภาพที่ 2)

ตารางที่ 3 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 8 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ แคดเมียมในน้ำในแต่ละปี

lab code	ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ						
	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557
	X^* = 0.0082 mg/L s = 0.0011 mg/L % robust CV = 13.4	X^* = 0.0087 mg/L s = 0.0015 mg/L % robust CV = 17.2	X^* = 0.0072 mg/L s = 0.0010 mg/L %robust CV = 13.9	X^* = 0.0056 mg/L s = 0.0006 mg/L %robust CV = 10.7	X^* = 0.0080 mg/L s = 0.0015 mg/L %robust CV = 18.8	X^* = 0.0042 mg/L s = 0.00067 mg/L % robust CV = 16.0	X^* = 0.0059 mg/L s = 0.00077 mg/L %robust CV = 13.0
09	−2.91	**6.53**	0.70	0.17	0.47	−0.75	−0.39
12	0.18	−1.47	0.80	−1.00	−0.73	1.49	−2.21
21	0.45	0.07	−0.10	−0.17	−0.20	0.00	0.91
26	−1.36	−0.93	0.80	−2.50	1.13	−0.15	−1.95
35	0.09	−1.53	−0.20	0.50	−0.13	−0.90	−0.39
39	0.55	−0.07	−0.30	0.33	−0.13	0.60	0.91
46	1.09	0.73	1.20	0.33	−0.20	−0.45	−0.26
48	−0.55	−0.47	−1.00	0.67	−0.27	1.19	1.17



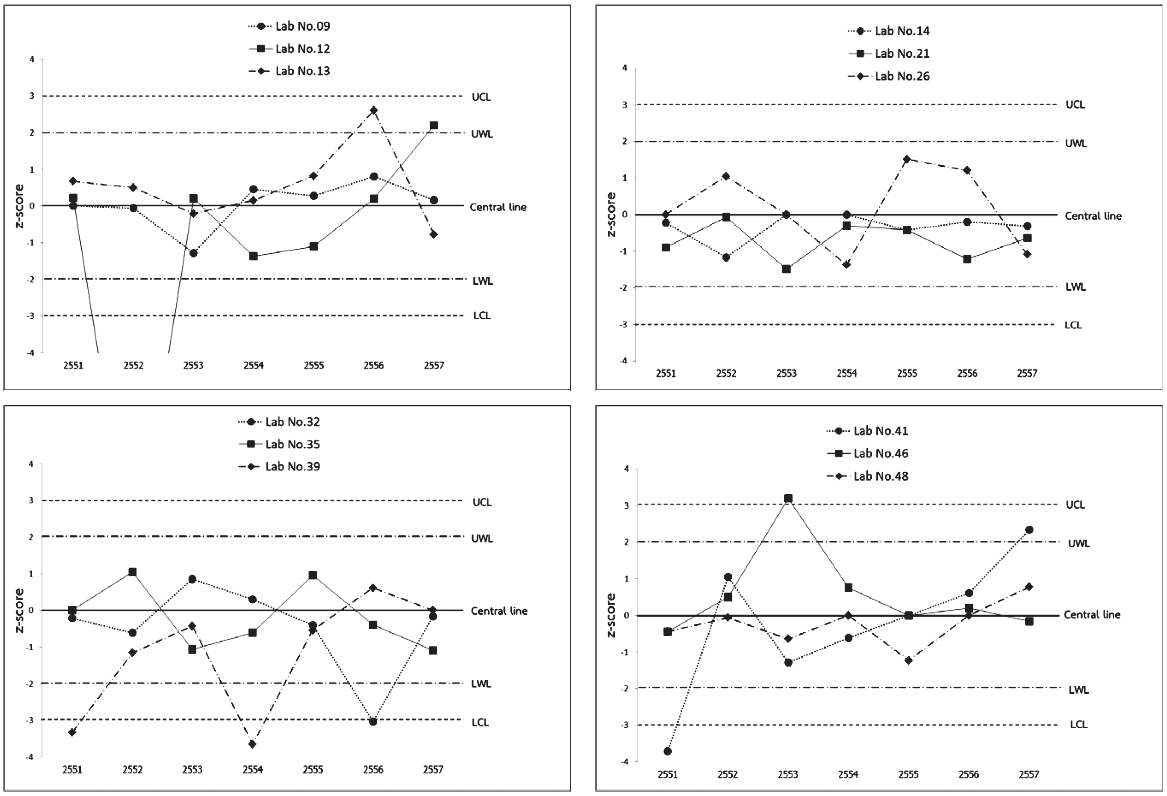
ภาพที่ 2 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 8 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ แคดเมียมในน้ำในแต่ละปี

การวิเคราะห์แนวโน้มคุณภาพแต่ละห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำโดย PT Provider ใช้ค่า assigned value (X^*) และ standard deviation (s) ซึ่งเป็นค่าที่คำนวณมาจาก robust analysis: Algorithm A ในแต่ละรอบ จะมีค่าเฉลี่ย (X^*) หรือการกระจาย (s) ของข้อมูลที่แตกต่างกัน เพื่อเปรียบเทียบคะแนนข้อมูลของแต่ละรอบต้อง Standardized scores หรือ Normalized scores ก่อน โดยคำนวณ s_{pooled} (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานรวม) แล้วใช้ s_{pooled} แทนค่า s ในสูตร คำนวณ z-score ในแต่ละรอบใหม่ นำค่า z-score ใหม่มา plot กราฟในรูป control chart[10] และดูว่าอยู่ใน statistical control หรือไม่ เพื่อดูแนวโน้ม (trend) ที่อาจมีซึ่งวิธีการควบคุมคุณภาพอื่นๆ ไม่สามารถบอกได้ เป็นการสร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพของผลการวิเคราะห์ และสะท้อนถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการ (performance lab) ในการตรวจวิเคราะห์รายการตรวจนั้นๆ

ผลการวิเคราะห์แนวโน้มคุณภาพแต่ละห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ตะกั่วในน้ำ ในประเทศไทยจากการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญอย่างต่อเนื่องครบ 7 รอบ จำนวน 12 ห้องปฏิบัติการ พบว่า 5 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 9, 14, 26, 35 และ 48) มีผลการประเมินอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด (control limit) คือมีการกระจายข้อมูลอยู่สองข้าง central line อย่างสม่ำเสมอ, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab 21) ผลการประเมิน 7 จุด ต่อเนื่องอยู่ใกล้ central line, 2 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 12, 41) ผลการประเมิน 1 จุด ออกนอกเกณฑ์ที่กำหนด อีก 1 จุด อยู่ระหว่าง warning limit และ control limit, 2 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 32, 46) ผลการประเมิน 1 จุด ออกนอกเกณฑ์ที่กำหนด, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 13) ผลการประเมิน 1 จุด อยู่ระหว่าง warning limit และ control limit, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 39) ผลการประเมิน 2 จุด ออกนอกเกณฑ์ (ตารางที่ 4) และเมื่อนำค่า z-score ใหม่มา plot จะได้แผนภูมิที่ใช้ควบคุมคุณภาพ (ภาพที่ 3)

ตารางที่ 4 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 12 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ ตะกั่วในน้ำอย่างต่อเนื่อง เมื่อคำนวณโดยใช้ rsd_{pooled}

lab code	ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ						
	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557
	X^* = 0.050 mg/L s = 0.0045 mg/L % robust CV = 9.0	X^* = 0.201 mg/L s = 0.0181 mg/L % robust CV = 9.0	X^* = 0.052 mg/L s = 0.0047 mg/L %robust CV = 9.0	X^* = 0.073 mg/L s = 0.0066 mg/L %robust CV = 9.0	X^* = 0.081 mg/L s = 0.0073 mg/L %robust CV = 9.0	X^* = 0.055 mg/L s = 0.0050 mg/L % robust CV = 9.1	X^* = 0.071 mg/L s = 0.0064 mg/L %robust CV = 9.0
09	0.00	-0.06	-1.28	0.46	0.27	0.81	0.16
12	0.22	**-9.94**	0.21	-1.37	-1.10	0.20	2.19
13	0.67	0.50	-0.21	0.15	0.82	2.60	-0.78
14	-0.22	-1.16	0.00	0.00	-0.41	-0.20	-0.31
21	-0.89	-0.06	-1.49	-0.30	-0.41	-1.21	-0.63
26	0.00	1.05	0.00	-1.37	1.51	1.21	-1.09
32	-0.22	-0.61	0.85	0.30	-0.41	**-3.03**	-0.16
35	0.00	1.05	-1.07	-0.61	0.96	-0.40	-1.09
39	**-3.33**	-1.16	-0.43	**-3.65**	-0.55	0.61	0.00
41	**-3.71**	1.05	-1.28	-0.61	0.00	0.61	2.34
46	-0.44	0.50	**3.20**	0.76	0.00	0.20	-0.16
48	-0.44	-0.06	-0.64	0.00	-1.23	0.00	0.78

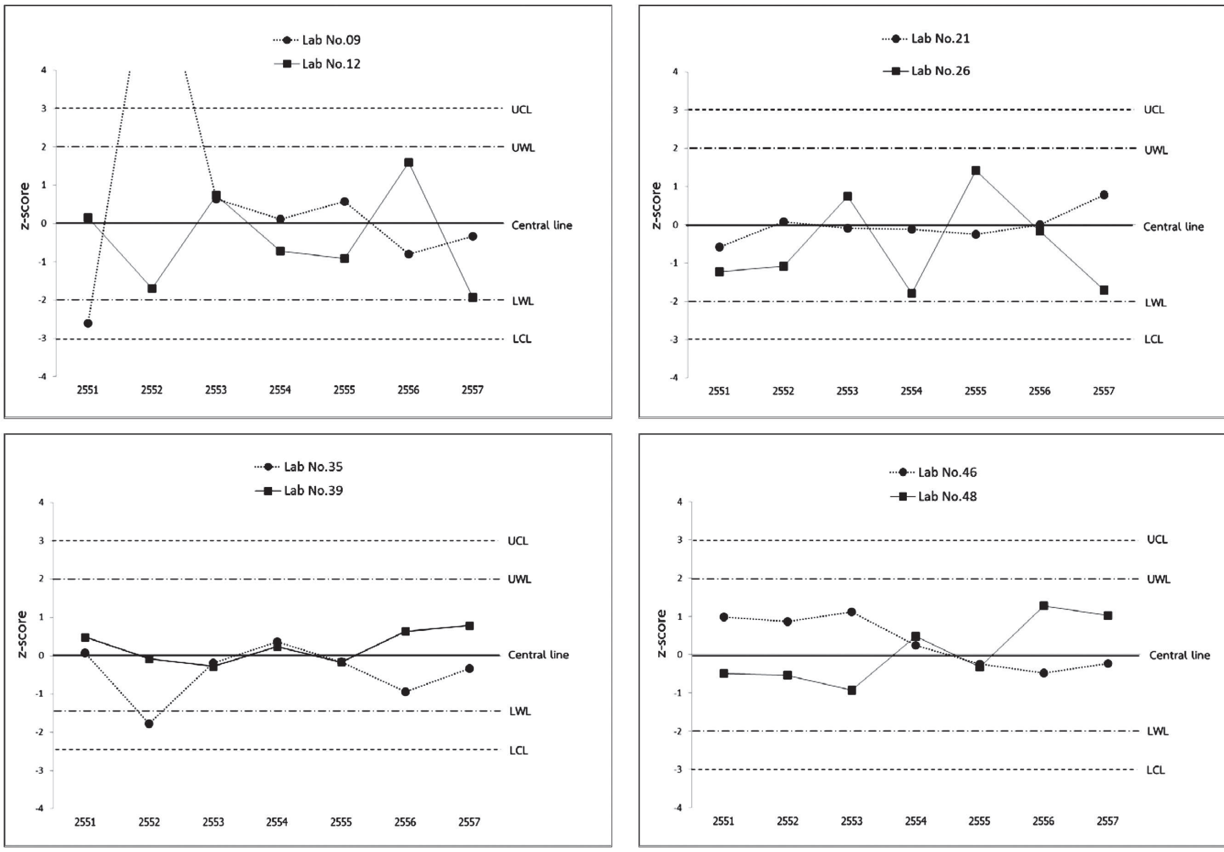


ภาพที่ 3 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 12 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ ตะกั่วในน้ำอย่างต่อเนื่อง

ผลการวิเคราะห์แนวโน้มคุณภาพแต่ละห้องปฏิบัติการวิเคราะห์แคดเมียมในน้ำ ในประเทศไทยจากการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญอย่างต่อเนื่องครบ 7 รอบ จำนวน 8 ห้องปฏิบัติการ พบว่า 7 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 12, 21, 26, 35, 39, 46 และ 48) มีผลการประเมินอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด (control limit) คือ มีการกระจายข้อมูลอยู่สองข้าง central line อย่างสม่ำเสมอ, 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no. 9) ผลการประเมิน 1 จุด อยู่ระหว่าง warning limit และ control limit และ 1 จุด ออกนอกเกณฑ์ที่กำหนด (ตารางที่ 5) และเมื่อนำค่า z-score ใหม่มา plot จะได้แผนภูมิที่ใช้ควบคุมคุณภาพ (ภาพที่ 4)

ตารางที่ 5 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 8 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ แคดเมียมในน้ำอย่างต่อเนื่อง เมื่อคำนวณโดยใช้ rsd_{pooled}

	ปี พ.ศ. ที่ดำเนินการ						
	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557
	X^* = 0.0082 mg/L s = 0.0012 mg/Lmg/L % robust CV = 14.6	X^* = 0.0087 mg/L s = 0.0013 mg/L % robust CV = 17.2	X^* = 0.0072 mg/L s = 0.0011 mg/L %robust CV = 15.3	X^* = 0.0056 mg/L s = 0.0084 mg/L %robust CV = 12.7	X^* = 0.0080 mg/L s = 0.0012 mg/L %robust CV = 15.0	X^* = 0.0042 mg/L s = 0.00063 mg/L % robust CV = 15.0	X^* = 0.0059 mg/L s = 0.00088 mg/L %robust CV = 14.9
09	−2.61	**7.54**	0.65	0.12	0.58	−0.80	−0.34
12	0.16	−1.69	0.74	−0.72	−0.92	1.59	−1.93
21	−0.57	0.08	−0.09	−0.12	−0.25	0.00	0.79
26	−1.23	−1.08	0.74	−1.79	1.42	−0.16	−1.70
35	0.08	−1.77	−0.19	0.36	−0.17	−0.95	−0.34
39	0.49	−0.08	−0.28	0.24	−0.17	0.64	0.79
46	0.98	0.86	1.12	0.24	−0.25	−0.48	−0.23
48	−0.49	−0.54	−0.93	0.48	−0.33	1.28	1.02



ภาพที่ 4 ค่า z-score ของผลวิเคราะห์จาก 8 ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมทดสอบฯ แคดเมียมในน้ำอย่างต่อเนื่อง

วิจารณ์

การทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์โลหะในน้ำ เป็นการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการโดยการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ตัวอย่างที่ส่งไปยังห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญต้องมีความเป็นเนื้อเดียวกัน แผนการทดสอบความชำนาญนี้ได้ยืนยันความเป็นเนื้อเดียวกันทุกรายการ โดยการทดสอบด้วยสถิติ One-Way ANOVA พบว่าทุกรายการไม่มีความแตกต่างระหว่างขวด ($p>0.05$) ดังนั้นผลวิเคราะห์จากสมาชิกที่มีค่า z-score>2 จึงไม่ได้เกิดจากความแปรปรวนของตัวอย่าง

ในการประเมินผลความสามารถของห้องปฏิบัติการสมาชิกใช้สถิติ robust analysis: Algorithm A ตาม ISO 13528 เป็นกระบวนการทางสถิติที่ใช้แก้ปัญหาการเกิดค่าที่ผิดปกติ โดยใช้การปฏิเสธ (rejection value) เพื่อหลีกเลี่ยงผลกระทบของการเบี่ยงเบนจากข้อมูลอย่างมีระบบ แล้วจึงคำนวณค่าประมาณของค่าเฉลี่ยที่เหลือ ค่าที่ได้นี้จะมีความทนสูง เพราะไม่ได้รับผลกระทบจากการมี outlier

แผนการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์น้ำทางเคมี ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้รับการรับรองความสามารถผู้จัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญจากกรมวิทยาศาสตร์บริการ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556 จึงเป็นหลักประกันให้สมาชิกมั่นใจได้ว่าการบริหารจัดการตัวอย่าง ข้อมูลทุกอย่าง จะเป็นไปตามมาตรฐานสากลระบบ ISO/IEC 17043:2010 นอกจากการจัดสัมมนาให้ความรู้สมาชิกเป็นครั้งคราวแล้ว สมาชิกสามารถสอบถามปรึกษา หรือมีปัญหาเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ได้

ข้อมูลที่ได้จากห้องปฏิบัติการพบว่าส่วนใหญ่ใช้วิธีวิเคราะห์หรือเทคนิคที่เหมือนกัน หรือคล้ายคลึงกัน โดยอ้างอิงวิธีวิเคราะห์จาก Standard methods for the examination of water and wastewater (APHA) และ

ใช้เทคนิค atomic absorption spectrometry (AAS) หรือ induced couple plasma optical emission spectrometry หรือ mass spectrometry (ICP-OES, ICP-MS) ซึ่งไม่พบความแตกต่างระหว่างผลวิเคราะห์ที่ได้จากเทคนิคที่ต่างกันเหล่านี้ ห้องปฏิบัติการที่มีค่า z-score อยู่ในเกณฑ์ที่ไม่น่าพอใจ และที่เป็น outlier ในรอบแรก ๆ สามารถพัฒนาผลการตรวจวิเคราะห์ให้อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ค่า z-score ที่อยู่ในเกณฑ์ไม่น่าพอใจในรอบที่ 6, 7 แสดงถึงความไม่สม่ำเสมอของการตรวจวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการที่มีผลทดสอบไม่สอดคล้องกับห้องปฏิบัติการอื่น ควรพิจารณาหาสาเหตุที่ผลกระทบต่อการทดสอบ ได้แก่ เครื่องมือ เครื่องแก้วที่ใช้ต้องมีระยะเวลาการสอบเทียบ มีการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือ การล้างเครื่องแก้วต้องถูกต้องตามวิธีที่กำหนด แยกพื้นที่สำหรับงานวิเคราะห์โลหะปริมาณต่ำ เพื่อลดการปนเปื้อนที่จะส่งผลกระทบต่อผลการวิเคราะห์ การใช้สารเคมี หรือวัสดุอ้างอิงต้องมีมาตรฐานรับรอง ช่วงกราฟความเข้มข้นของสารมาตรฐานต้องมีความเหมาะสมไม่สูงเกินไป การเตรียมตัวอย่างมีความสำคัญ ต้องเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐานที่อ่านได้จากเครื่อง มีระบบควบคุมคุณภาพภายใน เช่น ค่าที่อ่านได้จาก method blank ต้องไม่เกินขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) มีการเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่างเพื่อหาค่าการกลับคืน (% recovery) ตรวจสอบการคำนวณ การถ่ายโอนข้อมูลให้มีความถูกต้อง วิธีทดสอบที่มีหลายขั้นตอน อาจมีเทคนิคยุ่งยากต้องฝึกฝนผู้ปฏิบัติงานให้มีความสามารถและประสบการณ์

การประเมินความสามารถแต่ละห้องปฏิบัติการในระยะยาว โดยนำผลวิเคราะห์ที่ได้มา plot graph ในรูป control chart ซึ่งเป็นแผนภูมิในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ โดยมีหลักการทางคณิตศาสตร์ที่แสดง control limit ของพิกัดบน upper control limit (UCL) พิกัดล่าง lower control limit (LCL) และเส้นกลาง central line (CL) ถ้าค่าที่ได้กระจายอยู่ภายใต้ขอบเขตแสดงว่าผลการวิเคราะห์อยู่ภายใต้การควบคุม (statistic control) ถ้าค่าที่ได้อยู่นอกเหนือขีดจำกัดทั้งสองแสดงว่าผลการวิเคราะห์อยู่เหนือการควบคุม คือ เกิดการแปรผันเกินขอบเขตที่กำหนดโดยอาศัยหลักทางสถิติ ในรายการตะกั่ว พบว่า 1 ห้องปฏิบัติการ (lab no.21) มีผลการประเมินอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจทุกรอบ เมื่อนำมา plot graph ในรูป control chart เห็นได้ชัดเจนว่าห้องปฏิบัติการมีผลวิเคราะห์ต่ำกว่า assigned values ทุกครั้งอย่างต่อเนื่อง 7 จุด ซึ่งไม่เป็นไปตาม statistic control อาจกล่าวได้ว่าการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการเกิดความผิดพลาด (error) ซึ่งอาจมาจากเครื่องมือที่ใช้ วิธีวิเคราะห์ หรือจากผู้ปฏิบัติงานเอง การใช้เครื่องมือวัด (instrument) และเทคนิคการวัดมีความสำคัญ จากข้อมูลผลการทดสอบของสมาชิกพบว่า ห้องปฏิบัติการใช้เทคนิค (AAS) Flame ทุกครั้งในการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งเทคนิคนี้เหมาะกับธาตุที่มีค่าการดูดกลืนแสง (absorb) ที่สูงและค่า absorb ที่อ่านได้ต้องคงที่ (นิ่ง) แต่ตะกั่วมีค่าการ (absorb) ต่ำ ค่าที่อ่านได้จึงไม่คงที่ดังนั้นการเตรียมตัวอย่างต้องให้มีความเข้มข้นมากพอเพื่อให้ค่าที่อ่านมีค่า absorb สูงตามเกณฑ์ที่คู่มือกำหนด วิธีนี้จึงอาจไม่เหมาะกับตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่ำ ๆ แต่ความคลาดเคลื่อนชนิดนี้สามารถนำเทคนิคอื่นมาปรับแก้ช่วยลดความคลาดเคลื่อนได้ ในรายการแคดเมียมพบว่าห้องปฏิบัติการทุกแห่งมีมาตรฐานในการตรวจวิเคราะห์ โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการที่ 9 มีการพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ที่เห็นได้อย่างชัดเจน หลายห้องปฏิบัติการเลือกใช้เครื่องมือที่มีเทคโนโลยีระดับสูง เช่น ICP-MS, ICP-OES เครื่องมือเหล่านี้จะให้ผลการวิเคราะห์ที่รวดเร็ว แต่จำเป็นต้องอาศัยความรู้ ความเข้าใจในเทคนิคที่จะวิเคราะห์ และมีประสบการณ์อย่างเพียงพอ ที่สำคัญผู้ปฏิบัติงานต้องมีความรู้ ความเข้าใจ ในงานที่ตนปฏิบัติ ผลการวิเคราะห์ที่ได้จึงมีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ

การทดสอบความชำนาญฯ เป็นการประเมินจากหน่วยงานภายนอก จึงมีความน่าเชื่อถือ เนื่องจากปราศจากการเอนเอียง และใช้มาตรฐานเดียวกัน ผลการประเมินเป็นการบอกถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการเมื่อเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นที่เข้าร่วมการทดสอบในรอบเดียวกัน ผลการประเมินในแต่ละรอบ หรือระยะยาวจะชี้ให้เห็นถึงความแตกต่างระหว่างห้องปฏิบัติการ และการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญฯ อย่างต่อเนื่องยังบ่งบอกถึงคุณภาพและมาตรฐานในการปฏิบัติงาน ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาห้องปฏิบัติการด้วย

สรุป

การประเมินห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ตะกั่วและแคดเมียมในน้ำ ในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2551-2557 พบว่าห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ตะกั่ว และแคดเมียม ส่วนใหญ่มีผลการวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ห้องปฏิบัติการที่มีผลการประเมินในรอบแรก ๆ อยู่ในเกณฑ์ที่น่าสงสัย หรือไม่น่าพอใจสามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการและพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ให้มีความถูกต้อง แม่นยำ การนำผลการทดสอบความชำนาญฯ หลายครั้งอย่างต่อเนื่องมาวิเคราะห์เพื่อดูแนวโน้มด้านการพัฒนาคุณภาพของแต่ละห้องปฏิบัติการโดยใช้ control chart เป็นกลไกในระบบคุณภาพ จะบอกถึงคุณภาพ และประสิทธิภาพของห้องปฏิบัติการ (performance lab) ในรายการตรวจนั้น ๆ ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการมีการปรับปรุง และพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ ซึ่งจะส่งผลให้ผู้บริโภคได้รับการคุ้มครองจากการบริโภคอาหารและดื่มน้ำที่ปลอดภัย

การเป็น PT provider ด้านการตรวจวิเคราะห์โลหะในน้ำของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์นั้น เป็นเครื่องมือที่จะช่วยในการพัฒนาศักยภาพของห้องปฏิบัติการฯ เนื่องจากมีประชุมสมาชิก แลกเปลี่ยนความคิดเห็น หรือการจัดทำรายงานผล จะมีประเด็นหรือมีส่วนช่วยให้สมาชิกได้พิจารณา ซึ่งจะทำให้ห้องปฏิบัติการสามารถปรับปรุงและพัฒนาการตรวจวิเคราะห์ให้มีคุณภาพและมาตรฐานเท่าเทียมกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางกัญญา พุกสุ่น นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และนางลดาพรรณ แสงคล้าย นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการพิเศษ กรุณาตรวจทานบทคัดย่อภาษาอังกฤษ

เอกสารอ้างอิง

1. กรรณิกา จิตติยศรา และกัญญา พุกสุ่น. คุณภาพและความปลอดภัยของน้ำแร่ธรรมชาติที่ผลิตในประเทศและที่นำเข้าจากต่างประเทศ. ว กรมวิทย พ 2557; 56(4): 193-204.
2. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 98 ตอนที่ 157 (ลงวันที่ 24 กันยายน 2524).
3. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 199 (พ.ศ. 2543) เรื่อง น้ำแร่ธรรมชาติ ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 118 ตอนพิเศษ 6 ง (ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).
4. ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment - General requirements for proficiency testing. Geneva, Switzerland: ISO; 2010.
5. ISO IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, Switzerland: ISO; 2005.
6. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ. การทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing) และการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ (Interlaboratory comparisons), N 07 15 003. แก้ไขครั้งที่ 8. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
7. ISO 13528:2005. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. Geneva, Switzerland: ISO; 2005.
8. Thompson M, Ellison SLR, Wood R. The international harmonized protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC technical report). Pure Appl Chem 2006; 78(1): 145-96.
9. Neter J, Wasserman W, Whitmore GA. Applied statistics. Boston, MA: Allyn and Bacon; 1978.
10. SOP No. 20 16 004, การสร้างและการใช้ Control Chart ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี. แก้ไขครั้งที่ 1. นนทบุรี : สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.

Potential of Analytical Laboratories of Lead and Cadmium in Water in Thailand during 2008 – 2014

Kannika Jittiyossara Pichaya Deesri and Sakorn Singsalasaeng

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

ABSTRACT Bureau of Quality and Safety of Food (BQSF), Department of Medical Sciences, conducted a proficiency testing (PT) program on analysis of heavy metals; Pb and Cd in water in order to evaluate the competence of participating laboratories during 2008-2014, (7 rounds). Homogeneous PT sample of water for analyzing lead (Pb) and cadmium (Cd) were delivered to the laboratories that would send the results back within a designated time. The results were analyzed statistically using the z-score to assess the ability of participating laboratories. More than thirty laboratories participated in the PT programs each year. There were 12 and 8 laboratories that enrolled the Pb and Cd schemes, respectively for all 7 rounds. It was revealed that there were six Pb laboratories and five Cd laboratories having satisfactory results in every round, with the percentage of 50.0 and 62.5, respectively. Trends of participating laboratories quality which their continual PT results showed by z-score calculated from *s* value can be determined. The laboratories could perform continuous self-evaluation by calculating percentage of pooled relative standard deviation ($\%rsd_{pooled}$) of previous round which was subsequently used to compute pooled standard deviation (s_{pooled}), resulting the z-score. For Pb scheme, it was found that new z-scores of a laboratory were lower than the assigned values in all rounds. Although obtaining the satisfactory z-scores, such laboratory should find out the causes and correct those problems. For Cd scheme, all laboratories could maintain quality of their performance at satisfactory level. In conclusion, the evaluation of successive PT results could indicate potentiality of laboratories by considering trends in either direction of the results. This would enable water analysis laboratories in Thailand to improve and develop their competence and to achieve the same standard.

Key words: proficiency testing, water, lead, cadmium

ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง จากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ ทางการแพทย์ ตามมาตรฐาน ISO 15189

ณฐมน เทียนมณี สุธน วงษ์ชีรี สุรศักดิ์ หมื่นพล ปนัดดา วิรุฬห์บุญภัทร และชมไฉไล สินธุสาร
สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการจากการตรวจประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลังของห้องปฏิบัติการที่รับการตรวจประเมินระหว่างเดือนมกราคม 2553 – ธันวาคม 2556 จำนวน 76 ห้องปฏิบัติการ โดยใช้สถิติ pair t- test และสถิติเชิงวิเคราะห์ด้วยการวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก (Multiple logistic regression) ปัจจัยที่มีผลต่อเวลาแก้ไขข้อบกพร่องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ จำนวนปีที่ได้รับการรับรองโดยห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมากกว่าค่าเฉลี่ย 4 ปี จะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องมากกว่าที่ได้รับการรับรองไม่เกิน 4 ปี ถึง 3.67 เท่า โดยใช้เวลา 245 ± 96 วัน และ 189 ± 74 วัน ตามลำดับ และจำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับทั้งหมด หากจำนวนมากกว่าค่าเฉลี่ย 23 ข้อ จะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องมากกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้ข้อบกพร่องทั้งหมดไม่เกิน 23 ข้อ โดยใช้เวลา 240 ± 88 วัน และ 181 ± 85 วัน ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อบกพร่องตามข้อกำหนด ISO 15189 ด้วยการวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก โดยใช้ค่าอ้างอิงกลุ่มจากค่าเฉลี่ย 216 วัน พบปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ 1) ปัจจัยที่ทำให้ใช้เวลาในการแก้ไขข้อบกพร่องเสร็จเร็วขึ้น ได้แก่ จำนวนข้อบกพร่องข้อ 4.9 เรื่อง การระบุและการควบคุมสิ่งไม่สอดคล้อง และข้อ 4.15 เรื่อง การทบทวนระบบบริหารจัดการ 2) ปัจจัยที่ทำให้ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องนานขึ้น ได้แก่ จำนวนปีที่ได้รับการรับรองที่มากกว่า 4 ปี จำนวนข้อบกพร่องข้อ 4.3 เรื่อง การควบคุมเอกสาร และ ข้อ 4.13 เรื่อง บันทึกด้านคุณภาพและวิชาการ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเรื่องเกี่ยวกับเอกสารและการตรวจสอบระบบคุณภาพ จึงควรนำไปพิจารณากำหนดกิจกรรมในแผนพัฒนาคุณภาพและพิจารณากำหนดเกณฑ์การตรวจติดตามระบบคุณภาพไว้ในแผนการตรวจติดตามระบบคุณภาพประจำปี เพื่อธำรงรักษาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากลไว้ตลอดไป

Accepted for publication, 14 September 2015

บทนำ

การได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการเป็นหนึ่งในกลไกสำคัญในการพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการ สร้างการยอมรับและความเชื่อมั่นในคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นองค์กรรับรองระดับสากล โดยเป็นสมาชิกสามัญที่ได้ลงนามความร่วมมือระหว่างประเทศ (Mutual Recognition Arrangement) กับ Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation (APLAC) เรื่อง การรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2545 และรับรองห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 เมื่อวันที่ 18 เมษายน 2550 และ International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) เมื่อวันที่ 4 เมษายน 2546[1] โดยให้การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข ตามมาตรฐานสากล ISO 15189, ISO 22870, ISO/IEC 17025 และ ISO 15190 ปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 จำนวน 147 แห่ง[2]

เพื่อพัฒนากระบวนการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการและเพื่อพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาระยะเวลาที่ห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189[3] จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในช่วงปี พ.ศ. 2553 – 2554 พบว่า ห้องปฏิบัติการใช้ระยะเวลาเฉลี่ย 243 วัน จึงจะได้รับการรับรอง และกระบวนการที่ใช้เวลานานที่สุด คือ เวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่องและข้อสังเกตให้แล้วเสร็จ จากการทบทวนผลการศึกษาที่เกี่ยวข้องทั้งจากประเทศไทยและต่างประเทศ พบว่าเป็นการศึกษาถึงแนวโน้มของข้อบกพร่องที่ได้รับจากการตรวจประเมินเพื่อให้ทราบถึงข้อบกพร่องที่พบได้บ่อย และสาเหตุของการดำเนินการที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนดของมาตรฐานสากล โดยยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง ซึ่งจะแสดงถึงการธำรงรักษาระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการ เช่น จากการศึกษาของนางสาวเสาวนีย์ อารมย์สุข และคณะ เรื่อง แนวโน้มข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขของหน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการทดสอบสาธารณะ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005 ระหว่างปี พ.ศ. 2551 – 2554[4] และการศึกษาของ Bella Ho และ Eric Ho เรื่อง the most common nonconformities encountered during the assessments of medical laboratories in Hong Kong using ISO 15189 as accreditation criteria ในช่วงปี ค.ศ. 2004-2006 และปี ค.ศ. 2009[5] ร่วมกับสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้ปรับนโยบาย เงื่อนไข ข้อกำหนดของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ R 07 15 001 เรื่อง นโยบายการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านการแพทย์และสาธารณสุข กำหนดให้ห้องปฏิบัติการจะต้องส่งการแก้ไขข้อบกพร่อง ข้อสังเกตจากการตรวจประเมินภายใน 90 วัน สำหรับการขอรับรองใหม่หรือขยายขอบข่าย และภายใน 30 วัน สำหรับการขอต่ออายุการรับรอง และจะต้องแก้ไขข้อบกพร่องให้แล้วเสร็จภายใน 120 วัน และ 60 วัน ตามลำดับ[6] ดังนั้นจึงได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการที่ได้รับจากการตรวจประเมินตามมาตรฐาน ISO 15189 นำเสนอระยะเวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่องของปัจจัยแต่ละกลุ่ม และแสดงปัจจัยสัมพันธ์ที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับห้องปฏิบัติการได้ใช้เป็นข้อมูลนำไปกำหนดแนวทางพัฒนาคุณภาพ ธำรงรักษาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 สามารถลดระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินเพื่อขอการรับรอง ต่ออายุการรับรอง หรือขยายขอบข่ายการรับรองได้ ทันกำหนดเวลาตามนโยบายเงื่อนไขการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ

วัสดุและวิธีการ

รูปแบบการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงวิเคราะห์แบบย้อนหลัง (Retrospective Analytic Study)[7] โดยกลุ่มเป้าหมายที่ศึกษา ได้แก่ ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ได้รับการตรวจประเมินและได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในช่วงเวลาตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2553 – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 จำนวน 76 แห่ง (คิดเป็น 100%)

วิธีการศึกษา

1. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

1.1) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการแต่ละกลุ่ม (within group) สถิติที่ใช้ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของปัจจัยแต่ละกลุ่ม ได้แก่ pair t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%[8] โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2010 โดยนำปัจจัยทั้ง 9 ปัจจัย ได้แก่ ประเภทหน่วยงาน ที่ตั้ง ชนิดของห้องปฏิบัติการ ชนิดของการบริการ จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง ขอบข่ายที่ขอการรับรอง ข้อบกพร่องที่ได้จากการตรวจประเมินรวม ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการรวม และข้อบกพร่องด้านวิชาการรวม ทำให้เป็นตัวแปรทวิภาค นำค่าเฉลี่ยของระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องมาเปรียบเทียบกันในแต่ละกลุ่มปัจจัย

1.2) ศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (between group) โดยใช้การทดสอบแบบทวินาม (Binomial Study), Odds Ratio และการวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก (Multiple logistic regression)[9-11] โดยใช้โปรแกรม STATA version 11.0 โดยค่าอ้างอิงกลุ่มของระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง = 216 วัน

2. สถิติที่ใช้สำหรับอธิบายปัจจัย ได้แก่ ร้อยละ ค่าเฉลี่ย/มัธยฐาน ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3. การกำหนดตัวแปร/ปัจจัย : กำหนดตัวแปร/ปัจจัยทั้งหมดให้เป็นตัวแปรทวิภาค (Dichotomous Variable) โดยตัวแปรเชิงปริมาณ (Numerical or Quantitative) จะปรับให้เป็นตัวแปรทวิภาค โดยกำหนดให้มีค่า = 0 (ตัวแปรควบคุม) สำหรับตัวแปรที่มีค่าไม่เกินค่าเฉลี่ย และกำหนดให้มีค่า = 1 (ตัวแปรทดสอบ) สำหรับตัวแปรที่มีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ย เช่น จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง มีค่าเฉลี่ย = 4 ปี ดังนั้น จำนวนปีที่ได้รับการรับรองไม่เกิน 4 ปี กำหนดให้มีค่า = 0 และจำนวนปีที่ได้รับการรับรองมากกว่า 4 ปี กำหนดให้มีค่า = 1 รายละเอียดการกำหนดตัวแปรทวิภาค (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ตัวแปร และการกำหนดค่าตัวแปรทวิภาค

ลำดับที่	ปัจจัย	ตัวแปรควบคุม/ตัวแปรทดสอบ
1.	ประเภทหน่วยงาน	ห้องปฏิบัติการสังกัดรัฐบาล = 0, เอกชน =1
2.	ที่ตั้ง	สถานที่ตั้งห้องปฏิบัติการในกรุงเทพฯ และปริมณฑล = 0, นอกเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล = 1
3.	ชนิดของห้องปฏิบัติการ	สังกัดโรงพยาบาล = 0, ไม่สังกัดโรงพยาบาล = 1
4.	ชนิดของการบริการ	ให้บริการ routine lab = 0, ไม่ได้ให้บริการ routine lab = 1
5.	จำนวนปีที่ได้รับการรับรองค่าเฉลี่ย = 4 ปี	จำนวนปีที่ได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการไม่เกิน 4 ปี = 0, มากกว่า 4 ปี =1
6.	ขอบข่าย ค่าเฉลี่ย = 30 การทดสอบ	จำนวนขอบข่ายที่ขอการรับรองไม่เกิน 30 การทดสอบ = 0, มากกว่า 30 การทดสอบ = 1
7.	จำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับทั้งหมด ค่าเฉลี่ย = 23 ข้อ	จำนวนข้อบกพร่อง ข้อสังเกต ที่ได้รับจากการตรวจประเมินทั้งหมด ไม่เกิน 23 ข้อ = 0, มากกว่า 23 ข้อ = 1
8.	จำนวนข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการ ค่าเฉลี่ย = 6 ข้อ	จำนวนข้อบกพร่องข้อสังเกตรวมด้านบริหารจัดการ ไม่เกิน 6 ข้อ = 0, มากกว่า 6 ข้อ = 1
9.	จำนวนข้อบกพร่องด้านวิชาการ ค่าเฉลี่ย = 17 ข้อ	จำนวนข้อบกพร่องข้อสังเกตรวมด้านวิชาการ ไม่เกิน 17 ข้อ = 0, มากกว่า 17 ข้อ = 1
10.	ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง ค่าเฉลี่ย = 216 วัน	เวลา (วัน) ในการแก้ไขข้อบกพร่องข้อสังเกตจนได้รับการรับรอง คำนวณจากวันที่ได้รับการรับรอง – วันประชุมปิดการตรวจประเมิน หากระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องไม่เกิน 216 วัน = 0, มากกว่า 216 วัน = 1

ผล

1. การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของแต่ละกลุ่มปัจจัย

ศึกษาปัจจัยของห้องปฏิบัติการที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง

1.1 ข้อมูลทั่วไปของห้องปฏิบัติการ

ศึกษาข้อมูลของห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ได้รับการตรวจประเมินและได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2553 – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2556 จำนวน 76 แห่ง คิดเป็น 100% ของห้องปฏิบัติการทั้งหมด โดยแบ่งเป็นห้องปฏิบัติการภาครัฐ จำนวน 41 แห่ง (54%) และห้องปฏิบัติการภาคเอกชน จำนวน 35 แห่ง คิดเป็น 46% ห้องปฏิบัติการสังกัดโรงพยาบาล 61.8% มีที่ตั้งอยู่ในต่างจังหวัด (65.8%) มากกว่าในกรุงเทพฯ และปริมณฑล ที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ (76.3%) มากกว่าตรวจยืนยันหรือศึกษาวิจัย (23.7%)

1.2 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของแต่ละกลุ่มปัจจัยทั้ง 9 กลุ่ม (ตารางที่ 2) ได้ผลดังนี้

1.2.1 ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของแต่ละกลุ่มปัจจัยไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} \geq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้แก่ ประเภทของหน่วยงาน ที่ตั้ง ชนิดของห้องปฏิบัติการ ชนิดของการบริการ ขอบข่ายที่ขอการรับรอง ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการรวม และข้อบกพร่องด้านวิชาการรวม

ตารางที่ 2 ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการ จำนวน 76 แห่ง

ปัจจัย	จำนวน (%)	ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (วัน)	p-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
ปัจจัยทั่วไปของห้องปฏิบัติการ			
1. ประเภทหน่วยงาน			0.268
- ภาครัฐ	41 (54.0)	204 ± 91	
- ภาคเอกชน	35 (46.0)	226 ± 85	
2. ที่ตั้ง (Location)			0.758
- กรุงเทพฯ และปริมณฑล	26 (34.2)	210 ± 85	
- ต่างจังหวัด	50 (65.8)	217 ± 91	
3. ชนิดของห้องปฏิบัติการ			0.181
- สังกัดโรงพยาบาล	47 (61.8)	202 ± 68	
- ไม่สังกัดโรงพยาบาล	29 (38.2)	234 ± 113	
4. ชนิดของการบริการ			0.254
- บริการตรวจวิเคราะห์	58 (76.3)	206 ± 74	
- ตรวจยืนยันหรือศึกษาวิจัย	18 (23.7)	242 ± 123	
5. จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง (ปี)			
ค่าเฉลี่ย = 4			0.006*
≤ 4	42 (55.3)	189 ± 74	
> 4	34 (44.7)	245 ± 96	
ปัจจัยของการรับรอง			
6. ขอบข่ายที่ขอการรับรอง (การทดสอบ)			0.707
ค่าเฉลี่ย = 30			
≤ 30	39 (51)	186 ± 99	
> 30	37 (49)	218 ± 77	
7. ข้อบกพร่องที่ได้รับจากการตรวจประเมินรวม (ข้อ)			0.041*
ค่าเฉลี่ย = 23			
≤ 23	43 (57)	181 ± 85	
> 23	33 (43)	240 ± 88	
8. ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการ (ข้อ)			
ค่าเฉลี่ย = 6			0.172
≤ 6	39 (51)	186 ± 87	
> 6	37 (49)	221 ± 89	

ตารางที่ 2 ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องของห้องปฏิบัติการ จำนวน 76 แห่ง (ต่อ)

ปัจจัย	จำนวน (%)	ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (วัน)	p-value ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
9. ข้อบกพร่องด้านวิชาการ (ข้อ)			0.057
ค่าเฉลี่ย = 17			
≤ 17	41 (54)	181 ± 90	
> 17	35 (46)	245 ± 83	

* ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องที่ p-value < 0.05

1.2.2 ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของแต่ละกลุ่มปัจจัยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ได้แก่ จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง และจำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับจากการตรวจประเมินรวม

2. การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง

2.1 ศึกษาความสัมพันธ์ของแต่ละกลุ่มปัจจัยต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง ทั้งปัจจัยทั่วไปของห้องปฏิบัติการ และปัจจัยของการรับรอง โดยนำมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่องของแต่ละกลุ่มปัจจัยทั้ง 9 กลุ่ม จากการศึกษาในข้อ 1.2 และนำปัจจัยจำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากการตรวจประเมินตามข้อกำหนด ISO 15189 จำนวน 23 กลุ่ม รวม 32 กลุ่ม โดยใช้การทดสอบแบบทวินาม (Binomial Study) และ Odds Ratio (ตารางที่ 3) ได้ผลดังนี้

2.1.1 กลุ่มปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ p-value < 0.05 มีจำนวน 4 กลุ่ม ได้แก่ จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง จำนวนข้อบกพร่อง รวมด้านวิชาการ จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.3 การควบคุมเอกสาร และจำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.15 การทบทวนการบริหารจัดการ

2.1.2 ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองมากกว่า 4 ปี จะใช้เวลาการแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองไม่เกิน 4 ปี ถึง 3.67 เท่า ที่ค่า 95% CI อยู่ในช่วง 1.43 - 9.41

2.1.3 ห้องปฏิบัติการที่ได้รับข้อบกพร่องด้านวิชาการจำนวนมากกว่า 17 ข้อ จะใช้เวลาการแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับข้อบกพร่องด้านวิชาการรวมไม่เกิน 17 ข้อ ถึง 2.60 เท่า ที่ค่า 95% CI อยู่ในช่วง 1.04 - 6.52

2.1.4 ห้องปฏิบัติการที่มีจำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.3 การควบคุมเอกสารมากกว่า 2 ข้อ จะใช้เวลาในการแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.3 ไม่เกิน 2 ข้อ ถึง 3.58 เท่า ที่ค่า 95% CI อยู่ในช่วง 1.32 - 9.69

2.1.5 ห้องปฏิบัติการที่มีจำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.15 การทบทวนการบริหารจัดการจะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องน้อยกว่าห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้รับข้อบกพร่องนี้ถึง 3.33 เท่า ที่ค่า 95% CI อยู่ในช่วง 1.22 - 9.09

ตารางที่ 3 ปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (ค่าอ้างอิงกลุ่ม 216 วัน)

ปัจจัย	อัตราส่วนออด (Odds Ratio)	95% CI (Min – Max)	p-value
ปัจจัยทั่วไปของห้องปฏิบัติการ			
1. ประเภทหน่วยงาน			
1.1 ภาครัฐ	1.00	0.68 – 4.13	0.26
1.2 ภาคเอกชน	1.68		
2. ที่ตั้ง			
2.1 กรุงเทพฯ และปริมณฑล	1.00	0.53 – 3.50	0.52
2.2 ต่างจังหวัด	1.36		
3. ชนิดของห้องปฏิบัติการ			
3.1 โรงพยาบาล	1.00	0.53 – 3.32	0.55
3.2 ห้องปฏิบัติการ	1.33		
4. ชนิดของการบริการ			
4.1 บริการตรวจวิเคราะห์	1.00	0.54 – 4.35	0.43
4.2 ตรวจยืนยันหรือศึกษาวิจัย	1.54		
5. จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง			
5.1 ≤ 4 ปี	1.00	1.43 – 9.41	0.006*
5.2 > 4 ปี	3.67		
ปัจจัยของการรับรอง			
6. ขอบข่ายที่ขอการรับรอง			
6.1 ≤ 30 การทดสอบ	1.00	0.69 – 4.16	0.26
6.2 > 30 การทดสอบ	1.69		
7. จำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับทั้งหมด			
7.1 ≤ 23 ข้อ	1.00	0.67 – 4.13	0.27
7.2 > 23 ข้อ	1.67		
8. จำนวนข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการ			
8.1 ≤ 6 ข้อ	1.00	0.56 – 3.34	0.50
8.2 > 6 ข้อ	1.37		
9. จำนวนข้อบกพร่องด้านวิชาการ			
9.1 ≤ 17 ข้อ	1.00	1.04 – 6.52	0.04*
9.2 > 17 ข้อ	2.60		
10. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.1 องค์กรและการบริหาร			
10.1 = 0 ข้อ	1.00	0.62 – 3.71	0.37
10.2 > 0 ข้อ	1.51		

ตารางที่ 3 ปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (ค่าอ้างอิงกลุ่ม 216 วัน) (ต่อ)

ปัจจัย	อัตราส่วนออด (Odds Ratio)	95% CI (Min – Max)	p-value
11. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.2 ระบบบริหารคุณภาพ			
11.1 = 0 ข้อ	1.00	0.45 - 2.70	0.83
11.2 > 0 ข้อ	1.11		
12. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.3 การควบคุมเอกสาร			
12.1 ≤ 2 ข้อ	1.00	1.32 - 9.69	0.01*
12.2 > 2 ข้อ	3.58		
13. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.4 การทบทวนสัญญา			
13.1 = 0 ข้อ	1.79	0.56 - 5.88	0.33
13.2 > 0 ข้อ	1.00		
14. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.5 การตรวจโดยห้องปฏิบัติการรับตรวจต่อ			
14.1 = 0 ข้อ	1.00	0.64 - 4.48	0.29
14.2 > 0 ข้อ	1.70		
15. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.6 การจัดซื้อบริการภายนอกและวัสดุ			
15.1 = 0 ข้อ	1.00	0.56 - 4.00	0.42
15.2 > 0 ข้อ	1.50		
16. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.7 การให้บริการคำแนะนำ			
16.1 = 0 ข้อ	1.41	0.38 - 1.96	0.62
16.2 > 0 ข้อ	1.00		
17. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนด 4.8 การแก้ไขข้อร้องเรียน			
17.1 = 0 ข้อ	4.17	0.93 - undefined	0.06
17.2 > 0 ข้อ	1.00		
18. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.9# การควบคุมสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด			
18.1 = 0 ข้อ	1.79	0.68 - 4.76	0.24
18.2 > 0 ข้อ	1.00		
19. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.10 ปฏิบัติการแก้ไข			
19.1 = 0 ข้อ	1.00	0.35 - 3.72	0.84
19.2 > 0 ข้อ	1.13		

ตารางที่ 3 ปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (ค่าอ้างอิงกลุ่ม 216 วัน) (ต่อ)

ปัจจัย	อัตราส่วนออด (Odds Ratio)	95% CI (Min – Max)	p-value
20. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.11 การปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง			
20.1 = 0 ข้อ	1.00	0.28 - 4.47	0.87
20.2 > 0 ข้อ	1.13		
21. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.12 การปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง			
21.1 = 0 ข้อ	1.00	0.36 - 2.77	1.00
21.2 > 0 ข้อ	1.00		
22. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.13# บันทึกด้านคุณภาพและวิชาการ			
22.1 = 0 ข้อ	1.00	0.73 - 4.74	0.19
22.2 > 0 ข้อ	1.87		
23. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 4.14 การตรวจติดตามภายใน			
23.1 = 0 ข้อ	5.95	0.47 - 3.33	0.65
23.2 > 0 ข้อ	1.00		
24. จำนวนข้อบกพร่องจาก ข้อกำหนดที่ 4.15# การทบทวนการบริหารจัดการ			
24.1 = 0 ข้อ	3.33	1.22- 9.09	0.02*
24.2 > 0 ข้อ	1.00		
25. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.1 บุคลากร			
25.1 ≤ 1 ข้อ	1.00	0.92 - 6.05	0.08
25.2 > 1 ข้อ	2.36		
26. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.2 สถานที่และสิ่งแวดล้อม			
26.1 ≤ 1 ข้อ	1.00	0.82 - 5.30	0.12
26.2 > 1 ข้อ	2.09		
27. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.3 เครื่องมือห้องปฏิบัติการ			
27.1 ≤ 2 ข้อ	1.00	0.55 - 3.32	0.51
27.2 > 2 ข้อ	1.35		
28. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.4 ระเบียบปฏิบัติก่อนการตรวจวิเคราะห์			
28.1 ≤ 2 ข้อ	1.00	0.46 - 3.00	0.74
28.2 > 2 ข้อ	1.17		

ตารางที่ 3 ปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง (ค่าอ้างอิงกลุ่ม 216 วัน) (ต่อ)

ปัจจัย	อัตราส่วนออด (Odds Ratio)	95% CI (Min – Max)	p-value
29. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.5 ขั้นตอนการทดสอบ			
29.1 ≤ 3 ข้อ	1.00	0.50 - 2.99	0.66
29.2 > 3 ข้อ	1.22		
30. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.6 การประกันคุณภาพวิธีทดสอบ			
30.1 ≤ 2 ข้อ	1.00	0.83 - 5.18	0.12
30.2 > 2 ข้อ	2.08		
31. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.7 การดำเนินการหลังการตรวจวิเคราะห์			
31.1 = 0 ข้อ	1.00	0.82 - 5.30	0.12
31.2 > 0 ข้อ	2.09		
32. จำนวนข้อบกพร่องจากข้อกำหนดที่ 5.8 การรายงานผล			
32.1 ≤ 1 ข้อ	1.00	0.47 - 2.98	0.73
32.2 > 1 ข้อ	1.18		

*มีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p-value < 0.05

2.2 การวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก (Multiple logistic regression)

เพื่อลดอคติจากปัจจัยกวน (Confounding factors) จึงได้ศึกษาความสัมพันธ์ของพหุปัจจัยต่อระยะเวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่อง โดยนำข้อมูลจาก clued odds ratio มานำเข้าสมการการถดถอยพหุโลจิสติก (ตารางที่ 4)

จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง และจำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากข้อกำหนดที่ 4.3, 4.9, 4.13 และ 4.15 เป็นปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง โดย model นี้ใช้สำหรับการพยากรณ์ โดยมีความไวที่ 80.56% และความจำเพาะ 72.5%

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาที่ใช้ในการแก้ไขข้อบกพร่องที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก (Multiple logistic regression)

ปัจจัยสัมพันธ์กับระยะเวลาแก้ไข	Adjusted Odds Ratio	p-value	[95% Conf. Interval]	
จำนวนปีที่รับรอง				
≤ 4 ปี	1.00	0.012	1.42	16.69
> 4 ปี	4.86			
จำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากข้อกำหนดที่ 4.3 การควบคุมเอกสาร				
≤ 2 ข้อ	1.00	0.002	2.16	35.89
> 2 ข้อ	8.80			
จำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากข้อกำหนดที่ 4.9 การระบุและการควบคุมสิ่งไม่สอดคล้อง				
= 0 ข้อ	4.54	0.038	1.09	20.00
> 0 ข้อ	1.00			
จำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากข้อกำหนดที่ 4.13 การควบคุมบันทึก				
= 0 ข้อ	1.00	0.048	1.01	14.43
> 0 ข้อ	3.83			
ข้อกำหนดที่ 4.15 การทบทวนระบบบริหาร				
24.1 = 0 ข้อ	4.54	0.028	1.18	16.67
24.2 > 0 ข้อ	1.00			

วิจารณ์

การศึกษาในครั้งนี้ได้นำข้อมูลทั้งหมดของห้องปฏิบัติการที่ได้รับจากการตรวจประเมินและได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ในช่วงปี พ.ศ. 2553 – 2556 เพื่อลดความผิดพลาดที่เกิดจากการสุ่มตัวอย่าง

จากการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องของปัจจัยทั้ง 9 ข้อ โดยใช้ pair t-test พบว่า

1. หากห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองมากกว่า 4 ปี จะใช้ระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองไม่เกิน 4 ปี ที่ p-value < 0.05 ซึ่งจะสอดคล้องกับการหาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มปัจจัยกับระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่อง โดยใช้ Binomial study และ Odds ratio ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองเกิน 4 ปี จะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าถึง 3.67 เท่า และเมื่อตัดปัจจัยรบกวนออกโดยใช้การวิเคราะห์สมการ Multiple logistic regression ก็จะได้ผลในลักษณะเดียวกัน จึงเป็นการแสดงการยืนยันผลการศึกษาที่ว่า หากห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองความสามารถนานกว่า 4 ปี จะมีโอกาสที่จะใช้เวลาในการแก้ไขข้อบกพร่องได้นานกว่า ถึง 4.86 เท่า (Adjusted Odds ratio)

2. หากห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่องรวมมากกว่า 23 ข้อ จะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับข้อบกพร่องไม่เกิน 23 ข้อ ที่ p-value < 0.05 แต่ปัจจัยนี้ไม่ได้มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อระยะเวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่อง ที่ p-value > 0.5 จากการวิเคราะห์โดย Binomial study และ Odds ratio และพบว่ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับข้อบกพร่องที่ได้รับด้านวิชาการรวมถึง 2.60 เท่า (p-value < 0.5) แต่ไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับข้อบกพร่องที่ได้รับด้านบริหารจัดการรวม แสดงว่า

2.1 หากห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่องด้านวิชาการรวมจำนวนมากจะมีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง โดยไม่ได้เกิดจากปัจจัยข้อบกพร่องด้านวิชาการข้อใดข้อหนึ่งโดยเฉพาะ

2.2 ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการในบางข้อจะมีความสัมพันธ์โดยตรงต่อระยะเวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่อง โดยไม่จำเป็นต้องได้ข้อบกพร่องนั้นจำนวนมาก ได้แก่ ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการในข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร และข้อ 4.15 การทบทวนระบบบริหาร โดยห้องปฏิบัติการหากได้รับข้อบกพร่องข้อ 4.3 มากกว่า 2 ข้อ จะใช้เวลาแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่าถึง 3.58 เท่า และหากได้รับข้อบกพร่องข้อ 4.15 ตั้งแต่ 1 ข้อขึ้นไป ห้องปฏิบัติการจะแก้ไขข้อบกพร่องได้เร็วกว่าห้องปฏิบัติการที่ไม่ได้รับข้อบกพร่องข้อนี้ถึง 3.33 เท่า

3. เมื่อตัดปัจจัยรบกวนออก โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก (Multiple logistic regression) จะพบว่ายังมีปัจจัยด้านบริหารจัดการอีก 2 ข้อ ที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง ได้แก่ จำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับจากข้อกำหนดด้านบริหารจัดการในข้อ 4.9 การควบคุมสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด และข้อ 4.13 บันทึกด้านคุณภาพและวิชาการ โดยหากได้รับข้อบกพร่องข้อ 4.9 ตั้งแต่ 1 ข้อขึ้นไป ห้องปฏิบัติการจะแก้ไขข้อบกพร่องได้เร็วกว่าถึง 4.54 เท่า (Adjusted Odds ratio) และหากได้รับข้อบกพร่องข้อ 4.13 ตั้งแต่ 1 ข้อขึ้นไป จะทำให้ห้องปฏิบัติการแก้ไขข้อบกพร่องนานกว่า 3.83 เท่า (Adjusted Odds ratio) โดยมีความไวที่ 80.56% และความจำเพาะ 72.5%

จากผลการศึกษาของ Bella Ho และ Eric Ho เรื่อง the most common nonconformities encountered during the assessments of medical laboratories in Hong Kong using ISO 15189 as accreditation criteria[5] จะพบว่าจำนวนข้อบกพร่องที่ได้จากการตรวจต่ออายุการรับรองจะมีจำนวนน้อยกว่าข้อบกพร่องที่ได้จากการตรวจประเมินในครั้งแรก แต่ไม่ได้มีการศึกษาเรื่องระยะเวลาในการแก้ไข นอกจากนี้ยังพบว่าข้อบกพร่องที่ 4.3 เรื่อง การควบคุมเอกสาร และข้อบกพร่องที่ 4.13 เรื่อง การควบคุมบันทึก เป็นข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการที่พบได้สูงสุดในอันดับที่ 2 และ 3 ตามลำดับ และจากผลการศึกษาของนางสาวเสาวนีย์ อารมย์สุข และคณะ เรื่องแนวโน้มข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขของหน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการทดสอบสาธารณะ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005 ระหว่างปี พ.ศ. 2551 – 2554[4] พบว่าข้อบกพร่องข้อ 4.3 เรื่องการควบคุมเอกสาร และข้อบกพร่องข้อที่ 4.13 เรื่องการควบคุมบันทึก เป็นข้อบกพร่องที่พบได้สูงสุดอันดับ 3 และอันดับ 7 ตามลำดับ ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยหวังว่าจะช่วยเปิดมุมมองใหม่ๆ กับองค์กรรับรองของแต่ละประเทศ และห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขที่อยู่ในระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 หรือตามมาตรฐาน ISO อื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง หรือกำลังดำเนินการตามระบบคุณภาพ ตามมาตรฐาน ISO 15189 ได้ตระหนักถึงและนำไปพิจารณาในการพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการต่อไป

สรุป

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาแก้ไขข้อบกพร่องจากการตรวจประเมิน ตามมาตรฐาน ISO 15189 พบว่า จำนวนปีที่ได้รับการรับรอง และจำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับทั้งหมด เป็นปัจจัยของการรับรองที่มีผลต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง และจากการศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยจากการวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก และ

Odds Ratio พบว่า ข้อบกพร่องด้านบริหารจัดการ ในข้อ 4.3 เรื่อง การควบคุมเอกสาร ข้อ 4.9 เรื่อง การระบุและการควบคุมสิ่งไม่สอดคล้อง ข้อ 4.13 เรื่อง การควบคุมบันทึก ข้อ 4.15 เรื่อง การทบทวนระบบบริหารจัดการ ร่วมกับปัจจัยของจำนวนปีที่ได้รับการรับรอง มีความสัมพันธ์ต่อระยะเวลาการแก้ไขข้อบกพร่อง ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเรื่องเกี่ยวกับเอกสารและการตรวจสอบระบบคุณภาพ ดังนั้น ผู้วิจัยเสนอให้ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ดำเนินการตามระบบคุณภาพ มาตรฐาน ISO 15189 ควรนำปัจจัยดังกล่าวประกอบการพิจารณากำหนดกิจกรรมในแผนพัฒนาคุณภาพ เพื่อให้มีการกระตุ้นเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีความรู้ความเข้าใจในระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง ปฏิบัติสอดคล้องกับมาตรฐาน ISO 15189 อย่างสม่ำเสมอ ครอบคลุมทั้งบุคลากรเดิมและบุคลากรใหม่ และควรนำปัจจัยที่มีผลต่อการแก้ไขข้อบกพร่องไปพิจารณากำหนดเกณฑ์การตรวจติดตามระบบคุณภาพ (Audit criteria) ไว้ในแผนการตรวจติดตามระบบคุณภาพประจำปี เพื่อธำรงรักษาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากลไว้ตลอดไป ดังนั้นเมื่อมีการตรวจประเมินเพื่อขอการรับรอง การตรวจต่ออายุการรับรอง หรือขยายขอบข่ายการรับรองห้องปฏิบัติการจะสามารถแก้ไขข้อบกพร่อง ข้อสังเกตได้อย่างรวดเร็ว เพื่อให้เวลาที่ใช้แก้ไขข้อบกพร่องเฉลี่ยได้ตามเวลามาตรฐานที่กำหนดไว้ในกระบวนการรับรองต่อไป

ความสามารถธำรงรักษาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการไว้อย่างต่อเนื่องจึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อห้องปฏิบัติการ ทำให้เกิดความเชื่อมั่นกับผู้มารับบริการ ได้แก่ แพทย์ พยาบาล คนไข้ ญาติคนไข้ เจ้าหน้าที่สาธารณสุขอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง ในการได้รับบริการทางห้องปฏิบัติการอย่างมีมาตรฐาน บุคลากรมีความมั่นใจในการปฏิบัติงาน และมีผลต่อภาพลักษณ์และชื่อเสียงต่อองค์กรและประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ที่ขอการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐาน ISO 15189 ต่อสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งใช้เป็นแหล่งข้อมูลในการศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่กลุ่มรับรองห้องปฏิบัติการ 1 ทุกท่าน ที่สนับสนุนข้อมูลการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการที่รับผิดชอบ เพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences. APLAC/ILAC MRA [online]. 2015. [cited 2015 Aug 9]; [2 screens]. Available from: URL: http://blqs.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetileng.php?id=94.
2. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. หน่วยงานที่ผ่านการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านการแพทย์หรือชันสูตรสาธารณสุข (ISO15189) [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 9 ก.ย. 2558]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_qa/dbqa/default.asp?iID=LEDGD.
3. ISO 15189: 2007. Medical laboratories - Particular requirements for quality and competence. Geneva, Switzerland: ISO; 2007.
4. เสาวนีย์ อารมณ์สุข, ชมไฉไล สินธุสาร, อรัญ ทนันขัติ และสุวรรณา จารุนุช. การศึกษาแนวโน้มข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ของหน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการทดสอบสาธารณะ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ระหว่างปี พ.ศ. 2551 - พ.ศ. 2554. วารสารออนไลน์สำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ 2556; 9(25): 6-15.
5. Ho B, Ho E. The most common nonconformities encountered during the assessments of medical laboratories in Hong Kong using ISO 15189 as accreditation criteria. Biochem Med 2012; 22(2): 247-57.

6. R 07 15 001. นโยบายข้อกำหนดและเงื่อนไขการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านการแพทย์และสาธารณสุข. นนทบุรี : สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2558.
7. ปุญญพัฒน์ ไชยเมล์. รูปแบบการวิจัย (Study design). [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 5 เม.ย. 2558]; [43 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://hsmi.psu.ac.th/upload/forum/StudyDesign.pdf.
8. ชูศรี วงศ์รัตนะ. เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย. พิมพ์ครั้งที่ 10, กรุงเทพฯ : คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2550.
9. ยุทธ ไกยวรรณ์. หลักการและการใช้การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกสำหรับการวิจัย. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 2555; 4(1): 1-12.
10. อุทัยทิพย์ เจี่ยวิวรรธน์กุล. การวิเคราะห์การถดถอยพหุโลจิสติก. ใน : เอกสารประกอบการบรรยาย Research Zone Phrase 14. วันที่ 7 เมษายน 2553. กรุงเทพฯ : สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ; 2553.
11. บัณฑิต ถิ่นคำรพ. การวิเคราะห์ข้อมูลแจงนับโดยใช้การถดถอยโลจิสติก. ขอนแก่น : คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น; 2539.

Factors Affected the Duration of Corrective Action Time of Medical Laboratory Assessment According to ISO 15189

Natamol Tianmanee Suthon Vongsheree Surasak Muenpon
Panadda Vironboonyaphat and Chomchailai Sinthusarn
Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT This study emphasized the factors that affected the corrective action time of the medical laboratory assessment according to ISO 15189. This study was a retrospective studied of 76 laboratories during January 2010 - December 2013. That were used descriptive statistics and analytic statistics were showing the correlation of factors by multiple logistic regression and odds ratio at p-value less than 0.5. Factor affected the corrective action time include the number of accredited years, if more than 4 years will be spent more time than the other one that have no later than average four years to 3.67 times were using 245 ± 96 days and 189 ± 74 days, respectively. Total numbers of total nonconformities if the laboratory has got more than average 23 clauses will be spent more time than the other one that have no more than 23 clauses were using a 240 ± 88 days and 181 ± 85 days, respectively. The correlation level of defects, using multiple logistic regression was showed that 1) factors affected the corrective action time faster completion include the defect of 4.9 identify of nonconformity clause and 4.15 management review clause. 2) factors affected the corrective action time longer completion include the number of accredited years, the defect of 4.3 document control clause and 4.13 control of record clause. Among the factors that are related to the corrective action time were statistically significant at p-value less than 0.05. Most of affected clause are documenting and monitoring systems. It should be taken into account in development plans, activities and determine the audit criteria for monitoring the quality system in the annual quality monitoring plan. To maintain laboratory quality systems based on international standards.

Key words: ISO 15189, Factors Affected the Duration of Corrective Action Time, Medical Laboratory Accreditation, Odds Ratio, Multiple logistic regression

ความเสี่ยงสุขภาพของเจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์

ราเมศ กรณีย์ อนุสรณ์ ดิษฐสวรรค์ และศิริพร ป้อมใย

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ อำเภอเมือง นครสวรรค์ 60000

บทคัดย่อ ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสุขภาพของคนไทยจากสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนสารเคมีและสารก่อมะเร็งเพิ่มมากขึ้น ได้ศึกษาความเสี่ยงสุขภาพของเจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ เพื่อเป็นการป้องกันและเฝ้าระวังสุขภาพของเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการและไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการรวมถึงเพื่อให้ทราบถึงความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง ในปี พ.ศ. 2555 ได้ศึกษาโดยการเจาะเลือดเจ้าหน้าที่ จำนวน 37 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 คน (ร้อยละ 54) และกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 17 คน (ร้อยละ 46) พบว่า การตรวจค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) ในรายการตรวจทั้งหมดอยู่ในช่วงปกติ และค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการสูงกว่ากลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (mean $\pm$ SD) เท่ากับ 2.47 $\pm$ 1.56 cell/1,000 BN cell และ 1.35$\pm$1.87 cell/1,000 BN cell ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งค่าความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของทั้งสองกลุ่มไม่เกินค่าปกติของความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียส คือ อยู่ในช่วง 0-5 cell/1,000 BN cell อย่างไรก็ตามกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการแต่มีค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสสูง อาจเนื่องจากการได้รับสัมผัสจากปัจจัยอื่น เช่น สัมผัสสารเคมีทางอ้อม การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ การได้รับสารตะกั่วจากการทาสีอาคารบ้านเรือน จากกรรมพันธุ์ การได้รับสารเคมีที่เป็นพิษในการก่อมะเร็ง สารที่มีพิษต่อการทำลายเซลล์ หรือการได้รับรังสีจากการเอกซเรย์ ข้อมูลที่ได้เป็นประโยชน์สำหรับเจ้าหน้าที่ในการเฝ้าระวังและป้องกันตัวเองต่อการได้สัมผัสสารเป็นพิษทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งหน่วยงานควรมีการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ค่าความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสและการตรวจค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) เป็นพารามิเตอร์ในการตรวจติดตามการเกิดมะเร็ง (Cancer Risk Biomarker)ได้

Accepted for publication, 22 September 2015

บทนำ

ปัจจุบันมีการนำเข้าสารเคมีอันตรายเข้ามาใช้ในประเทศไทยเป็นปริมาณที่มากขึ้นทุกปี สารเคมีอันตราย เมื่อมีการใช้และสัมผัสเป็นเวลานาน ๆ อาจก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา เช่น เกิดโรคมะเร็งผิวหนัง และการผิดปกติของเซลล์ในร่างกายและก่อกลายพันธุ์เป็นเซลล์ชนิดร้ายได้ ห้องปฏิบัติการที่มีการใช้สารเคมีอันตรายนับว่ามีความเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติดังกล่าว[1] การทำลายสารพันธุกรรมหรือดีเอ็นเอ (DNA damage) ภายในเซลล์อาจเกิดจากการได้รับอันตรายจากปัจจัยทางกายภาพ (physical agent) ได้แก่ รังสี แสงอัลตราไวโอเลต และปัจจัยทางเคมี (chemical agent) ได้แก่ สารพิษที่มีผลต่อดีเอ็นเอ (genotoxin) รวมทั้งสารก่อกลายพันธุ์ (mutagens) เป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนแปลงสารพันธุกรรมในนิวเคลียส และมีผลโดยตรงต่อความผิดปกติหรือการถูกทำลายของสารพันธุกรรม[2] ประกอบกับมีรายงานการศึกษาในต่างประเทศพบว่าการทำงานในห้องปฏิบัติการที่ต้องสัมผัสสารเคมีอันตราย สารรังสีในระดับต่ำ ๆ เป็นเวลานาน ถ้าไม่มีความระมัดระวังในการจัดการสิ่งแวดล้อมการทำงานที่ปลอดภัย ผู้ที่ได้รับสัมผัสมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งสูง[3]

การดื่มแอลกอฮอล์ยังเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งด้วยดังที่ The National Institutes of Public Health ของประเทศเดนมาร์ก ได้ทำการศึกษาพฤติกรรมการใช้ชีวิตของประชากรชายชาวเดนมาร์ก จำนวน 30,000 คน พบว่าผู้ชายที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากกว่าวันละ 2 แก้ว ทุกวัน จะมีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย (Rectal cancer) มากกว่าผู้ที่ไม่ดื่มสามเท่า และผู้หญิงที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์วันละครึ่งแก้วทุกวันจะมีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งเต้านมมากกว่าผู้หญิงทั่วไป 6 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผู้หญิงที่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์มากกว่าวันละ 2 แก้วทุกวัน จะมีความเสี่ยงต่อโรคมะเร็งเต้านมมากกว่าผู้หญิงทั่วไป 21 เปอร์เซ็นต์ และ The American Cancer Society รายงานว่าในจำนวนผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ และเสียชีวิตจากโรคมะเร็งปอดนั้น มีผู้ที่สูดควันบุหรี่มือสองเป็นจำนวนถึง 3,000 คน และผู้ที่ได้รับสารพิษที่ตกค้างจากควันบุหรี่ในสิ่งแวดล้อม เช่น เส้นผม เสื้อผ้า ผนัง และเฟอร์นิเจอร์ ก็มีความเสี่ยงที่จะได้รับสารเคมีและสารก่อมะเร็ง โดยเฉพาะสารตะกั่วมากเช่นเดียวกับบุหรี่มือสอง นอกจากนี้สารเคมีในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดในบ้านยังส่งผลเสียต่อร่างกายด้วย ดังผลการศึกษาที่ตีพิมพ์ในวารสาร Occupational and Environmental Medicine ที่พบว่าสารเคมีจากผลิตภัณฑ์ในครัวเรือนนั้นมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคมะเร็งเม็ดเลือดขาวในเด็ก[4]

การตรวจสอบความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมในสิ่งมีชีวิตหรือการประเมินความเสียหายที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซม (chromosome aberration) เมื่อสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์ในร่างกาย โดยใช้การทดสอบไมโครนิวเคลียส (micronucleus test) ซึ่งชิ้นส่วนของโครโมโซมที่เกิดการแตกหักได้รับความเสียหายและไม่สามารถรวมตัวเป็น daughter nuclei จึงเกิดเป็นไมโครนิวเคลียส (micronucleus) ที่มีขนาดเล็กกว่านิวเคลียสหลักอยู่ในเซลล์ ซึ่งถูกนำมาใช้เป็น Biomarker (Marker of early effect)[5, 6] สำหรับเซลล์เม็ดเลือดขาวที่มีการแตกตัวของนิวเคลียส ความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสมีค่าปกติอยู่ในช่วง 0-5 cell/1,000 BN cell[7] นอกจากนี้การตรวจค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count; CBC) ทางโลหิตวิทยา ก็เป็นส่วนสำคัญอีกอย่างหนึ่งในการตรวจขั้นพื้นฐานที่ใช้ในการบ่งชี้สุขภาพเริ่มต้นของอาสาสมัครได้[8] โดยการตรวจ CBC ประกอบด้วย การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell count; WBC) การตรวจปริมาณฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) การตรวจปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Haematocrit; Hct) การนับแยกชนิดของเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell differentiation) การตรวจดูสัณฐานวิทยาหรือลักษณะรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง (Red blood cell morphology) และคาดการณ์จำนวนเกล็ดเลือด (Platelet estimation) รวมถึงความผิดปกติของเกล็ดเลือด[9]

จากการศึกษาความเสียหายระดับดีเอ็นเอและระดับเซลล์ โดยวิธีโคเมทแอสเสย์และไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวและตรวจวัดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มของเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องในห้องปฏิบัติการ

ที่มีการใช้สารเคมีอันตรายของกลุ่มงานพิษวิทยาและชีวเคมี สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พบว่า ค่าเฉลี่ยความถี่ของการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของเจ้าหน้าที่ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับสารเคมีอันตรายกับกลุ่มที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับสารเคมีอันตรายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กล่าวคือ กลุ่มที่เกี่ยวข้องกับสารเคมีอันตรายมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งมากกว่ากลุ่มที่ไม่เกี่ยวข้องกับสารเคมีอันตราย[8]

ผู้ศึกษาวิจัยจึงได้ทำการศึกษาความเสี่ยงสุขภาพของเจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ เพื่อเป็นการป้องกันและเฝ้าระวังสุขภาพของเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องกับการได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการและไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ รวมถึงเพื่อให้ทราบถึงความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง

ดำเนินการในปี พ.ศ. 2555 ตัวอย่างเลือดที่เจาะจากเจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ จำนวน 37 คน โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 คน คือ เจ้าหน้าที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ และกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 17 คน คือ เจ้าหน้าที่ที่ไม่ได้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ เช่น เจ้าหน้าที่ฝ่ายบริหารทั่วไป เจ้าหน้าที่กลุ่มพัฒนาคุณภาพและวิชาการ เป็นต้น

ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ เจ้าหน้าที่ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ได้ยินยอมเข้าร่วมโครงการทั้งสองกลุ่ม และทั้งสองกลุ่มจะต้องเป็นเพศชายหรือเพศหญิงที่มีอายุระหว่าง 20-60 ปี ไม่มีโรคประจำตัว ได้แก่ โรคตับ โรคมะเร็ง โรคภูมิแพ้ โรคระบบทางเดินหายใจ โรคเลือด และไม่ได้รับการถ่ายภาพรังสีในช่วง 6 เดือนที่ผ่านมา

เครื่องมือและอุปกรณ์

pH meter ผลิตภัณฑ์ของ Mettler Toledo, Aerobic incubator และ Water bath ผลิตภัณฑ์ของ Memmert, Vortex mixer ผลิตภัณฑ์ของ Vortex - Genie, Centrifuge ผลิตภัณฑ์ของ Hettich, autoclave ผลิตภัณฑ์ของ Tomy digital, Safety cabinet class II ผลิตภัณฑ์ของ Esco, Analytical Balance ผลิตภัณฑ์ของ Sartorius, กล้องจุลทรรศน์ ผลิตภัณฑ์ของ Nikon กำลังขยาย 100 x Light Microsone

อุปกรณ์ทั่วไป

ขวดเลี้ยงเซลล์แบบ disposable หรือ reusable พร้อมจุกยางหรือฝาปิด, หลอดเก็บตัวอย่างเลือด (sterile lithium heparinized tube) ขนาด 4 และ 10 มิลลิลิตร, เข็มเจาะเลือด เบอร์ 22-23 พร้อม syringe ขนาด 10-12 มิลลิลิตร, tank แก้วพร้อมฝาปิดสำหรับย้อมสไลด์และแผ่นสไลด์ชนิดริมฝ้า และ cellulose nitrate filter membrane ที่มี pore size 0.2 ไมโครเมตร

สารเคมีและอาหารเลี้ยงเซลล์

สารเคมีทุกชนิดเป็น AR grade ประกอบด้วย Methanol, Hydrochloric acid และ Disodium hydrogenphosphate ผลิตภัณฑ์ของ Carlo Erba, Potassium chloride, Potassium dihydrogenphosphate,

Glacial acetic acid และ Feulgen stain ผลิตภัณฑ์ของ Merck, Sodium hydroxide ผลิตภัณฑ์ของ J.T. Baker, Formaldehyde ผลิตภัณฑ์ของ Lab Scan, Penicillin ผลิตภัณฑ์ของ Sandoz, Steptromycin ผลิตภัณฑ์ของ X-GEN, Ultra pure water, RPMI 1640 Medium ที่มี L-glutamine และไม่มี sodium bicarbonate, Phytohemagglutinin (M form) และ Fetal bovine serum ผลิตภัณฑ์ของ Gibco, Mitomycin C ผลิตภัณฑ์ของ Bedford, Cytochalasin B และ L-glutamine G 7513 ผลิตภัณฑ์ของ Sigma

วิธีเตรียมสารละลายและอาหารเลี้ยงเซลล์

Hypotonic solution หรือ 0.075 M potassium chloride ละลาย potassium chloride 2.81 กรัม ด้วย ultra pure water 500 มิลลิลิตร

1 N Hydrochloric acid เจือจาง hydrochloric acid 17 มิลลิลิตร ด้วย ultra pure water 200 มิลลิลิตร

1 N Sodium hydroxide ละลาย sodium hydroxide 8 กรัม ด้วย ultrapure water 200 มิลลิลิตร

Fixative reagent เตรียมสารละลายผสมของ methanol 15 มิลลิลิตร acetic acid 5 มิลลิลิตร เตรียมใช้ทันทีภายใน 1 วัน

RPMI 1640 Medium ที่มี L-glutamine และไม่มี sodium bicarbonate ละลาย RPMI 1640 1 ซอง ด้วย ultrapure water 1 ลิตร ปรับ pH ให้ได้ 7.2 ด้วย 1 N hydrochloric acid และ 1 N sodium hydroxide และทำการฆ่าเชื้อโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง cellulose nitrate filter membrane เก็บใส่ตู้เย็น 4-8 องศาเซลเซียส

Phytohemagglutinin solution ละลาย Phytohemagglutinin ในรูป lyophilized ด้วย ultra pure water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร หรือเตรียมและเก็บตามคำแนะนำข้างภาชนะบรรจุ

Mitomycin C solution ละลาย Mitomycin C 2 มิลลิกรัม ด้วย ultrapure water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ในขวดแก้วสีชา จะได้ความเข้มข้นของ stock solution 0.4 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร และเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Cytochalacin B solution ละลาย Cytochalacin B 5 มิลลิกรัม ด้วย ultrapure water ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 5 มิลลิลิตร ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

Fetal bovine serum เตรียมและเก็บตามคำแนะนำข้างภาชนะบรรจุ

Penicillin เตรียมและเก็บตามคำแนะนำข้างภาชนะบรรจุ โดยอัตราส่วนที่ใช้ 100 Units/มิลลิลิตร

Steptromycin เตรียมและเก็บตามคำแนะนำข้างภาชนะบรรจุ โดยอัตราส่วนที่ใช้ 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

อาหารเลี้ยงเซลล์ ประกอบด้วย RPMI 1640 Medium 4 มิลลิลิตร, fetal bovine serum 1 มิลลิลิตร, penicillin 100 ไมโครลิตร, steptromycin 100 ไมโครลิตร, phytohemagglutinin 100 ไมโครลิตร

วิธีการทดสอบ

การทดสอบไมโครนิวเคลียส (micronucleus test) คือ การตรวจวัดความเป็นพิษระดับเซลล์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ โดยนำเลือดจากอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่ม คนละ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์อยู่ภายใน จากนั้นนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อถึงเวลาชั่วโมงที่ 44 เติม cytochalasin B solution จำนวน 30 ไมโครลิตร และ incubate ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนครบ 72 ชั่วโมง จากนั้น havest cells โดยทำเซลล์ให้บวมด้วย hypotonic solution จำนวน 10 มิลลิลิตร ตามด้วยการใช้

fixative solution จำนวน 5 มิลลิลิตร เพื่อสกัดแยกเซลล์ออกมา นำเซลล์ที่ได้หยดลงแผ่นสไลด์ที่สะอาดและแห้ง และนำไปย้อมด้วย feulgen stain นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปวิเคราะห์ผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ วิเคราะห์จำนวน micronuclei ใน binucleate cell จำนวน 1,000 เซลล์

การควบคุมคุณภาพ การทดสอบไมโครนิวเคลียส (micronucleus test) ต้องทำ 2 ซ้ำ ทุกตัวอย่าง และต้องทำ positive control โดยการเติม mitomycin C solution ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดเลี้ยงเซลล์ที่เตรียมไว้ในหัวข้อวิธีทดสอบ ซึ่งเป็นขวดเลี้ยงเซลล์ที่มีตัวอย่างเลือด ซึ่งเลือกจากตัวอย่างเลือดที่ต้องการทดสอบมาทำ โดยเติมที่เวลา 24 ชั่วโมงก่อน harvest cells

การตรวจค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) ของอาสาสมัครประกอบด้วย การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาว (White blood cell count; WBC count) การนับจำนวนเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell Count; RBC) การตรวจปริมาณฮีโมโกลบิน (Haemoglobin) การตรวจปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Haematocrit; Hct) การตรวจจำนวนเกล็ดเลือด (Platelet estimation) และความผิดปกติของเกล็ดเลือด ได้แก่ Lymphocyte, Eosinophils, Monocytes, Basophils, MCV และ MCH เป็นต้น โดยการนำส่งเลือดตรวจ ณ โรงพยาบาลอุทัยธานี จังหวัดอุทัยธานี

การวิเคราะห์ข้อมูล โดยใช้โปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวระหว่างกลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการและกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ

ผล

กลุ่มตัวอย่างเป็นเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ จำนวน 37 คน โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 20 คน (ร้อยละ 54) เป็นเพศชาย 5 คน เพศหญิง 15 คน อายุต่ำกว่า 35 ปี 14 คน อายุ 35 ปีขึ้นไป 6 คน และกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ จำนวน 17 คน (ร้อยละ 46) เป็นเพศชาย 7 คน เพศหญิง 10 คน อายุต่ำกว่า 35 ปี 11 คน อายุ 35 ปีขึ้นไป 6 คน (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ข้อมูลทั่วไป	กลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (คน/ร้อยละ)	กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (คน/ร้อยละ)
รวม	17 (46)	20 (54)
อายุต่ำกว่า 35 ปี	11 (29.8)	14 (37.8)
อายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป	6 (16.2)	6 (16.2)
เพศชาย	7 (19)	5 (13.5)
เพศหญิง	10 (27)	15 (40.5)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจความสมบูรณ์ของเลือด

		กลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (Mean ± SD)	กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (Mean ± SD)	ค่าปกติ
Complete Blood Count	Haemoglobin (g/dl)	13.81 ± 1.87	13.32 ± 1.63	ชาย 13-18 หญิง 11-16
	Haematocrit (%)	41.11 ± 5.67	40.70 ± 4.70	ชาย 35-49 หญิง 32-42
	WBC (× 10^3 cell/ul)	6.70 ± 1.74	6.79 ± 2.19	4.5-10
	RBC (× 10^6 cell/ul)	5.03 ± 1.22	4.86 ± 0.55	ชาย 4.7-6.1 หญิง 4.2-5.2
	Lymphocytes (%)	36.48 ± 7.04	34.98 ± 7.79	20-35
	Eosinophils (%)	3.42 ± 2.92	4.08 ± 6.97	1-3
	Monocytes (%)	7.10 ± 1.91	6.82 ± 2.44	2-6
	Basophil (%)	0.46 ± 0.30	0.74 ± 0.47	0-1
	MCV (fL)	87.39 ± 8.70	83.33 ± 8.70	ชาย 82.2-99.5 หญิง 80.0-94.5
	MCH (pg)	28.71 ± 3.07	27.29 ± 3.18	26.5-31.2
	Platelets (× 10^3 cell/ul)	265.12 ± 63.36	398.28 ± 612.46	140-400

ผลการตรวจความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) พบว่าค่าความสมบูรณ์ของเลือดทุกรายการของกลุ่มตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่ม อยู่ในช่วงของค่าปกติ (ตารางที่ 2)

พบว่าค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกลุ่มได้สัมผัสและไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ (mean ± SD) เท่ากับ 1.35 ± 1.87 cell/1,000 BN cell และ 2.47 ± 1.56 cell/1,000 BN cell ตามลำดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อจำแนกตามอายุ พบว่ากลุ่มอายุต่ำกว่า 35 ปี (mean ± SD) เท่ากับ 1.37 ± 1.82 cell/1,000 BN cell และ 1.82 ± 1.72 cell/1,000 BN cell และกลุ่มอายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป (mean ± SD) เท่ากับ 1.82 ± 1.72 cell/1,000 BN cell และ 2.10 ± 1.20 cell/1,000 BN cell ตามลำดับ นอกจากนี้ พบว่า เพศชาย (mean ± SD) เท่ากับ 1.17 ± 1.58 cell/1,000 BN cell และ 2.31 ± 1.65 cell/1,000 BN cell และเพศหญิง (mean ± SD) เท่ากับ 1.37 ± 1.92 cell/1,000 BN cell และ 2.47 ± 1.50 cell/1,000 BN cell (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาว

	ค่าเฉลี่ยของการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาว Mean ± SD (cell/1,000 BN cell)		p-value
	กลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ	กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ	
ค่าเฉลี่ยรวม	2.47 ± 1.56	1.35 ± 1.87	p = 0.015
อายุน้อยกว่า 35 ปี	1.82 ± 1.72	1.37 ± 1.92	
อายุ 35 ปีขึ้นไป	2.10 ± 1.20	1.82 ± 1.72	
เพศชาย	2.31 ± 1.65	1.17 ± 1.58	
เพศหญิง	2.47 ± 1.50	1.37 ± 1.92	

วิจารณ์

ค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) ที่ตรวจสอบทุกรายการของทั้งสองกลุ่มตัวอย่างอยู่ในช่วงปกติ แสดงว่ากลุ่มตัวอย่างอยู่ในช่วงอายุ 20 – 60 ปี มีสุขภาพแข็งแรง และไม่มีโรคประจำตัว

ค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการสูงกว่ากลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งไม่สอดคล้องกับที่ควรจะเป็น คือ กลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการควรมีค่าเฉลี่ยการเกิดไมโครนิวเคลียสสูงกว่ากลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ และค่าเฉลี่ยความถี่ของการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของทั้งสองกลุ่มไม่เกิน 5 cell/1,000 BN cell ซึ่งค่าปกติของค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่ในช่วง 0-5 cell/1,000 BN cell(7)

อย่างไรก็ตามกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการแต่มีค่าเฉลี่ยความถี่ไมโครนิวเคลียสสูง อาจเนื่องจากการได้รับสัมผัสจากปัจจัยอื่น เช่น สัมผัสสารเคมีทางอ้อม การดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ การได้รับสารตะกั่วจากการทาสีอาคารบ้านเรือน จากกรรมพันธุ์ การได้รับสารเคมีที่เป็นพิษในการก่อมะเร็ง สารที่มีพิษต่อการทำลายเซลล์ หรือการได้รับรังสีจากการเอกซเรย์(7) และเมื่อทำการสอบถามเป็นรายบุคคลพบว่า เพศชาย กลุ่มอายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป มีการดื่มแอลกอฮอล์ การสูบบุหรี่ และการได้รับสารพิษจากการขับขี่รถจักรยานยนต์มาทำงานเป็นประจำ ซึ่งเป็นไปตาม The National Institutes of Public Health ของประเทศเดนมาร์ก ได้ทำการศึกษาพบว่าการดื่มแอลกอฮอล์เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง(4) และการศึกษาการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเยื่อบุกระพุ้งแก้มของผู้สูบใบยาสูบโดยใช้ตัวกรองเป็นประจำของ Ozkul Y. และคณะ พบว่ากลุ่มที่สูบบุหรี่ไม่ใช้ตัวกรองมีความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสสูงกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่ที่ใช้ตัวกรอง (mean ± SD) เท่ากับ 1.99 ± 0.30 และ 1.86 ± 0.26(10) ตามลำดับ แสดงว่าการสูบบุหรี่เป็นประจำทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสเพิ่มขึ้นและมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้ จากการศึกษาความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสที่เพิ่มขึ้นในเซลล์เม็ดเลือดขาวเพื่อทำนายความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในมนุษย์ของ Bonassil S. และคณะ โดยได้ทำการศึกษาความจำเป็นต่อการตรวจไมโครนิวเคลียสเพื่อเป็น Biomarker ต่อความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งในอาสาสมัคร 10 ประเทศ จำนวน 6,718 คน 20 ห้องปฏิบัติการ พบว่าการตรวจไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็น Biomarker นั้น สามารถทำนายความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งได้(11)

สรุป

ข้อมูลความเสี่ยงสุขภาพของเจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ โดยการตรวจค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC) พบว่าในรายการตรวจทั้งหมดอยู่ในช่วงปกติ และการตรวจความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสเพื่อทำนายความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง พบว่าค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของกลุ่มไม่ได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการสูงกว่ากลุ่มได้สัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการ ซึ่งไม่สอดคล้องกับที่ควรจะเป็นเนื่องจากกลุ่มไม่ได้รับสัมผัสสารเคมีอันตรายในห้องปฏิบัติการมีการรับสัมผัสจากปัจจัยอื่น ทั้งนี้พบว่าค่าเฉลี่ยความถี่ของการเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาวของทั้งสองกลุ่ม ไม่เกินค่าปกติของค่าเฉลี่ยความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เม็ดเลือดขาว ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นประโยชน์สำหรับเจ้าหน้าที่ในการเฝ้าระวังและการป้องกันตัวเองต่อการได้สัมผัสสารเป็นพิษทั้งทางตรงและทางอ้อม ซึ่งหน่วยงานควรมีมาตรการการดำเนินการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้มีการศึกษาวิจัยพบว่าค่าความถี่การเกิดไมโครนิวเคลียสในเซลล์เม็ดเลือดขาวเป็นพารามิเตอร์ในการตรวจติดตามการเกิดมะเร็ง (Cancer Risk Biomarker) ได้ เช่นเดียวกับค่าความสมบูรณ์ของเลือด (Complete Blood Count: CBC)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นายสังคม วิทยนันทน์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ในการสนับสนุนการวิจัย นางสาววรางคณา อ่อนทรวง ผู้อำนวยการกองแผนงานและวิชาการ ในการให้คำปรึกษาให้บทความนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. รายงานสรุปสถิติการนำเข้าเคมีภัณฑ์อันตราย ปี พ.ศ. 2548-2552 [ออนไลน์]. 2553. [สืบค้น 20 ก.ย. 2557]; [52 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www.chemtrack.org/Doc/F619.pdf.
2. น้ำทิพย์ เที่ยงตรง, กันทิมาณี พันธุ์วิเชียร, ประไพภัทร คลังทรัพย์ และธีราพร อนันตะเศรษฐกูล. การทดสอบไมโครนิวเคลียสในเซลล์ลิมโฟบลาสต์ของมนุษย์ชนิด TK6 ด้วยสิ่งก่อการกลาย. ใน : การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 : สาขาวิทยาศาสตร์. วันที่ 29 มกราคม-1 กุมภาพันธ์ 2551. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2551. หน้า 334-341.
3. Testa A, Ranaldi R, Carpineto L, Pacchierotti F, Tirindelli D, Fabiani L, et al. Cytogenetic biomonotoring of workers from laboratories of clinical analyses occupationally exposed to chemicals. Mutat Res 2002; 520: 73-82.
4. 5 สาเหตุใกล้ตัวก่อมะเร็ง. ชีวจิต [ออนไลน์]. [สืบค้น 25 มี.ค. 2557]. [7 หน้า] เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www.cheewajit.com/medicine/5-สาเหตุใกล้ตัวก่อมะเร็ง-2.
5. Ejchart A, Sadlej-Sosnowska N. Statistical evaluation and comparison of comet assay results. Mutat Res 2003; 534: 85-92.
6. Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. Net Protoc 2007; 2(5): 1084-104.
7. ขวัญยืน ศรีเปารยะ, อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์, จีรภา ศิลาเกษ, ลักขณา หิมะคุณ, ผ่องพรรณ หมอกมืด, พิริยะภรณ์ อภิชาตยา และคณะ. เอกสารการเผยแพร่ เรื่อง การตรวจหาความเสียหายระดับดีเอ็นเอและระดับเซลล์โดยวิธีโคเมทแอสเสย์และไมโครนิวเคลียสจากเซลล์ลิมโฟไซต์และตรวจวัดไมโครนิวเคลียสจากเซลล์เยื่อบุกระพุ้งแก้มเพื่อประเมินความเสี่ยงสุขภาพการใช้สารเคมีอันตรายของนักวิทยาศาสตร์การแพทย์และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องในห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

8. การตรวจความสมบูรณ์ของเลือด (CBC: Complete Blood Count) [ออนไลน์]. [สืบค้น 20 มี.ค. 2557]; [16 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://web.sut.ac.th/dsa/unit/medical_clinic/images/stories/heath/cbc.pdf.
9. Ozkul Y, Donmez H, Erenmemisoglu A, Demirtas H, Imamoglu N. Induction of micronuclei by smokeless tobacco on buccal mucosa cells of habitual users. Mutagenesis 1997; 12(4):285-7.
10. Bonnassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, et al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. Carcinogenesis 2007; 28(3): 625-31.

Health Risk of Laboratory's Staffs of Regional Medical Sciences Center 3, Nakhon Sawan in Using of Hazardous

Rames Koranee Anusorn Ditsawan and Siriporn Pomyai

Regional Medical Science Center 3, Nakhon Sawan, Amphur Muang Nakhon Sawan 60000, Thailand.

ABSTRACT Factor effecting to Thai people health have been realized as environment contaminated with chemicals and more carcinogens. In 2012, a study of health risks of of laboratory's staffs using of hazardous chemicals in the laboratory of Regional Medical Sciences Center 3 Nakhon Sawan were performed in order to protect and monitor the health of the staffs. Blood samples were from 37 staffs which are divided into two groups i.e. 20 persons (54%) of exposing to hazardous chemicals in the laboratory and the other group of 17 persons (46%) not exposing to hazardous chemicals in laboratory. Check for all items of Complete Blood Count (CBC) of both groups blood samples showed the results which are within the normal range. The average frequency of micronucleus from white blood cells of the staffs not exposed to hazardous chemicals in laboratories were higher than those of the staffs exposed to hazardous chemicals in the laboratory, which significant difference ($p < 0.05$) form each other i.e. (mean ± SD) were 2.47 ± 1.56 cell/1000 BN cell and. 1.35 ± 1.87 cell/1000 BN cell, respectively, However, the average frequency of micronucleus from white blood cells of both group were within the normal range, i.e. normal cell should have the average frequency of micronucleus in the range of 0-5 cell/1000 BN cell. High average frequency of micronucleus from white blood cells of the staffs not exposed to hazardous chemicals may be due to other factors, such as indirect exposure to chemicals, toxic surfactant or carcinogens, drinking alcohol, smoking, exposure to lead paint from hereditary or exposure to radiation from x-ray which are toxic to the cells. Results form the study could enable staffs to take care and protect themselves from exposure to toxic substances, both directly and indirectly. The authorities should to conduct ongoing surveillance. In the future, it is likely to take the micronucleus frequency as a parameter as well as the integrity of the blood (Complete Blood Count: CBC) to monitor cancer (Cancer Risk Biomarker).

การพัฒนาสูตรตำรับครีมกันแดดสำหรับแผนงานทดสอบความชำนาญ

สุดธิดา หมีทอง และกมลลักษณ์ อินทรัศมี

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 นั้น หน่วยงานที่ขอการรับรองจะต้องมีข้อพิจารณาการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ (Proficiency Testing Program) ด้วย สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้เริ่มให้บริการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดดในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2548 โดยนำตัวอย่างครีมและโลชั่นบำรุงผิวจากท้องตลาดมาเติมสารสำคัญเป็นสารป้องกันแสงแดด 2 ชนิด ที่นิยมใช้ในประเทศไทย ได้แก่ benzophenone-3 และ octyl methoxycinnamate เพื่อใช้เป็นตัวอย่างในแผนทดสอบความชำนาญแต่เนื่องด้วยไม่ทราบสูตรตำรับที่ชัดเจน จึงได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพไม่แน่นอนและมีความคงตัวต่ำ ดังนั้นในปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 จึงได้พัฒนาสูตรครีมกันแดดที่มีสารป้องกันแสงแดดเพื่อให้เป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัว 4 ชนิด และปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 ได้พัฒนาเพิ่มอีก 2 ชนิด รวมเป็น 6 ชนิด ได้แก่ benzophenone-3, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoyl methane, octocrylene, homosalate และ ocyl salicylate ซึ่งเมื่อทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน จากการประเมินค่าความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่าง โดยวิธี Cochran's test และประเมินความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน one-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 รวมทั้งทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิห้อง ($25 \pm 5\ ^{\circ}C$) พบว่า ครีมกันแดดที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความคงตัวที่เหมาะสมสำหรับใช้ในแผนงานทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดด

Accepted for publication, 17 June 2015

บทนำ

ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตร้อนมีแสงแดดจัดเกือบตลอดปี ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดจึงเป็นสิ่งจำเป็นในการปกป้องผิวหนังจากแสงแดด เนื่องจากอันตรายจากรังสีอัลตราไวโอเลต (UV radiation) ในช่วงความยาวคลื่นต่าง ๆ กัน อาจทำให้ผิวหนังเหี่ยวย่นก่อนวัย ผิวไหม้หรือทำให้เป็นมะเร็งผิวหนังได้[1]

ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดเป็นเครื่องสำอางควบคุมตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 6) ลงวันที่ 25 กรกฎาคม 2552 ออกตามพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535[2] ผู้ผลิตจึงต้องควบคุมปริมาณสารป้องกันแสงแดดในผลิตภัณฑ์ทุกขั้นตอนการผลิตตั้งแต่ช่วงผลิตภัณฑ์รอบรรจุ ระหว่างบรรจุ และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ดังนั้นห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดที่ได้รับการรับรองความสามารถตามมาตรฐานสากล ISO/IEC 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories จะต้องมีการประกันคุณภาพ โดยการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ (Proficiency Testing Program) หรือเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory Comparison)

เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีหน่วยงานที่ให้บริการการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการด้านตรวจวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดดในผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด ดังนั้นสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายจึงได้เริ่มให้บริการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดด ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2548 โดยนำครีมและโลชั่นบำรุงผิวจากท้องตลาดมาเติมสารป้องกันแสงแดดที่นิยมใช้ในประเทศไทย 2 ชนิด คือ octyl methoxycinnamate และ benzophenone-3 เนื่องจากสารป้องกันแสงแดดมีคุณสมบัติที่ละลายในไขมัน ไม่ละลายในน้ำ แต่ครีมและโลชั่นที่ซื้อมาไม่ระบุอัตราส่วนของสูตรตำรับจึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดมีคุณภาพไม่คงที่และมีความคงตัวน้อย จึงต้องยกเลิกแผนงานในบางปี

ต่อมาในปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 จึงได้ทบทวนวิธีการเตรียมตัวอย่างจากตำราการตั้งสูตรตำรับเครื่องสำอางชนิดครีม[3-4] ซึ่งเป็นอิมัลชั่นที่มีความหนืดสูง (ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (waxes) และไขมัน (fatty acid or fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดมีทั้งชนิด O/W และ W/O ครีมมีความหนืดกว่าโลชั่นเพราะมีปริมาณวัฏภาคน้ำมันสูงกว่าคือประมาณร้อยละ 35 – 75 แล้วแต่ความหนืดที่ต้องการโดยใช้สารเพิ่มเนื้อครีม (bodying or stiffening agent) เช่น ไขมันและไขแข็งดังกล่าว ผู้วิจัยจึงพัฒนาสูตรตำรับโดยซื้อวัตถุดิบต่าง ๆ นำมาผสมกับสารป้องกันแสงแดด 4 ชนิด คือ benzophenone-3, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoyl methane และ octyl salicylate พบว่าครีมป้องกันแสงแดดที่พัฒนามีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) และมีความคงตัว (stability) มากขึ้น ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 จึงได้เพิ่มจำนวนสารป้องกันแสงแดดจาก 4 สารเป็น 6 สาร คือ เพิ่มสาร octocrylene และ homosalate และปรับความเข้มข้นของสารดังกล่าวให้แตกต่างกัน และพบว่า สูตรตำรับที่พัฒนาขึ้นยังคงมีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัวทุกช่วงเวลาทดสอบ สามารถใช้เป็นตัวอย่างสำหรับแผนการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการได้ และได้ใช้อย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 เป็นต้นมา และได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 ดังนั้น ผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดที่ได้ปรับปรุงและพัฒนานี้จึงมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะใช้เป็นตัวอย่างสำหรับทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการเครื่องสำอางตรวจวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดด รวมทั้งได้นำเสนอแผนทดสอบความชำนาญในการประชุมห้องปฏิบัติการทดสอบเครื่องสำอางอาเซียน (ASEAN COSMETIC TESTING LABORATORY COMMITTEE) ครั้งที่ 5 ณ ประเทศสิงคโปร์ เมื่อวันที่ 26 พฤษภาคม พ.ศ. 2558 อีกด้วย

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน

Benzophenone-3 (Symrise) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 101.3 โดยน้ำหนัก, octocrylene (Neocosmed) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98.8 โดยน้ำหนัก, octyl methoxycinnamate (ISP Technology) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.9 โดยน้ำหนัก, butyl methoxydibenzoyl methane (DMS) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98.5 โดยน้ำหนัก, homosalate (Symrise) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.4 โดยน้ำหนัก และ octyl salicylate (Aldrich) ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98.7 โดยน้ำหนัก

สารเคมี

วัตถุดิบชนิด cosmetic grade: Ceteareth 6, Ceteareth 25, Glycerylmonostearate, Mineral oil, C12-15 alkyl benzoate, Bisabolol, Diazolidimyl urea, methyl paraben, propyl paraben, propylene glycol ตัวทำละลายเฟสเคลื่อนที่ : glacial acetic acid (AR grade), methyl alcohol (HPLC grade)

เครื่องมือและอุปกรณ์

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ, ภาชนะสเตนเลส ขนาด 1 ลิตร และ 2 ลิตร, เครื่องผสมพร้อมโถสเตนเลส (เครื่องตีไข่), เครื่องปั่น homogenizer, เครื่องชั่งที่มีความละเอียด 0.01 กรัม, เครื่อง HPLC (UPLC®; WATERS) โดยใช้คอลัมน์ Acquity BEH C18 ขนาด 10 cm × 2.1 cm × 1.7 µm, เครื่องตรวจวัดชนิด photo diode array ช่วงความยาวคลื่น 250 ถึง 450 nm ตั้งความยาวคลื่นการตรวจวัดที่ 310 nm

วิธีการ

1. การสำรวจผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด สำรวจผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดโดยเก็บจากห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2556
2. จัดหาวัตถุดิบ

   ซื้อวัตถุดิบสำหรับเตรียมตำรับครีม โดยคัดเลือกสูตรครีมพื้นฐานที่มีวัฏภาคน้ำมันคิดเป็นร้อยละ 30 (ใกล้เคียงกับตำราตั้งสูตรที่ระบุวัฏภาคน้ำมันร้อยละ 35-75) ซึ่งประกอบด้วยวัฏภาคน้ำมันที่เป็นของเหลว 2 ชนิด คือ mineral oil ร้อยละ 10 และ C12-15 alkyl benzoate ร้อยละ 6 และของแข็ง 4 ชนิด คือ ceteareth 6 ร้อยละ 3, ceteareth 25 ร้อยละ 1, glycerylmonostearate ร้อยละ 6 และ cetyl alcohol ร้อยละ 4 (ตารางที่ 1) ปรับสูตรโดยการแทนที่ mineral oil ร้อยละ 10 และแทนที่ C12-15 alkyl benzoate ร้อยละ 3 ด้วยสารป้องกันแสงแดด 6 ชนิด (ตารางที่ 2)
3. การเตรียมครีมกันแดด

   1) ผสมวัฏภาคน้ำมัน (กลุ่มที่ 1) เข้าด้วยกันในภาชนะสเตนเลส ขนาด 2 ลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ± 5°C ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิจนหลอมเป็นของเหลว

   2) ผสมวัฏภาคน้ำ (กลุ่มที่ 2) เข้าด้วยกันในภาชนะสเตนเลส ขนาด 1 ลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณภูมิ 70 ± 5°C ด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

   3) นำ 1) และ 2) ผสมพร้อมกันในโถสำหรับปั่น จากนั้นปั่นด้วยเครื่องตีไข่ โดยใช้ความเร็วปานกลางจนอุณหภูมิลดลงต่ำกว่า 50°C

   4) เติมส่วนผสมกลุ่มที่ 3 ขณะปั่นด้วยเครื่องตีไข่จนของเหลวมีลักษณะข้นเป็นครีม

ตารางที่ 1 สูตรครีมพื้นฐานทั่วไป

ชนิดของวัฏภาค	ชื่อสาร	สถานะ	คิดเป็นส่วนผสมร้อยละ	ทำหน้าที่
น้ำมัน (กลุ่ม 1)	Ceteareth 6	ของแข็ง	3	Emulsifier
	Ceteareth 25	ของแข็ง	1	Emulsifier
	Glycerylmonostearat	ของแข็ง	6	Emulsifier
	Cetyl alcohol	ของแข็ง	4	Thickener
	C 12-15 alkyl benzoate	ของเหลว	6	Emollient
	Mineral oil	ของเหลว	10	Emollient
น้ำ (กลุ่ม 2)	Popylene glycol	ของเหลว	2	Humectant
	Deionized water	ของเหลว	67.3	ปรับปริมาตร
เติมหลังจากอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	Methyl paraben และ propylene glycol propyl paraben in	ของเหลว	0.5	Preservative
(กลุ่มที่ 3)	Bisabolol	ของแข็ง	0.2	Anti-inflammatory

ตารางที่ 2 สูตรตำรับครีมกันแดดที่พัฒนาและปรับปรุงจากสูตรตำรับในปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 โดยการเพิ่มสารกันแดดปีน 6 ชนิด แทนที่ mineral oil ร้อยละ 10 และแทนที่ C12-15 alkyl benzoate ร้อยละ 3

ชนิดของวัฏภาค	ชื่อสาร	ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 - 2557 คิดเป็นส่วนผสมร้อยละ	ทำหน้าที่
น้ำมัน (กลุ่ม 1)	Ceteareth 6	3	Emulsifier
	Ceteareth 25	1	Emulsifier
	Glycerylmonostearat	6	Emulsifier
	Cetyl alcohol	4	Thickener
	C 12-15 alkyl benzoate	3	Emollient
	Benzophenone-3	1.5 – 5.0	sunscreen
	Octocrylene	3.5 – 6.0	sunscreen
	Octyl methoxycinnamate	1.5 – 7.0	sunscreen
	Butyl methoxydibenzoyl methane	2.0 – 5.5	sunscreen
	homosalate	3.5 -5.0	sunscreen
	Octyl salicylate	2.0 – 5.0	

ตารางที่ 2 สูตรตำรับครีมกันแดดที่พัฒนาและปรับปรุงจากสูตรตำรับในปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 โดยการเพิ่มสารกันแดดเป็น 6 ชนิด แทนที่ mineral oil ร้อยละ 10 และแทนที่ C12-15 alkyl benzoate ร้อยละ 3 (ต่อ)

ชนิดของวัฏภาค	ชื่อสาร	ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 - 2557 คิดเป็นส่วนผสมร้อยละ	ทำหน้าที่
น้ำ (กลุ่ม 2)	Propylene glycol	2	Humectant
	Deionized water	60 - 70	ปรับปริมาตร
เติมหลังจากอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (กลุ่มที่ 3)	Bisabolol	0.2	Anti-flammatory
	Methyl parabenและ propyl paraben in propylene glycol	0.5	Preservative

หมายเหตุ : ส่วนผสมของสารป้องกันแสงแดดทั้ง 6 ชนิด รวมกันต้องไม่เกินร้อยละ 13

5) หล่อโถปั่นด้วยน้ำเย็นผสมน้ำแข็งพอประมาณ ปั่นครีมด้วยเครื่อง homogeneizer ประมาณ 5 นาที หยุดเครื่องปั่น ใช้พายคนให้เข้ากัน ทำซ้ำอีก 3 รอบจะได้ครีมเนื้อเนียนละเอียด

6) ตักครีมใส่ภาชนะพลาสติกปิดฝา ตั้งทิ้งไว้หนึ่งคืนให้ครีมอยู่ตัว

7) บรรจุหลอดพลาสติก ขนาด 30 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท

4. การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity test)

โดยการสุ่มครีมกันแดด จำนวน 10 หลอด ทดสอบหลอดละ 2 ซ้ำ เพื่อวิเคราะห์สารกันแดดตามวิธีวิเคราะห์ที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายได้พัฒนาขึ้น และได้รับการรับรอง ISO/IEC 17025 แล้ว (SOP 06-02-0210; Determination of Sunscreen agents by LC (UPLC™))

4.1 นำผลวิเคราะห์ที่ได้ประเมินผลทางสถิติ[5] ดังนี้

- ทดสอบความเบี่ยงเบนภายในตัวอย่าง (within sample variation) เพื่อศึกษาความเที่ยง (precision) ของเนื้อครีมในแต่ละหลอดโดยใช้ Cochran'test

$$\text{ratio (C)} = \frac{D^2_{max}}{\sum D^2_i}$$

โดย D_i = ค่าความแตกต่างของการวิเคราะห์ซ้ำในแต่ละขวดที่สุ่ม

D_{mas} = ค่า D_i ที่มีค่ามากที่สุด

เปรียบเทียบค่า C ที่คำนวณได้กับค่าวิกฤต (critical value) ในตาราง Cochran's test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ถ้าคำนวณได้น้อยกว่าค่าวิกฤต แสดงว่าไม่มีความแตกต่างของการวิเคราะห์ซ้ำ

ทดสอบความเบี่ยงเบนระหว่างตัวอย่าง (between sample variation) เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวอย่างโดยใช้ one way ANOVA คำนวณโดยใช้ Microsoft Excel spreadsheet

โดย MSB = mean square between sample variation

$$\text{F-value} = \frac{MSB}{MSW}; \; \text{P-value} \geq 0.05$$

MSW = mean square within sample variation

ถ้าค่า F ที่คำนวณได้น้อยกว่าค่าวิกฤตที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p-value > 0.05) แสดงว่าตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

5. การทดสอบความคงตัวของครีมกันแดด

โดยสุ่มครีมกันแดด จำนวน 6 หลอด วางไว้ในอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส)

5.1 ศึกษาความคงตัวของครีมกันแดดโดยสุ่มตัวอย่างครั้งละ 3 หลอด มาทดสอบ 3 ครั้ง โดยครั้งที่ 1 ทดสอบเมื่อเตรียมตัวอย่างเสร็จ ครั้งที่ 2 และ 3 ทดสอบตัวอย่างหลังเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 วัน และ 40 วัน ตามลำดับ และทำการทดสอบหลอดละ 2 ซ้ำ วิเคราะห์ปริมาณสารป้องกันแสงแดดเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกัน

- ผลวิเคราะห์แต่ละช่วงเวลานำมาประเมินผลความคงตัว โดยเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยจากการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน ค่าแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยปริมาณสารในครีมกันแดดแต่ละช่วงเวลากับค่าเฉลี่ยของปริมาณสารเมื่อศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันต้องไม่เกิน 0.3 σ_p ซึ่งได้จาก Horwitz's equation[5] ดังนี้

Predicted RSD; $(RPD_P) = 21^{-0.5 \log C}$

โดย C = ค่าเฉลี่ยปริมาณสารในครีมกันแดดอยู่ในรูปของ concentration ratio

นั่นคือ $0.3\ \sigma_p = 0.3\ RSD_p$

$0.3\ \sigma_p = 0.3\ (2^{1-0.5\log C})$

ผล

การสำรวจผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

สุ่มผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดจากห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานคร และปริมณฑลจำนวน 44 ตัวอย่าง โดยจำแนกตามจำนวนสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดได้ 19 ตำรับ แบ่งเป็นสูตรตำรับผสมสารป้องกันแสงแดดสารเดียว 1 ตำรับ จำนวน 8 ตัวอย่าง แบบสูตรตำรับผสมสารป้องกันแสงแดด 2 สาร 7 ตำรับ จำนวน 17 ตัวอย่าง สูตรผสมสารป้องกันแสงแดด 3 สาร 6 ตำรับ จำนวน 14 ตัวอย่าง สูตรตำรับผสมสารป้องกันแสงแดด 4 สาร 4 ตำรับ จำนวน 4 ตัวอย่าง สูตรตำรับผสมสารป้องกันแสงแดด 5 สาร 1 ตำรับ จำนวน 1 ตัวอย่าง (ตารางที่ 3) และชนิดของสารป้องกันแดดในสูตรตำรับ จำนวน 6 ชนิด คือ benzophenone-3 จำนวน 8 ตัวอย่าง octyl methoxycinnamate จำนวน 30 ตัวอย่าง octocrylene จำนวน 21 ตัวอย่าง butyl methoxydibenzoyl methane จำนวน 25 ตัวอย่าง homosalate จำนวน 4 ตัวอย่าง และ octyl salicylate จำนวน 17 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4)

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ผลวิเคราะห์ปริมาณสารป้องกันแดด 6 ชนิด คือ benzophenone-3, octocrylene, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoyl methane, homosalate และ octyl salicylate สารละ 10 หลอด หลอดละ 2 ซ้ำ รวมเป็น 20 ค่า

1. คำนวณค่า C ของสารดังกล่าว
   - ปี พ.ศ. 2553 ได้ 0.355, 0.423, 0.307, 0.179, 0.386 และ 0.234 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2554 ได้ 0.295, 0.355, 0.387, 0.245, 0.333 และ 0.303 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2556 ได้ 0.344, 0.390, 0.414, 0.309, 0.221 และ 0.310 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2557 ได้ 0.226, 0.176, 0.196, 0.355, 0.202 และ 0.250 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 จำนวนสูตรตำรับผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด

สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของสารป้องกันแสงแดด	จำนวนตัวอย่าง
Octylmethoxycinnamate	8
Octylmethoxycinnamate + octocrylene	3
Octylmethoxycinnamate + butyl methoxydibenzoyl methane	6
Octylmethoxycinnamate + octyl salicylate	1
Octylmethoxycinnamate + benzophenone-3	1
Octylmethoxycinnamate + octocrylene + butyl methoxydibenzoyl methane	3
Octylmethoxycinnamate + benzophenone-3 + octyl salicylate	3
Octylmethoxycinnamate + homosalate + octyl salicylate	1
Octylmethoxycinnamate + octocrylene + octyl salicylate	1
Octylmethoxycinnamate + benzophenone-3 + octocrylene + butyl methoxydibenzoyl methane	1
Octylmethoxycinnamate + octocrylene + butyl methoxydibenzoyl methane + homosalate	1
Octylmethoxycinnamate + benzophenone-3 + butyl methoxydibenzoyl methane + homosalate + octyl salicylate	1
Butyl methoxydibenzoyl methane + octyl salicylate	2
Butyl methoxydibenzoyl methane + octocrylene	3
Butyl methoxydibenzoyl methane + benzophenone-3 + octocrylene	1
Butyl methoxydibenzoyl methane + octocrylene + octyl salicylate	5
Butyl methoxydibenzoyl methane + benzophenone-3 + octocrylene + octyl salicylate	1
Butyl methoxydibenzoyl methane + octocrylene + homosalate + octyl salicylate	1
Octocrylene + octyl salicylate	1
รวม (ตัวอย่าง)	44

ตารางที่ 4 จำนวนตัวอย่างแบ่งตามชนิดของสารป้องกันแสงแดด

ชื่อสารป้องกันแสงแดด	จำนวนตัวอย่าง
Benzophenone-3	8
Octyl methoxycinnamate	30
Octocrylene	21
Butyl methoxydibenzoyl methane	25
Homosalate	4
Octyl salicylate	17

2. คำนวณค่า p-value ของสารดังกล่าว
   - ปี พ.ศ. 2553 ได้ 0.07, 0.18, 0.16, 0.56, 0.26 และ 0.50 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2554 ได้ 0.64, 0.24, 0.18, 0.05, 0.18 และ 0.06 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2556 ได้ 0.12, 0.05, 0.10, 0.25, 0.35 และ 0.43 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2557 ได้ 0.05, 0.08, 0.05, 0.17, 0.09 และ 0.05 ตามลำดับ
3. คำนวณค่า $0.3\sigma_p$ ของสารดังกล่าว เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการแปลผลความคงตัวของครีมกันแดด
   - ปี พ.ศ. 2553 ได้ 0.05, 0.04, 0.04, 0.21, 0.03 และ 0.05 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2554 ได้ 0.02, 0.04, 0.06, 0.03, 0.05 และ 0.02 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2556 ได้ 0.02, 0.03, 0.04, 0.02, 0.03 และ 0.03 ตามลำดับ
   - ปี พ.ศ. 2557 ได้ 0.03, 0.05, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05 ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity testing) ของครีมกันแดดสำหรับแผนงานทดสอบความชำนาญในปีงบประมาณ พ.ศ. 2553-2557

ชื่อสารป้องกันแสงแดด	ค่า C*cal< 0.602				p-value** > 0.05				$0.3\sigma_p$***			
	2553	2554	2556	2557	2553	2554	2556	2557	2553	2554	2556	2557
Benzophenone-3	0.355	0.295	0.344	0.226	0.07	0.64	0.12	0.05	0.05	0.02	0.02	0.03
Octocrylene	0.423	0.355	0.390	0.176	0.18	0.24	0.05	0.08	0.04	0.04	0.03	0.05
Octyl methoxycinnamate	0.307	0.387	0.414	0.196	0.16	0.18	0.10	0.05	0.04	0.06	0.04	0.02
Butyl methoxydibenzoyl methane	0.179	0.245	0.309	0.355	0.56	0.05	0.25	0.17	0.21	0.03	0.02	0.03
Homosalate	0.386	0.333	0.221	0.202	0.26	0.18	0.35	0.09	0.03	0.05	0.03	0.04
Octyl salicylate	0.234	0.303	0.310	0.250	0.50	0.06	0.43	0.05	0.05	0.02	0.03	0.05

* ค่า Ccal คือ Cochran's test – ทดสอบความแปรปรวนของผลการทดสอบของแต่ละตัวอย่าง ค่า n = 10, Ccrit = 0.602 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

** one-way analysis of variance (One-way ANOVA) ทดสอบความแปรปรวนของผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง เมื่อ p-value สูงกว่า 0.05 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

*** ค่าที่ได้จากการคำนวณจาก Horwitz's equation เพื่อเป็นเกณฑ์ในการแปลผลความคงตัวของครีมกันแดด

การทดสอบความคงตัว (stability testing) ในสภาวะอุณหภูมิห้อง

ผลวิเคราะห์ในภาวะอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส) ของปริมาณสารกันแดด 6 ชนิด คือ benzophenone-3, octocrylene, octyl methoxycinnamate, butyl methoxydibenzoyl methane, homosalate และ octyl salicylate โดยทดสอบ 3 หลอด หลอดละ 2 ซ้ำ รวมเป็น 6 ค่า (ตารางที่ 6)

1. หาค่าเฉลี่ย ($\bar{y}$) แล้วหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสารแต่ละชนิดกับค่าเฉลี่ยของปริมาณสาร $\bar{x}$ นั้น เมื่อทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

$\bar{x}$ - ค่า ($\bar{x}$ - $\bar{y}$) ปี พ.ศ. 2553

ทดสอบครั้งที่ 1 (0 วัน) ได้ 0.00, 0.01, 0.00, 0.01, 0.01 และ 0.00 ตามลำดับ

ทดสอบครั้งที่ 2 (20 วัน) ได้ 0.04, 0.03, 0.02, 0.20, 0.01 และ 0.00 ตามลำดับ

ทดสอบครั้งที่ 3 (40 วัน) ได้ 0.00, 0.02, 0.00, 0.14, 0.03 และ 0.00 ตามลำดับ

- ค่า ($\bar{x}$ - $\bar{y}$) ปี พ.ศ. 2554
  ทดสอบครั้งที่ 1 (0 วัน) ได้ 0.00, 0.00, 0.01, 0.00, 0.00 และ 0.00 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 2 (20 วัน) ได้ 0.00, 0.02, 0.01, 0.02, 0.05 และ 0.02 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 3 (40 วัน) ได้ 0.02, 0.01, 0.01, 0.00, 0.01 และ 0.00 ตามลำดับ
- ค่า ($\bar{x}$ - $\bar{y}$) ปี พ.ศ. 2556
  ทดสอบครั้งที่ 1 (0 วัน) ได้ 0.01, 0.02, 0.02, 0.01, 0.00 และ 0.00 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 2 (20 วัน) ได้ 0.02, 0.02, 0.02, 0.02, 0.00 และ 0.01 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 3 (40 วัน) ได้ 0.00, 0.01, 0.03, 0.01, 0.02 และ 0.01 ตามลำดับ
- ค่า ($\bar{x}$ - $\bar{y}$) ปี พ.ศ. 2557
  ทดสอบครั้งที่ 1 (0 วัน) ได้ 0.01, 0.04, 0.00, 0.00, 0.03 และ 0.03 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 2 (20 วัน) ได้ 0.01, 0.04, 0.03, 0.02, 0.01 และ 0.05 ตามลำดับ
  ทดสอบครั้งที่ 3 (40 วัน) ได้ 0.02, 0.03, 0.02, 0.02, 0.00 และ 0.05 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 ผลการประเมินความคงตัว (stability testing) ของครีมกันแดดผสมสารป้องกันแสงแดด 6 ชนิด

ชื่อสารป้องกันแสงแดด	งบประมาณปี พ.ศ.															
	2553				2554				2556				2557			
	$0.3\sigma_p$	ทดสอบครั้งที่ 1	2	3	$0.3\sigma_p$	ทดสอบครั้งที่ 1	2	3	$0.3\sigma_p$	ทดสอบครั้งที่ 1	2	3	$0.3\sigma_p$	ทดสอบครั้งที่ 1	2	3
Benzophenone-3	0.05	0.00	0.04	0.00	0.02	0.00	0.00	0.02	0.02	0.01	0.02	0.00	0.03	0.01	0.01	0.02
Octocrylene	0.04	0.01	0.03	0.02	0.04	0.00	0.02	0.01	0.03	0.02	0.02	0.01	0.05	0.04	0.04	0.03
Octylmethoxycinnamate	0.04	0.00	0.02	0.00	0.06	0.01	0.01	0.01	0.04	0.02	0.02	0.03	0.02	0.00	0.03	0.02
Butyl methoxydibenzoyl methane	0.21	0.01	0.20	0.14	0.03	0.00	0.02	0.00	0.02	0.01	0.02	0.01	0.03	0.00	0.02	0.02
Homosalate	0.03	0.01	0.01	0.03	0.05	0.00	0.05	0.01	0.03	0.00	0.00	0.02	0.04	0.03	0.01	0.00
Octyl salicylate	0.05	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	0.02	0.00	0.03	0.00	0.01	0.01	0.05	0.03	0.05	0.05

วิจารณ์

สูตรตำรับครีมกันแดดที่ได้ปรับปรุงและพัฒนาขึ้น เพื่อเป็นต้นแบบในการผลิตตัวอย่างสำหรับแผนการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการด้านเครื่องสำอางประเภทผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด เพื่อตอบสนองความต้องการของห้องปฏิบัติที่ต้องการขอการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่มีผู้ให้บริการในแผนงานนี้ และในต่างประเทศให้บริการทดสอบสารป้องกันแสงแดดเพียง 2 ถึง 3 สารเท่านั้น และค่าสมัครสมาชิกมีราคาสูง สูตรตำรับครีมกันแดดที่ได้พัฒนาขึ้นมานี้ สามารถปรับเพิ่มหรือลดจำนวนสารป้องกันแสงแดด และปรับปริมาณความเข้มข้นได้โดยครีมกันแดดที่ได้ยังคงมีความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ซึ่งประเมินผลวิเคราะห์โดยวิธี Cochran's test พบว่า ค่า Ccal น้อยกว่า Ccrit ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าไม่มีความแตกต่างของการทำวิเคราะห์ซ้ำ และจาก one-way ANOVA ให้ค่า p-value > 0.05 แสดงว่า ผลวิเคราะห์ซ้ำแต่ละขวดไม่แตกต่างกัน และจากการประเมินค่าความคงตัว (stability) แล้วหาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปริมาณสาร ($\bar{y}$) แต่ละชนิดกับค่าเฉลี่ยของปริมาณสาร ($\bar{x}$) นั้น เมื่อทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันพบว่าค่า ($\bar{x}$ - $\bar{y}$)

ของแต่ละสารมีค่าน้อยกว่า $0.3\sigma_p$ จากการใช้สูตรตำรับครีมกันแดดที่พัฒนาขึ้นเป็นตัวอย่างทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 ถึง 2557 ได้สำเร็จจนจบแผนในแต่ละปี โดยไม่มีปัญหาอุปสรรค และแผนงานนี้ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 จาก National Association of Testing Authorities; NATA ประเทศออสเตรเลีย ในปี พ.ศ. 2553 และได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 ต่อเนื่องมาจนครั้งล่าสุด เมื่อวันที่ 6 เดือนตุลาคม 2557 รวมทั้งได้รับการยอมรับในเวทีระดับอาเซียนให้เป็นผู้ให้บริการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดด สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายจึงมีเป้าหมายขยายงานให้บริการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการต่อไปยังประเทศสมาชิกอาเซียน เพื่อยกระดับห้องปฏิบัติการทางเครื่องสำอางตรวจวิเคราะห์สารป้องกันแสงแดดให้มีมาตรฐานและได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ซึ่งจะต้องมีการพัฒนาปรับปรุงสูตรตำรับให้สามารถรองรับสารป้องกันแสงแดดชนิดใหม่เพิ่มขึ้น

สรุป

สูตรตำรับครีมกันแดดที่ได้ปรับปรุงและพัฒนาขึ้นนี้มีคุณสมบัติเหมาะสมโดยมีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัว สามารถใช้เป็นตัวอย่างสำหรับทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการของสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณจำเริญ ดวงงามยิ่ง และผู้ร่วมงานทุกท่านที่ช่วยให้ความคิดเห็นและอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักควบคุมเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. แนวทางเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดด (สำหรับประชาชน). กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ; 2555.
2. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 46) พ.ศ. 2550 เรื่อง ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีสารป้องกันแสงแดด ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 124 ตอนพิเศษ 88 ง (ลงวันที่ 25 กรกฎาคม 2550).
3. เสาวนีย์ กระสานติสุข, หทัยชนก รุณรงค์ การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว [ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต]. ภาควิชาเภสัชกรรม, คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล; 2549.
4. พิมลพรรณ พิทยานุกุล. หลักการตั้งตำรับยาเตรียมและเครื่องสำอาง. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2533.
5. นวพร อนันตสินกุล. สถิติสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีและการทดสอบความชำนาญ. นนทบุรี : สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2551.

Developing of Sunscreen Formulation for Proficiency Testing Scheme

Sudthida Meethong and Kamonluck Intharatsamee

Bureau of Cosmetics and Hazardous, Substances. Department of Medical Sciences. Ministry of Public Health Tivanon Rd., Amphur Muang. Nonthaburi 11000.

ABSTRACT Participation in appropriate interlaboratory proficiency programme is naormally required by accreditation body to comply with ISO/IEC 17025. Since 2005, the Bureau of Cosmetic and Hazardous substances, Department of Medical Sciences had provided proficiency testing scheme for sunscreen agents. The commercial sunscreen cream and lotion adding withtwo sunscreen agents, benzophenone-3 and octyl methoxycinnamate, that were mostly used in the sunscreen products in Thailand, were used as the samples in the proficiency testing scheme for sunscreen agents. Because of unknown formulation of those commercial sunscreen products, the quality of prepared samples for proficiency testing was not consistent and their stability was not good. Therefore, in 2010, sunscreen cream formulation adding 4 sunscreen agents had been developed in order to get the homogenous and stable samples. The formulation with 2 more sunscreen agents were developed in 2013. Totally, samples for 6 sunscreen agents were developed. The samples were tested for homogeneity by assessing within sample variation using Cochran's test and assessing between sample variation by the analysis of variance (ANOVA) at a 95% confidence interval. Test for stability of the samples at room temperature (25+5 °C) was also done. The results showed that the sunscreen samples from this formulation have appropriate homogeneity and stability to be used as proficiency testing samples in determination of sunscreen products.

Key words: sunscreen cream, sunscreen agents, formulation, homogeneity, stability, proficiency testing

คุณภาพผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่จำหน่ายในประเทศไทยปี พ.ศ. 2555 - 2556

ศิริพร ทองประกายแสง กมลลักษณ์ อินทรัศมี และจำเริญ ดวงงามยิ่ง
สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การสำรวจคุณภาพผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรระหว่างปี พ.ศ. 2555 – 2556 จำนวน 237 ตัวอย่าง 74 เครื่องหมายการค้า โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ตามวัตถุประสงค์ในการส่งตรวจของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา คือ กลุ่มที่ 1 เพื่อตรวจหาสารย้อมผมห้ามใช้ 3 ชนิด คือ mPDA oPDA และ oAP จำนวน 113 ตัวอย่าง 56 เครื่องหมายการค้า ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ จำนวน 71 ตัวอย่าง 37 เครื่องหมายการค้า และผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ 42 ตัวอย่าง 19 เครื่องหมายการค้า กลุ่มที่ 2 เพื่อตรวจหาปริมาณสารย้อมผมจำนวน 3 ชนิด คือ pPDA, RES และ pTDA จำนวน 124 ตัวอย่าง 59 เครื่องหมายการค้า เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ จำนวน 77 ตัวอย่าง 31 เครื่องหมายการค้า และจากต่างประเทศ 47 ตัวอย่าง 28 เครื่องหมายการค้า ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) แล้วยืนยันและหาปริมาณด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าตรวจพบสารย้อมผมห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบติดสีถาวรที่จะนำเข้ามาจำหน่ายจากประเทศจีนและเกาหลีจำนวน 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.5 โดยสารย้อมผมห้ามใช้ที่ตรวจพบคือ mPDA และ oAP และพบว่ามีผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ปริมาณสารย้อมผมไม่ได้มาตรฐานจำนวน 52 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.9 โดยมีสาเหตุจากปริมาณสารย้อมผมต่ำกว่า สูงกว่า สูงและหรือต่ำกว่า และใช้สารไม่ตรงกับที่ฉลากระบุ จำนวน 28, 15, 3 และ 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.6, 12.1, 2.4 และ 4.8 ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารย้อมที่ตรวจพบนั้นอยู่ในช่วง 0.02 – 12.98% w/w อนึ่ง การพัฒนาขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการให้สอดรับกับข้อกำหนดและความต้องการของผู้มีส่วนได้ส่วนเสียและการพัฒนาระบบเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพเป็นปัจจัยสำคัญที่จะสร้างความมั่นใจให้ผู้บริโภค

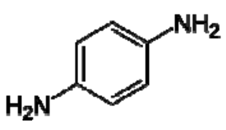
Accepted for publication, 23 September 2015

บทนำ

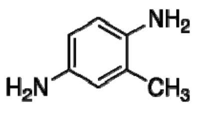
ผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่วางจำหน่ายในประเทศไทย มีจำนวนและมีความหลากหลายเพิ่มมากขึ้นทั้งประเภท ชื่อทางการค้า และแหล่งผลิตซึ่งมีทั้งที่ผลิตในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งปัจจุบันมีรูปแบบใหม่ในการจำหน่ายทั้งระบบ e-commerce และการขายตรง (direct sale) นอกจากนี้ยังมีการให้บริการย้อมผมตามร้านเสริมสวย ซึ่งทำให้สามารถเข้าถึงกลุ่มผู้บริโภคมากขึ้น และมีผู้บริโภคจำนวนมากที่มีค่านิยมว่าการย้อมผมเป็นการเสริมบุคลิกภาพ ตลอดจนกระแสแฟชั่นทำสีผม ทำให้ผลิตภัณฑ์ย้อมผมเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทุกเพศและทุกกลุ่มวัย ซึ่งผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่มีจำหน่ายในท้องตลาดปัจจุบันจำแนกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวร (permanent) ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดชั่วคราว (temporary) และผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดกึ่งถาวร (semi-permanent) และผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรส่วนใหญ่นิยมใช้สีออกซิเดชั่น (oxidation hair dyes)

กระบวนการย้อมผมเป็นปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารกลุ่มอะโรมาติกเอมีนส์ และอะโรมาติกส์ฟีนอล ซึ่งเป็นสีออกซิเดชั่น (oxidation hair dyes) ซึ่งสารที่นิยมใช้ได้แก่ p-phenylenediamine (pPDA), resorcinol (RES) และ toluene-2, 5-diamine (pTDA) ซึ่งมีโครงสร้างหลักทางเคมีที่คล้ายคลึงกัน (ภาพที่ 1) ทำปฏิกิริยากับสารไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เกิดเป็น Quinone diimine จนได้สารตัวกลางที่ไม่มีสี (Leuco Intermediates) และจะทำปฏิกิริยาต่อกับสารคู่ควบ (coupler) เกิดเป็นโมเลกุลสุดท้ายที่มีเฉดสีต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับชนิดของ coupler และระยะเวลาในการปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา (ภาพที่ 2) สารคู่ควบที่นิยมใช้ได้แก่ 3-aminophenol, resorcinol และ α-naphthol[1, 2] เป็นต้น แต่เนื่องจากสารกลุ่มอะโรมาติกเอมีนส์ และอะโรมาติกส์ฟีนอล บางชนิดมีรายงานว่าอาจก่อให้เกิดมะเร็งและก่อการกลายพันธุ์ เช่น o-phenylenediamine (oPDA), m-phenylenediamine (mPDA) และ o-aminophenol (oAP)[3 - 5] กระทรวงสาธารณสุขจึงได้ประกาศเป็นสารย้อมผมห้ามใช้ในเครื่องสำอาง[6, 7] แต่สำหรับสารที่ใช้ย้อมผมและหรือใช้เป็นสารคู่ควบที่มีความเสี่ยงที่จะเป็นอันตรายต่อสุขภาพต่ำ หากได้รับปริมาณสูงอาจทำให้เกิดการแพ้ได้ เช่น pPDA, RES และ pTDA เป็นต้น ดังนั้นประกาศกระทรวงสาธารณสุขได้ควบคุมปริมาณการใช้โดยให้ผสมได้ไม่เกินร้อยละโดยน้ำหนัก เท่ากับ 2 (หลังการผสม) 5 และ 4 (หลังการผสม) ตามลำดับ[8] นอกจากนี้ยังมีประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่ได้กำหนดเกณฑ์ยอมรับค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณสารสำคัญในเครื่องสำอาง ซึ่งยอมรับให้คลาดเคลื่อนได้น้อยกว่าไม่เกินร้อยละ 15 หรือมากกว่าไม่เกินร้อยละ 18[9]

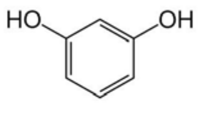
ก. กลุ่มสารย้อมผมที่อนุญาตให้ใช้โดยควบคุมปริมาณ



pPDA

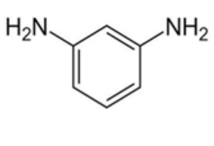


pTDA

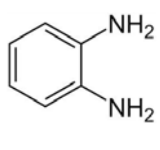


RES

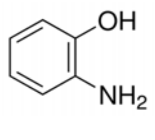
ข.กลุ่มสารย้อมผมห้ามใช้



mPDA

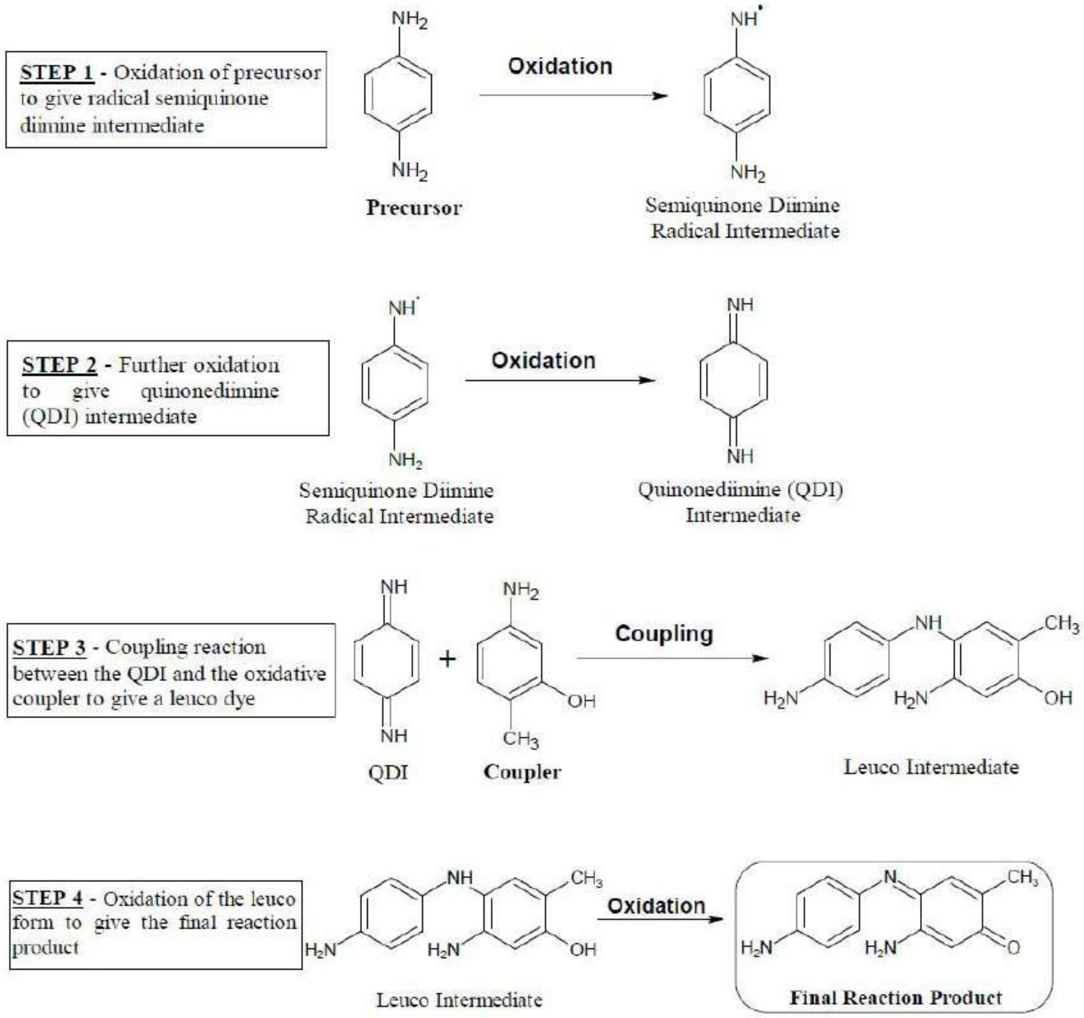


oPDA



oAP

ภาพที่ 1 สูตรโครงสร้างของสารย้อมผมที่อนุญาตให้ใช้โดยควบคุมปริมาณ (ก) และสารย้อมผมห้ามใช้ (ข)



ภาพที่ 2 กลไกปฏิกิริยาการเกิดสีของ oxidative hair dye กับ coupler[2]

นอกจากนี้เพื่อรองรับการเป็นประชาคมอาเซียนในปลายปี พ.ศ.2558 นี้ ประเทศไทยได้ลงนามในข้อตกลงที่จะปรับกฎระเบียบด้านเครื่องสำอางให้สอดคล้องกันในกลุ่มประเทศสมาชิกอาเซียน (Agreement on the ASEAN Harmonized Cosmetic Regulation Scheme) โดยประเทศไทยได้นำ ASEAN Cosmetic Directive เฉพาะส่วนที่ไม่ขัดกับพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 มาใช้ในการกำกับดูแลเครื่องสำอางที่วางจำหน่ายในประเทศไทย และมีการปรับกฎระเบียบต่าง ๆ ให้สอดคล้องกับข้อตกลงดังกล่าว[10] เช่น กำหนดให้เครื่องสำอางทุกชนิดเป็นเครื่องสำอางควบคุมที่ผู้ผลิตและผู้นำเข้าจะต้องมาแจ้งข้อมูลอันจำเป็นของการผลิตทุกรายการต่อกระทรวงสาธารณสุขก่อนที่จะผลิตหรือนำเข้า[11] เป็นต้น

จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าในรอบ 10 ปีที่ผ่านมายังไม่พบการรายงานสถานการณ์ที่เกี่ยวกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์ย้อมผมของสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายและของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ด้วยความตระหนักถึงความเสี่ยงและอันตรายที่อาจเกิดกับผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ย้อมผมซึ่งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย จึงได้รวบรวมข้อมูลวิเคราะห์และสังเคราะห์ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการของผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่จำหน่ายในประเทศและที่นำเข้ามาจากต่างประเทศที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเป็นผู้ส่งตรวจ เพื่อรายงานผู้บริโภคและเพื่อใช้เป็นข้อมูลการบริหารจัดการผลิตภัณฑ์ย้อมผมให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน : pPDA, pTDA และ RES ใช้ผลิตภัณฑ์ของ Merck และ oPDA, oAP และ mPDA ผลิตภัณฑ์ของ Sigma-Aldrich ความบริสุทธิ์มากกว่าร้อยละ 90 พร้อมใบรับรอง

สารเคมี : สารเคมีใช้ผลิตภัณฑ์ของ Merck (AR grade) ได้แก่ methylene chloride (CH_2Cl_2), ethyl acetate (EtOAc), ethanol (EtOH), acetic acid (HOAc), acetone, sodium sulfite, sodium carbonate, p-dimethylaminobenzaldehyde, 2, 6-dichloroquinone-4-chloroimide, และ ammonium acetate, acetronitrile (HPLC grade) และ methanol (HPLC grade)

เครื่องมือและอุปกรณ์

Thin layer chromatography (TLC) ประกอบด้วย โถแก้ว (TLC tank) และแผ่น TLC ชนิดอะลูมิเนียมหรือแก้วขนาด 10 × 20 เซนติเมตร ที่เคลือบผิวด้านหนึ่งด้วย silica gel GF254 หนา 0.25 มิลลิเมตร, เครื่องโครมาโทกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ผลิตภัณฑ์ของ Water รุ่น Alliance ประกอบด้วย เครื่องตรวจวัดชนิด Photo Diode-Array และชุดประมวลผลโปรแกรม Empower 2.0, Ion Analyzer ผลิตภัณฑ์ของ Thermo Electron Scientific, เครื่องชั่งความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม ผลิตภัณฑ์ของ Mettler Toledo, อ่างน้ำความถี่สูง (ultrasonic bath) ผลิตภัณฑ์ของ CREST, เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 3000 รอบต่อนาที ผลิตภัณฑ์ของ Hetich รุ่น ERA 12, หลอดสำหรับกรองแบบปั่นแยกชนิด PVDF ขนาด 50 มิลลิลิตร, ชุดกรองพร้อมแผ่นกรองชนิด PVDF ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 และ 47 มิลลิเมตร, capillary tube ขนาด 1, 2, 5 และ 10 ไมโครลิตร, กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และขวดแก้วสีชาพร้อมฝาเกลียวขนาด 4 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง

ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวร ที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเก็บจากแหล่งจำหน่าย เช่น ห้างสรรพสินค้า ร้านค้าขายปลีกและขายส่ง แหล่งผลิตภายในประเทศในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล และจากด่านอาหารและยา แล้วนำส่งระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2556 จำนวนรวม 237 ตัวอย่าง โดยแบ่งตัวอย่างเป็น 2 กลุ่มตามวัตถุประสงค์ของการนำส่ง คือ กลุ่มวิเคราะห์หาสารย้อมผมห้ามใช้จำนวน 3 ชนิด คือ mPDA, oPDA และ oAP จำนวน 113 ตัวอย่าง และกลุ่มวิเคราะห์ปริมาณสารย้อมผมที่อนุญาตให้ใช้โดยควบคุมปริมาณ จำนวน 3 ชนิด คือ pPDA, pTDA และ RES และ จำนวน 124 ตัวอย่าง

วิธีการทดสอบ ตรวจวิเคราะห์หาสารย้อมผมห้ามใช้ในผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรด้วยเทคนิค Thin Layer Chromatograph (TLC) ซึ่งมีขีดจำกัดในการตรวจพบสำหรับสาร mPDA, oPDA และ oAP เท่ากับ 0.0005 0.003 และ 0.003% w/w ตามลำดับ และตรวจยืนยันโดยใช้เครื่อง HPLC ส่วนการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณการใช้ด้วยเครื่อง HPLC ซึ่งมีขีดจำกัดในการตรวจวัดปริมาณเท่ากับ 0.025% w/w โดยมีรายละเอียดของการดำเนินการตรวจวิเคราะห์ ดังนี้

ตัวทำละลายเคลื่อนที่สำหรับ TLC

solvent system 1; CH_2Cl_2: EtOAc: 95% EtOH: HOAc ในอัตราส่วน 70 : 20 : 12 : 4 โดยปริมาตร

solvent system 2; CH_2Cl_2: Acetone: 95% EtOH: HOAc ในอัตราส่วน 70 : 20 : 12 : 4 โดยปริมาตร

สารเคมีที่ใช้ทำปฏิกิริยา

detecting reagent 1 : 1% p-dimethylaminobenzaldehyde ใน ethanol

detecting reagent 2 : 10% w/v sodium carbonate สเปรย์ทับด้วย 1% w/v 2,6-dichloroquinone-4-chloroimide ใน methylene chloride

สภาวะของเครื่อง HPLC

Column:	Hypersil C18 ขนาด 4.6 มิลลิเมตร × 150 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร
Mobile phase:	acetronitrile: methanol: 0.02 M ammonium acetate buffer, pH 7.5 ในอัตราส่วน 2.5 : 2.5 : 95 โดยปริมาตร
Flow rate:	1 มิลลิลิตรต่อนาที
Detector:	DAD 200 – 400 nm, lambda max 280 nm
Inject volume:	20 ไมโครลิตร

การตรวจเอกลักษณ์สารย้อมผมห้ามใช้โดยวิธี TLC[12]

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม เติมสารละลาย 5% w/v sodium sulfite 1 มิลลิลิตร ทันที เติม 95% ethanol 5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน แล้วกรองสารละลายด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หากตัวอย่างเป็นครีมเหนียวละลายยาก ให้ถ่ายใส่หลอดสำหรับกรองแบบปั่นแยกและนำไปปั่นด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง เก็บสารละลายที่ได้ในขวดแก้วสีชาสำหรับวิเคราะห์ด้วยวิธี TLC

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานสารย้อมผมห้ามใช้ 3 ชนิด ได้แก่ mPDA, oPDA และ oAP โดยชั่งสารมาตรฐานแต่ละชนิด 0.0250 กรัม ใส่ใน volumetric flask สีชาขนาด 25 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 5% w/v sodium sulfite 1 มิลลิลิตร ละลายและปรับปริมาตรด้วย 95% ethanol จะได้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดเท่ากับ 1 ไมโครกรัมต่อไมโครลิตร

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

เตรียมแผ่น TLC ขนาด 10 × 10 หรือ 10 × 20 เซนติเมตร จำนวน 2 แผ่น หรือตามความเหมาะสมกับจำนวนตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ในแต่ละครั้ง นำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 2 ไมโครลิตร และสารละลายมาตรฐานสารย้อมผมห้ามใช้ 3 ชนิด คือ mPDA, oPDA และ oAP ปริมาณชนิดละ 0.5 ไมโครลิตร spot บนแผ่น TLC แล้วนำแผ่น TLC ไปแช่ใน solvent system 1 และ solvent system 2 อย่างละ 1 แผ่น จากนั้นนำมาแผ่น TLC สเปรย์ด้วย detecting reagent 1 บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพแผ่น TLC และสเปรย์ทับด้วย detecting reagent 2 บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพอีกครั้ง

การอ่านและการแปลผล

อ่านจาก spot หรือ band ของสารตัวอย่างเทียบกับสารมาตรฐานบนแผ่น TLC โดยต้องมีค่า Rf เท่ากันและมีสีเหมือนกัน โดยสารมาตรฐานทั้ง 3 ชนิด จะให้สีเหลืองกับ detecting reagent 1 และให้สีน้ำตาลถึงสีส้มกับ detecting reagent 2 ตัวอย่างที่ตรวจพบสารย้อมผมห้ามใช้ต้องนำไปตรวจยืนยันด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณสารย้อมผมโดยวิธี HPLC[13]

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐาน pPDA, pTDA และ RES แต่ละชนิด 0.0250 กรัม ใส่ใน volumetric flask สีชาขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 5% w/v sodium sulfite 1 มิลลิลิตร ละลายด้วย methanol 10 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วย mobile phase สารละลายมาตรฐานผสมที่ได้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเจือจางต่อให้ได้ความเข้มข้น 2, 6, 10, 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.1 – 0.5 กรัม หรือตามความเหมาะสมให้มีความเข้มข้นของสารอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐานใน volumetric flask สีชาขนาด 25 มิลลิลิตร เติม 5% w/v sodium sulfite 1 มิลลิลิตร แล้วละลายครีมตัวอย่างด้วย methanol 10 มิลลิลิตร หากเป็นครีมเหนียวหรือครีมที่ละลายยากให้เติม mobile phase เพื่อช่วยละลายก่อนนำไป sonicate จนกระทั่งครีมแตกตัว หรือละลายหมด แล้วปรับปริมาตรด้วย mobile phase สารละลายตัวอย่างนี้อาจมีการเจือจางตามความเหมาะสมโดยต้องเติม 5% w/v sodium sulfite 1 มิลลิลิตร ทุกครั้ง กรองสารละลายตัวอย่างด้วยชุดกรองพร้อมแผ่นกรองชนิด PVDF ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใส่ในขวดแก้วสีชาสำหรับฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยวิเคราะห์ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ

การหาค่าร้อยละของการคืนกลับของตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างและเติมสารละลายมาตรฐาน pPDA, pTDA และ RES แล้วเจือจางเช่นเดียวกับการเตรียมสารละลายตัวอย่างโดยให้ความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ทำ system suitability โดยฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ค่า system suitability อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดตามมาตรฐานสากล แล้วจึงฉีดสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 2, 6, 10, 20 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทำกราฟมาตรฐานให้ได้ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) ≥ 0.995 หลังจากนั้นให้ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามด้วยสารละลายตัวอย่าง 2 ซ้ำ และสารละลาย spiked sample 2 ซ้ำ ตามลำดับ และฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แทรกทุกการฉีด 10 ครั้ง และเมื่อสิ้นสุดการวิเคราะห์ โปรแกรมการประมวลผล Empower version 2.0 ของเครื่อง HPLC จะคำนวณความเข้มข้นและแปลงหน่วยเป็น %w/w ของสารย้อมผมในตัวอย่าง

การควบคุมคุณภาพของผลการวิเคราะห์

- ค่า system suitability อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งขึ้นกับผลที่ได้จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือการทวนสอบก่อนที่จะนำวิธีมาใช้ในการวิเคราะห์
- ใช้สารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวอย่างในการควบคุมคุณภาพ โดยการฉีดสารมาตรฐานดังกล่าวหลังจากสร้างกราฟมาตรฐาน และฉีดแทรกทุก ๆ การฉีด 10 ครั้ง และเมื่อสิ้นสุดการวิเคราะห์ คำนวณค่า %RPD ของค่าพื้นที่ใต้พีคของการฉีดแต่ละครั้งเทียบกับค่าพื้นที่ใต้พีคเมื่อทำกราฟมาตรฐาน ซึ่งต้องไม่เกินร้อยละ 3
- คำนวณ %RPD ของผลวิเคราะห์สารย้อมผมในตัวอย่างจากการวิเคราะห์ซ้ำ 2 ครั้ง ต้องไม่เกินร้อยละ 3
- คำนวณ % recovery จากการวิเคราะห์ spiked sample ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 90 – 110

การตรวจยืนยันสารย้อมผมห้ามใช้ด้วยวิธี HPLC

ตัวอย่างที่ตรวจพบสารย้อมผมห้ามใช้โดยวิธี TLC ให้ดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณสารย้อมผม ยกเว้นการเตรียม spiked sample โดยการ spike สารมาตรฐานที่ต้องการยืนยันให้มีความเข้มข้นเท่ากับขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงคุณภาพของวิธีวิเคราะห์ (Limit of detection, LOD)

การอ่านและการแปลผล

เปรียบเทียบค่า retention time และ spectrum ของตัวอย่างและสารมาตรฐานต้องเหมือนกัน

ผล

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายตรวจวิเคราะห์ระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2556 จำนวน 237 ตัวอย่าง 74 เครื่องหมายการค้า แบ่งเป็น 2 กลุ่มตามวัตถุประสงค์ในการส่งตรวจของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยานำส่ง ได้แก่ กลุ่มที่ 1 เป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ต้องการตรวจหาสารย้อมผมห้ามใช้ 3 ชนิด คือ mPDA, oPDA และ oAP จำนวน 113 ตัวอย่าง 56 เครื่องหมายการค้า ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ จำนวน 71 ตัวอย่าง 37 เครื่องหมายการค้า นำเข้ามาจำหน่ายจากต่างประเทศจำนวน 6 ตัวอย่าง 4 เครื่องหมายการค้า และจะนำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อจำหน่ายจำนวน 36 ตัวอย่าง 15 เครื่องหมายการค้า กลุ่มที่ 2 เป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ต้องการให้ตรวจหาปริมาณสารย้อมผม 3 ชนิด คือ pPDA, pTDA และ RES จำนวน 124 ตัวอย่าง 59 เครื่องหมายการค้า ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ผลิตในประเทศจำนวน 77 ตัวอย่าง 31 เครื่องหมายการค้า นำเข้ามาจำหน่ายจากต่างประเทศจำนวน 24 ตัวอย่าง 12 เครื่องหมายการค้า และจะนำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อจำหน่ายจำนวน 23 ตัวอย่าง 16 เครื่องหมายการค้า ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่นำเข้าจากต่างประเทศที่ศึกษาครั้งนี้พบว่านำเข้ามาจาก 9 ประเทศ โดยนำเข้ามาจากประเทศจีนมากที่สุด (ตารางที่ 1)

ในส่วนของกลุ่มผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ตรวจหาสารย้อมผมห้ามใช้นั้นตรวจพบสารย้อมผมห้ามใช้ 4 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 3.5 โดยสารย้อมผมห้ามใช้ที่พบ คือ mPDA และ oAP ซึ่งตรวจพบในผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่จะนำเข้าจากประเทศจีนและเกาหลีใต้เท่านั้น

สำหรับกลุ่มผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ตรวจหาปริมาณสารย้อมผมนั้นพบว่ามีผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่ไม่ได้มาตรฐานจำนวน 52 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 41.9 โดยเป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่ผลิตในประเทศ นำเข้ามาจำหน่ายจากต่างประเทศและจะนำเข้ามาจำหน่ายจำนวน 34, 10 และ 8 ตัวอย่างตามลำดับ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากประเทศจีนมากที่สุด (ตารางที่ 2)

ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ตรวจพบว่าปริมาณสารย้อมผมไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 41.9 (52 จาก 124 ตัวอย่าง) พบว่า เป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาระบุว่าเก็บมาจากผลิตภัณฑ์ที่วางจำหน่ายในห้างสรรพสินค้าและร้านค้า จากแหล่งผลิตภายในประเทศและด่านอาหารและยาคิดเป็นร้อยละ 31.4, 1.6 และ 8.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไม่ได้มาตรฐานนั้นพบว่ามีผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารย้อมผมไม่ตรงกับฉลากและมีปริมาณสารย้อมผมที่ใช้ไม่ตรงกับที่ฉลากระบุ จำนวน 6 และ 46 ตัวอย่างตามลำดับ โดยมีปริมาณสารย้อมผมในผลิตภัณฑ์ย้อมผมต่ำกว่า สูงกว่า และต่ำและ/หรือสูงกว่าตามที่ระบุในฉลากเกินเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขจำนวน 28, 15 และ 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 22.6, 12.1 และ 2.4 ตามลำดับ ซึ่งในจำนวนนี้เป็นผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ใช้สารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณการใช้มากกว่า 1 ชนิดจำนวน 15 ตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน (ตารางที่ 4) โดยมีปริมาณสารที่ใช้อยู่ระหว่างน้อยกว่า 1 ถึงมากกว่า 4% w/w (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 1 รายละเอียดและที่มาของตัวอย่างที่ศึกษาแบ่งเป็นกลุ่มที่ต้องการตรวจสารย้อมผมห้ามใช้ และกลุ่มที่ต้องการตรวจสารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณการใช้

ที่มาของตัวอย่าง	กลุ่มที่ต้องการตรวจสารย้อมผมห้ามใช้		กลุ่มที่ต้องการตรวจสารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณการใช้	
	จำนวนตัวอย่าง	เครื่องหมายการค้า	จำนวนตัวอย่าง	เครื่องหมายการค้า
1. ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ	71	37	77	31
2. ผลิตภัณฑ์ที่นำเข้าจากต่างประเทศมาจำหน่าย	6	4	24	12
- จีน	0	0	13	7
- เกาหลีใต้	0	0	0	0
- ญี่ปุ่น	2	1	5	3
- อินเดีย	0	0	2	1
- สหภาพยุโรป	1	1	4	1
- สหรัฐอเมริกา	3	2	0	0
3. ผลิตภัณฑ์ที่จะนำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อจำหน่าย	36	15	23	16
- จีน	12	1	4	4
- เกาหลีใต้	4	2	3	2
- ญี่ปุ่น	2	1	5	2
- อินเดีย	8	5	2	1
- สหภาพยุโรป	5	2	5	5
- สหรัฐอเมริกา	4	3	4	2
- แคนาดา	1	1	0	0
รวม	113	56	124	59

ตารางที่ 2 ผลการตรวจผลิตภัณฑ์ย้อมผม

ที่มาของตัวอย่าง	สารย้อมผมห้ามใช้		สารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณการใช้	
	จำนวนตัวอย่าง	พบ	จำนวนตัวอย่าง	ไม่ได้มาตรฐาน
1. ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ	71	0	77	34
2. ผลิตภัณฑ์ที่นำเข้ามาจำหน่ายจากต่างประเทศ	6	0	24	10
- จีน	0	0	13	7
- เกาหลีใต้	0	0	0	0
- ญี่ปุ่น	2	0	5	1
- อินเดีย	0	0	2	2
- สหภาพยุโรป	1	0	4	0
- สหรัฐอเมริกา	3	0	0	0
3. ผลิตภัณฑ์ที่จะนำเข้ามาจากต่างประเทศเพื่อจำหน่าย	36	4	23	8
- จีน	12	2	4	4
- เกาหลีใต้	4	2	3	2
- ญี่ปุ่น	2	0	5	0
- อินเดีย	8	0	2	0
- สหภาพยุโรป	5	0	5	1
- สหรัฐอเมริกา	4	0	4	1
- แคนาดา	1	0	0	0
รวม	113	4	124	52

ตารางที่ 3 แสดงแหล่งที่เก็บตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่ไม่เข้ามาตรฐานตามฉลากระบุ

แหล่งเก็บ	จำนวนที่เก็บส่งตรวจ (ตัวอย่าง)	จำนวนที่ไม่ได้มาตรฐาน (ตัวอย่าง/ร้อยละ)
ห้างสรรพสินค้าและร้านค้า	78	39/31.4
บริษัทผู้ผลิต/ผู้นำเข้า	17	2/1.6
ด่านอาหารและยา	29	11/8.9
รวม	124	52/41.9

ตารางที่ 4 สาเหตุที่ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ศึกษาปริมาณสารย้อมผมที่ควบคุมปริมาณไม่ได้มาตรฐาน

สาเหตุ	สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐาน (จำนวนตัวอย่าง/ร้อยละ)		
	ต่ำกว่าที่ระบุ	สูงกว่าที่ระบุ	ต่ำและ/หรือสูงกว่าที่ระบุ
1. ใช้สารย้อมผม 1 ชนิด			
- pPDA	5	6	-
- pTDA	1	1	-
- RES	12	6	-
2. ใช้สารย้อมผม 2 ชนิด			
- RES และ pPDA	10	2	2
- RES และ pTDA	0	0	1
รวม	28/22.6	15/12.1	3/2.4

ตารางที่ 5 การจำแนกช่วงความเข้มข้นเป็น 5 ช่วง ตามความเข้มข้นของสารย้อมผมแต่ละชนิดที่ตรวจพบ (%w/w)

	จำนวนตัวอย่างแต่ละช่วงความเข้มข้นที่พบ (%w/w)				
	< 1.00	1.00 – 2.00	2.01 – 3.00	3.01 – 4.00	> 4.00
pPDA	33	29	31	9	3
pTDA	6	6	2	4	1
RES	76	23	1	1	0

วิจารณ์

การศึกษานี้แม้ว่าจะมีข้อจำกัดเรื่องความครอบคลุมและการเป็นตัวแทนที่แท้จริงของผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวร เนื่องจากเป็นการศึกษาที่รวบรวม วิเคราะห์ และสังเคราะห์ผลตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ย้อมผมที่เป็นการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา แต่ก็สามารถบ่งชี้ข้อมูลที่เป็นประเด็นในการพัฒนาระบบเฝ้าระวังคุณภาพและความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบติดสีถาวรและเป็นข้อมูลเพื่อการตัดสินใจในการใช้และการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

รายงานศึกษาเป็นคุณภาพของผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบติดสีถาวรซึ่งเป็นที่นิยมใช้ทั่วไปของสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายครั้งนี้นับครั้งที่ 3 ซึ่งมีการปรับเปลี่ยนให้เป็นปัจจุบันมีครอบคลุมชนิดของสารที่นิยมใช้เพิ่มขึ้นและเป็นไปตามข้อกำหนดของกฎหมาย โดยครอบคลุมสารที่ห้ามใช้ 3 ชนิด คือ mPDA, oPDA และ oAP และสารที่กำหนดปริมาณการใช้ 3 ชนิด คือ RES, pPDA และ pTDA ซึ่งการศึกษาที่ผ่านมาเป็นการศึกษาเฉพาะสารย้อมผมเพียง 2 ชนิด คือ pPDA และ pTDA[14, 15] ซึ่งขณะนั้นกฎหมายจัดเป็นสารย้อมผมที่กำหนดปริมาณการใช้ แต่การศึกษานี้ศึกษาทั้งสารย้อมผมที่กฎหมายห้ามใช้ 3 ชนิด คือ mPDA, oPDA และ oAP และสารย้อมผมที่กำหนดปริมาณการใช้ 3 ชนิด คือ RES, pPDA และ pTDA

ข้อมูลจากการศึกษานี้พบว่าผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่จดแจ้งแล้วทั้งในส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตภายในประเทศและที่นำเข้ามาจำหน่ายตรวจไม่พบสารย้อมผมที่กฎหมายห้ามใช้ ซึ่งแสดงว่าผู้ที่ได้รับอนุญาตจดแจ้ง

ผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรรับทราบข้อกำหนดของกฎหมาย ทำให้ผู้บริโภคมั่นใจได้ว่าไม่มีความเสี่ยงจากสารดังกล่าว แต่มีเพียงผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่นำเข้ามาจากประเทศจีนและเกาหลีใต้เพื่อจำหน่ายจำนวน 4 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบ mPDA และ oAP ซึ่งเป็นสารกลุ่มอะโรมาติกเอมีนส์ที่มีรายงานว่ามีผลทำให้โครโมโซมผิดปกติใน *In Vitro* และเป็นสารก่อการกลายพันธุ์ใน *In Vivo*[4, 5] ซึ่งตามกฎหมายไทยจัดเป็นสารที่ไม่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค เนื่องจากแต่ละประเทศจะมีข้อกำหนดเรื่องการใช้สารเหล่านี้ไม่เหมือนกัน ดังนั้นผู้ประกอบการที่จะนำเข้าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจำเป็นจะต้องศึกษากฎระเบียบเพื่อกำหนดเป็นเงื่อนไขและใช้เป็นข้อมูลในการเจรจาจากับคู่ค้าเพื่อให้มั่นใจได้ว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ที่จะนำเข้ามาจำหน่ายที่เป็นไปตามเงื่อนไขของกฎหมายของประเทศไทยและไม่ก่อให้เกิดความเสี่ยงกับผู้บริโภค

ในส่วนสารย้อมผมที่กฎหมายกำหนดปริมาณการใช้ที่ศึกษา 3 ชนิด คือ RES, pPDA และ pTDA ซึ่งพบว่า ไม่ได้มาตรฐานร้อยละ 41.9 โดยพบในผลิตภัณฑ์ที่จดแจ้งแล้วทั้งผลิตภายในประเทศและนำเข้ามาจำหน่าย และที่จะนำเข้ามาจากต่างประเทศค่อนข้างสูง และมีอุบัติการณ์ของการตรวจพบปริมาณสารที่ไม่ได้มาตรฐานสูง ไม่แตกต่างจากที่เคยมีรายงานเรื่องนี้ในปี พ.ศ. 2532 และระหว่างปี พ.ศ. 2536 – 2538 ซึ่งพบร้อยละ 40 และ 30.7 ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลการศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรที่ควบคุมปริมาณสาร

ผู้วิจัย	ปีที่ศึกษา พ.ศ.	สารที่ศึกษา	ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศ		ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากต่างประเทศ	
			จำนวน	ไม่ได้มาตรฐาน	จำนวน	ไม่ได้มาตรฐาน
1. ประเทือง รอดเพ็งสังคหะ และคณะ	2532	pPDA และ pTDA	33	13	7	3
2. สุภาณี หิรัญธนกิจจากุล และคณะ	2535 – 2538	pPDA	103	26	102	37
3. ศิริพร ทองประกายแสง และคณะ	2555 – 2556	pPDA, pTDA และ RES	78	39	46	13

การศึกษานี้บ่งชี้ว่าสาเหตุที่ผลิตภัณฑ์ไม่ได้มาตรฐานปริมาณการใช้สารย้อมผมที่ระบุไม่เป็นไปตามข้อกำหนด โดยมีปริมาณสารที่ใช้ต่ำกว่า สูงกว่า และต่ำและหรือสูงกว่าที่กำหนด ซึ่งเป็นปัญหาปริมาณคลาดเคลื่อนจากที่ระบุในฉลาก และใช้สารไม่ตรงกับที่ระบุ จำนวน 46 และ 6 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 37.1 และ 4.8 ตามลำดับ ในจำนวนนี้เป็นผลิตภัณฑ์ใช้สารย้อมผมเพียงชนิดเดียวและใช้สองชนิดจำนวน 31 และ 15 ตัวอย่าง โดยปริมาณสารย้อมผมที่ไม่ได้มาตรฐานจะพบมากอยู่ในช่วงที่ต่ำกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากการควบคุมคุณภาพการผลิตยังไม่ได้มาตรฐาน หรือเกิดจากการสลายตัวของสารขณะขนส่งหรือระหว่างจำหน่ายซึ่งส่วนมากเกิดจากการใช้บรรจุภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสม ทำให้สารดังกล่าวถูกออกซิไดส์หรือในบางสูตรตำรับที่เกิดออกซิไดส์อย่างรวดเร็วในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งอาจทำให้ปริมาณของสารที่วิเคราะห์ต่ำกว่าที่ฉลากระบุได้ ดังนั้นผู้ผลิตจึงควรเติมสารป้องกันการเกิดออกซิไดส์ที่เหมาะสมในสูตรตำรับด้วย

การศึกษานี้ไม่สรุปเรื่องปริมาณสารเกินเกณฑ์ควบคุมตามกฎหมายกำหนด เนื่องจากไม่สามารถบ่งชี้เรื่องปริมาณสารย้อมผมหลังการผสมได้ ทั้งนี้ปัจจุบันห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เฉพาะกรณีก่อนผสม เนื่องจากมีข้อจำกัด

ด้วยคุณสมบัติของสารย้อมผมเป็นสารที่ไวต่อการเกิดออกซิไดส์และสามารถเปลี่ยนเป็น primary intermediate ได้อย่างรวดเร็ว ปริมาณสารจึงไม่เสถียรยากต่อการตรวจวิเคราะห์หลังผสมได้ ข้อสังเกตสำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณ pPDA ก่อนผสมสูงกว่า 4% w/w จำนวน 3 ตัวอย่าง จากผลการตรวจวิเคราะห์นั้น หากผู้บริโภคผสมด้วยอัตรา 1 : 1 ตามฉลากระบุ อาจจะอนุมานได้ว่าตัวอย่างกลุ่มนี้มีปริมาณสารเกินเกณฑ์ความปลอดภัยนั่นเอง นอกจากนี้ปริมาณสารหลังผสมขึ้นกับอัตราส่วนการผสมของผู้บริโภคเป็นสำคัญ ฉะนั้นการกำหนดเกณฑ์หลังผสมมีความเสี่ยงที่จะไม่ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคกลุ่มที่ไม่อ่านฉลากก่อนใช้หรือกลุ่มที่ไม่ตระหนักต่อคำแนะนำในการใช้บนฉลาก

สรุป

จากผลการศึกษาแม้จะมีข้อจำกัดแต่ก็สามารถบ่งชี้ได้ว่าผลิตภัณฑ์ย้อมผมแบบสีติดถาวรยังไม่ได้มาตรฐานทั้งในส่วนของการใช้สารที่ห้ามใช้และปริมาณสารที่ใช้ไม่เป็นไปตามข้อกำหนดซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายกับผู้บริโภคได้ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องพัฒนาขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการให้สามารถรองรับการตรวจวิเคราะห์ได้ครอบคลุมตามที่กฎหมายกำหนด การพัฒนาระบบฐานข้อมูลที่มีคุณภาพเพื่อใช้ในการพัฒนาระบบการเฝ้าระวังให้มีประสิทธิภาพและประสิทธิผลยิ่งขึ้น และจำเป็นจะต้องพัฒนาผู้ประกอบการเพื่อให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันที่จะส่งออกผลิตภัณฑ์เหล่านี้และเพื่อสร้างความมั่นใจให้ผู้บริโภค ตลอดจนการให้ความรู้ความเข้าใจแก่ผู้บริโภคเพื่อให้สามารถเลือกซื้อและใช้ผลิตภัณฑ์เหล่านี้เพื่อลดความเสี่ยง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายบำรุง คงดี ผู้อำนวยการสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย ที่ให้การสนับสนุนและผลักดันในการจัดทำผลงานวิชาการฉบับนี้ และขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงสำหรับนางสาวจารุวรรณ ลิ้มสัจจะสกุล ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ให้คำแนะนำ ตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่อง จนผลงานวิชาการฉบับนี้มีความสมบูรณ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายทุกท่านที่มีส่วนทำให้งานนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. General introduction to the chemistry of dyes. In: IARC. Monographs Volume 99 [online]. 2015; [cited 2015 Mar 2]; [13 screens]. Available from: URL: http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol99/mono99-7.pdf.
2. Scientific Committee on Consumer Safety. SCCS/1311/10. Opinion on reaction products of oxidative hair dye ingredients formed during hair dyeing processes [online]. 2010; [cited 2010 Sep 21]; [76 screens]. Available from: URL: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_037.pdf.
3. Baan R, Straif K, Grosse Y, Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, et al. Carcinogenicity of some aromatic amines, organic dyes, and related exposures. Lancet Oncol 2008; 9(4): 322-3.
4. Yoon JS, Mason JM, Valencia R, Woodruff RC, Zimmering S. Chemical mutagenesis testing in Drosophila: IV. Results of 45 coded compounds tested for the National Toxicology Program. Environ Mutagen 1985; 7(3): 349-67.
5. Zeiger E, Anderson B, Haworth S, Lawlor T, Mortelmans K. Salmonella mutagenicity tests. IV. Results from the testing of 300 chemicals. Environ Mol Mutagen 1988; 11(Suppl 12): 1-157.

6. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 80 ง (ลงวันที่ 12 พฤษภาคม 2551).
7. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดวัตถุที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 4) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 129 ตอนพิเศษ 39 ง (ลงวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2555).
8. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดชื่อและปริมาณของวัตถุที่อาจใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอาง (ฉบับที่ 2) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 129 ตอนพิเศษ 39 ง (ลงวันที่ 23 กุมภาพันธ์ 2555).
9. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 14) พ.ศ. 2536 เรื่อง กำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนของปริมาณสารสำคัญในเครื่องสำอาง ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 111 ตอนพิเศษ 11 ง (ลงวันที่ 18 กุมภาพันธ์ 2537).
10. พรพรรณ สุนทรธรรม. ผลกระทบจากการปรับกฎระเบียบด้านเครื่องสำอางให้สอดคล้องกันในกลุ่มประเทศอาเซียนของประเทศไทย : กรณีศึกษาเครื่องสำอางย้อมผมชนิดสีติดทนถาวร. วารสารอาหารและยา 2554; 18(3): 73-82.
11. พระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2535 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การกำหนดเครื่องสำอางควบคุม ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 125 ตอนพิเศษ 157 ง (ลงวันที่ 25 กันยายน 2551).
12. Analysis of hair dyes. In: Senzel A J, Editor. Newburger's manual of cosmetic analysis. 2nd ed. Washington, DC: AOAC; 1977. p. 98-103.
13. Penner NA, Nesterenko PN. Simultaneous determination of dihydroxybenzenes, aminophenols and phenylenediamines in hair dyes by high-performance liquid chromatography on hypercross-linked polystyrene. Analyst 2000; 125(7): 1249-54.
14. ประเทือง รอดเพ็งสังคหะ, สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์, ชมไฉไล สินธุสาร, วรรณา หงส์หิรัญเรือง และนวพร อนันตสินกุล. การสำรวจหาปริมาณพาราฟีนีลีนไดอะมีน และพาราโทลูอีนไดอะมีนในยาย้อมผมที่มีจำหน่ายในประเทศไทย. ว กรมวิทย พ 2538; 37(3): 257-69.
15. สุภาณี หิรัญธนกิจจากุล, สุดธิดา กงทอง และประเทือง รอดเพ็งสังคหะ. การศึกษาปริมาณพาราฟีนีลีนไดอะมีนในยาย้อมผมที่จำหน่ายในประเทศไทย. ว กรมวิทย พ 2539; 38(4): 241-54.

Quality of Permanent Hair Dye Products in Thailand between 2012 – 2013

Siriporn Thongprakaisang Kamonluck Intharatsamee and Jumrern Duangngnamying

Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Department of Medical Sciences, Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABTRACT Between 2012 – 2013, the quality of totally 237 samples of 74 brands of permanent hair dyes products were surveyed. The samples could be divided into two groups following different objectives. The first group is 113 samples of 56 brands which comprised 71 samples 37 brands of locally manufactured and 42 samples of 19 brands of products from abroad. The first group is for identification of 3 prohibited hair dyes i.e. m-Phenylenediamine (mPDA), o-Phenylenediamine (oPDA) and o-Aminophenol (oAP). The second group is 124 samples of 59 brands which comprised 77 samples of 31 brands of locally manufactured and 47 samples of 28 brands of products from abroad. The second group is for quantification of 3 hair dye of restricted use i.e. p-phenylenediamine (pPDA), resorcinol (RES) and toluene-2,5-diamine (pTDA). Thin layer chromatography (TLC) and High performance liquid chromatography (HPLC) were used to identify, confirm and quantitative analysis of hair dye. The results showed that prohibited hair dye i.e. mPDA and oAP were detected in 4 imported permanent hair dyes from China and Korea (3.5%). It was found that 52 samples (41.9%) were not conformed to the Notification of the Ministry of public health. It is due to the found amount of restricted used - hair dyes are lower, higher, higher and/or lower than the acceptable criteria for the deviation from the labeling and the found hair dye is not a kind of the list on the label for 28, 15, 3 and 6 samples or 22.6%, 12.1%, 2.4% and 4.8 %, respectively. The concentration of hair dyes were found in the range of 0.02 - 12.98% w/w. Therefore, the laboratory's capacity should be developed to support the law's requirements in order to support in monitoring the safety of consumer products, accordingly.

Key words: hair dye quality, p-Phenylenediamine, Resorcinol, m-Phenylenediamine, o-Aminophenol

การทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก

สุวรรณา เธียรอังกูร

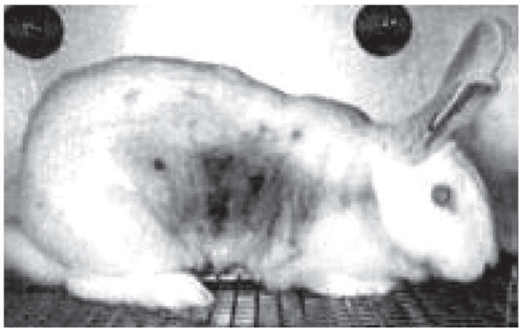
สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การทดสอบความเป็นพิษหรือความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์และวัตถุดิบ ก่อนการนำมาใช้ประโยชน์กับมนุษย์และสิ่งแวดล้อมนั้นเป็นขั้นตอนที่จำเป็น โดยเฉพาะเมื่อสหภาพยุโรปประกาศควบคุมการใช้สารเคมี ด้วยระเบียบสารเคมี (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals-REACH) บังคับให้สารเคมีทุกชนิดทั้งที่นำเข้าและผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยาจึงจะขึ้นทะเบียนและจำหน่ายได้ โดยในการทดสอบด้านพิษวิทยานี้ต้องมีการพิจารณาใช้วิธีทางเลือก (Alternative methods) ตามหลักการ 3Rs ได้แก่ Reduction, Refinement และ Replacement และวิธีทางเลือกดังกล่าวต้องผ่านกระบวนการศึกษาความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้มั่นใจว่าข้อมูลความเป็นพิษที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกนี้มีความเชื่อถือได้และเกี่ยวข้องตรงตามเป้าหมาย และจุดยุติในการทดสอบ (End-point) ที่สนใจศึกษาความเป็นพิษ โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้องได้รับการยอมรับ และเป็นไปตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีอำนาจในการกำกับดูแล (Regulatory authorities) ทั้งนี้ ควรเลือกใช้วิธีทางเลือกที่ได้รับการยอมรับระหว่างประเทศแล้ว เช่น OECD Test Guideline และการทดสอบดังกล่าวต้องดำเนินการโดยห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์จึงจะได้รับการยอมรับร่วม (Mutual Acceptance of Data - MAD) ระหว่างสมาชิกกลุ่มประเทศภาคีขององค์การเพื่อการพัฒนาและความร่วมมือทางเศรษฐกิจ (Organization for Economic Co-operation and Development - OECD) จึงเป็นความจำเป็นที่ประเทศไทยต้องเร่งพัฒนาบุคลากรห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานและหน่วยรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน OECD GLP ที่เป็น Compliance Monitoring Authority (CMA) เพื่อให้ประเทศไทยได้เป็น Full Member Adherence ในกลุ่มประเทศภาคี OECD ทำให้สามารถลดข้อกีดกันทางการค้า และเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในเวทีสากลให้แก่ผู้ประกอบการของไทย และจะเป็นผลให้เศรษฐกิจของประเทศไทยขยายตัวมากขึ้น

Accepted for publication, 17 June 2015

บทนำ

การวิจัยและพัฒนางานวิทยาศาสตร์หลายด้าน โดยเฉพาะในการพัฒนายารักษาโรค และผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ ผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือน ฯลฯ เป็นความจำเป็นอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่ต้องมีการทดสอบความเป็นพิษหรือความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ เพื่อให้ได้ข้อมูลด้านความเป็นพิษต่อระบบต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง และมีการประเมินความเสี่ยง ก่อนการนำผลิตภัณฑ์นั้น ๆ มาใช้กับมนุษย์ การทดสอบความเป็นพิษดังกล่าวนี้ โดยปกติแล้วเป็นการทดสอบโดยใช้ "สัตว์ทดลอง" ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสัตว์กัดแทะ จนถึงสัตว์ใหญ่ที่มีวิวัฒนาการใกล้เคียงมนุษย์มากขึ้น เช่น ลิงไพรเมท (primate) ชนิดและจำนวนสัตว์ทดลองที่นำมาใช้ในการทดลองขึ้นอยู่กับโครงการวิจัยนั้น ๆ โดยคณะกรรมการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของหน่วยงาน พิจารณาว่ากระบวนการใช้สัตว์ทดลองนั้นมีขั้นตอนถูกต้องทางวิทยาศาสตร์ และหลักจรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง ซึ่งต้องคำนึงว่าขั้นตอนในการทดสอบจะสร้างความเครียด ความเจ็บปวดทรมานแก่สัตว์หรือไม่ และต้องคำนึงถึงคุณธรรมที่พึงมีต่อชีวิตสัตว์ที่จะต้องสูญเสียไปในการทดลองแต่ละครั้ง(1) ยกตัวอย่างเช่น การใช้กระต่ายสำหรับทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนังตามวิธี Draize tests ซึ่งอาจมีผลทำให้ผิวหนังกระต่ายอักเสบรุนแรงได้(2) (ภาพที่ 1) ด้วยเหตุนี้จึงมีการวิพากษ์วิจารณ์กันในวงกว้าง และมีหลายองค์กรทั่วโลก โดยเฉพาะกลุ่มประเทศสหภาพยุโรป ต่อต้านการใช้สัตว์ในการทดสอบผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยได้ประกาศห้ามจำหน่าย(3) (Marketing ban) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ผ่านการใช้ทดสอบโดยใช้สัตว์ ในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2556 นอกจากนี้ ยังมีประกาศควบคุมการใช้สารเคมีด้วยระเบียบสารเคมีของสหภาพยุโรป REACH (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals) บังคับให้สารเคมีทุกชนิด ทั้งที่มีอยู่แล้ว และจะผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยา(4-6) ส่งผลให้ผู้ผลิตต้องพยายามหาวิธีทางเลือก (Alternative methods) ทดแทนการใช้สัตว์ในการทดสอบด้านพิษวิทยา เนื่องจากสามารถทดสอบสารเคมีจำนวนมากได้ต่อครั้งการทดสอบ ทดสอบได้รวดเร็วกว่า มีค่าใช้จ่ายน้อยกว่า นอกจากนี้ยังมีการศึกษาระบุว่าผลการทดสอบด้านพิษวิทยาโดยใช้สัตว์ทดลองไม่สามารถทำนายความเป็นพิษได้แม่นยำสำหรับมนุษย์(7-8) การทดสอบด้านพิษวิทยาโดยวิธีทางเลือกจึงจัดเป็นเรื่องที่มีความเกี่ยวข้องและมีผลกระทบโดยตรงต่อเศรษฐกิจการค้าของประเทศ และจำเป็นต้องเร่งดำเนินการ บทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลการศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือก และการพิจารณาใช้วิธีทางเลือกสำหรับทดสอบด้านพิษวิทยาตามมาตรฐานสากล และนำเสนอแนวทางการพัฒนาห้องปฏิบัติการทดสอบพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกของประเทศไทย



ภาพที่ 1 สภาพการอักเสบรุนแรงของผิวหนังกระต่ายที่เป็นผลจากการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวหนังด้วยวิธี Draize tests จาก https://www.dspca.ie/media/UsingAnimalsforTesting Cosmetics1.pdf

แนวโน้มโลกในการทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก

วิธีทางเลือกเป็นวิธีหรือการทดสอบที่มีการปฏิบัติตามหลักการ 3Rs[9] ได้แก่ 1) การลดจำนวนสัตว์ (Reduction) พยายามลดจำนวนสัตว์ทดลองที่จำเป็นต้องใช้ในการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลด้านพิษวิทยาที่เพียงพอและเที่ยงตรง 2) การกลั่นกรอง (Refinement) ต้องมีการปรับปรุงเทคนิคในการปฏิบัติและวิธีการทดสอบเพื่อลดการบาดเจ็บรุนแรง ความเครียด หรือทุกข์ทรมานของสัตว์ทดลอง รวมทั้งคำนึงถึงสวัสดิภาพสัตว์ พัฒนาสภาพแวดล้อมให้สัตว์มีความเป็นอยู่ที่ดี และ 3) การทดแทน (Replacement) การทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมที่มีชีวิต มีความรู้สึก ให้ทดแทนด้วยสิ่งที่ไม่มีความรู้สึก (non-sentient materials) เช่น เซลล์เพาะเลี้ยง เนื้อเยื่อสังเคราะห์ การสร้างแบบจำลองด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ (computer simulation) เป็นต้น

การทดสอบด้านพิษวิทยาซึ่งต้องมีการพิจารณาใช้วิธีทางเลือกตามหลักการ 3Rs นี้ มีเหตุผล และแบบแผนขั้นตอนชัดเจน ในความพยายามที่จะลดจำนวนสัตว์ทดลองที่จำเป็นต้องใช้ หรือลดความทรมานของสัตว์ทดลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้วิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลอง โดยต้องคงคุณภาพผลการทดสอบทางวิทยาศาสตร์ แต่ยังไม่เป็นที่นิยมในการนำมาใช้ด้านพิษวิทยา จนกระทั่งปี พ.ศ. 2529 กลุ่มประเทศสหภาพยุโรป (European Union - EU) ได้ออกกฎหมายสนับสนุนใน *Directive 86/609/EEC*[10] ให้นักวิจัยพิจารณาใช้วิธีทางเลือก ก่อนที่จะทำการทดสอบโดยสัตว์ทดลอง และปี พ.ศ. 2542 มีการทำปฏิญญาโบโลญญา 3Rs (3Rs Declaration Bologna) ทำให้หลักการ 3Rs นี้เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป มีการพัฒนาวิธีทางเลือกที่เป็นประโยชน์ต่อการทดสอบด้านพิษวิทยามากขึ้น[11-12] โดยเฉพาะเมื่อประเทศเยอรมนีได้จัดตั้งศูนย์ทดสอบวิธีทางเลือกแห่งชาติ (National Centre for Alternative Methods - ZEBET) ในปี พ.ศ. 2532 และต่อมาในปี พ.ศ. 2534 สหภาพยุโรปได้จัดตั้งศูนย์กลางสากล European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) ทำหน้าที่ประเมินและทดสอบความใช้ได้ของวิธีทางเลือก โดยในขั้นตอนสุดท้ายมี ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC) ทำหน้าที่พิจารณาข้อมูลและสรุปให้คำแนะนำความใช้ได้ของวิธีทางเลือกที่นำเสนอนั้น[13-14] OECD Environment Monograph No. 36[15] และ OECD Guidance Document (GD) No. 34[16] ระบุหลักการ Pre-validation และ validation รวมถึงเกณฑ์พิจารณาความใช้ได้ของวิธี (validation criteria) ซึ่งเป็นหลักการสากลที่ได้รับการยอมรับระหว่างประเทศและทวีปต่าง ๆ เนื่องจากมีการพิจารณากำหนดโดยหลายหน่วยงาน เช่น องค์การเพื่อการพัฒนาและความร่วมมือทางเศรษฐกิจ (Organization for Economic Co-operation and Development - OECD), ZEBET, ECVAM, Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM), Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments (FRAME) เป็นต้น

การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกได้รับการสนับสนุนโดยองค์กรต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น Cruelty Free International (https://www.crueltyfreeinternational.org/) และ The European Coalition to End Animal Experiments (ECEAE) (http://www.eceae.org/) เป็นต้น มีความพยายามทั้งในเชิงสังคมและเชิงนโยบายให้มีความตระหนักในคุณธรรมที่พึงมีต่อสัตว์ คำนึงถึงความเจ็บปวด ทรมาน และชีวิตสัตว์ที่จะต้องสูญเสียไปในการทดลองแต่ละครั้ง นอกจากนี้ ยังมีการออกมาตรการหรือข้อกำหนดต่าง ๆ ที่ทำให้ผู้ประกอบการจำเป็นต้องใช้วิธีทางเลือกด้านพิษวิทยาที่ได้รับการยอมรับแล้ว เป็นวิธีทดสอบสำหรับการจำแนกและจัดประเภท (classification and labeling) สารเคมี เพื่อรับรองผลิตภัณฑ์ หรือเป็นวิธีทดสอบความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ เช่น

- European Union Directive: Cosmetic directive 76/768/EEC (VII Amendment)[17] ออกข้อกำหนดและมาตรการต่าง ๆ ตามลำดับ โดยในวันที่ 11 มีนาคม 2556 ได้ประกาศใช้ Marketing ban ให้ประเทศกลุ่มสหภาพยุโรประงับการจำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางทุกชนิด รวมถึงวัตถุดิบที่ผ่านการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง
- สหประชาชาติสนับสนุนให้มีข้อตกลงระหว่างประเทศ กำหนดเป็นแนวทางการจำแนกประเภทและการติดฉลากสารเคมีที่เป็นระบบเดียวกันทั่วโลก (Globally Harmonized System of Classification and

Labelling of Chemicals - GHS)[18] สื่อสารความเป็นอันตรายด้วยฉลากและข้อมูลความปลอดภัยสารเคมี ลดความซ้ำซ้อนในการทดสอบและการประเมินความเป็นอันตรายของสารเคมี โดยเฉพาะการใช้สัตว์ทดลอง

- คณะกรรมาธิการสหภาพยุโรป (European Commission) ได้ประกาศควบคุมการใช้สารเคมีด้วยระเบียบสารเคมีของสหภาพยุโรป REACH (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals) โดยมีเป้าหมายในการบังคับให้สารเคมีทุกชนิดทั้งที่มีอยู่แล้ว และจะผลิตขึ้นใหม่ ต้องมีข้อมูลทางพิษวิทยาและผ่านการจดทะเบียน การประเมินและการอนุญาตให้ใช้สารเคมี

การบังคับใช้ REACH ซึ่งเป็นที่ทราบว่า “No data, no market” จัดเป็นปัจจัยสำคัญอีกประการหนึ่งที่ทำให้ในการทดสอบทางพิษวิทยา มีการเลือกใช้วิธีทดสอบทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลองมากขึ้น เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการใช้สัตว์ทดลอง โดยมีข้อกำหนดดังนี้

1. **Registration** การจดทะเบียนสารเคมี โดยยื่นเสนอข้อมูลเกี่ยวกับคุณสมบัติของสารเคมี ความเป็นอันตรายและพิษต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม รวมถึงการประเมินความเสี่ยงของการใช้สารเคมีนั้น เพื่อให้ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมมีข้อมูลเกี่ยวกับสารเคมีที่ผลิตขึ้นและนำมาใช้ผลิตสินค้า และสามารถใช้ข้อมูลเหล่านั้นเป็นข้อมูลประกอบการจัดการสารเคมีเพื่อความปลอดภัย

2. **Evaluation** การตรวจสอบและประเมินรายงานการศึกษาถึงอันตรายและความเสี่ยงในการผลิตและใช้สารเคมีที่ผู้ยื่นจดทะเบียนนำเสนอ เพื่อให้แน่ใจว่าผู้ประกอบการมีข้อมูลและนำข้อมูลนั้นมาใช้ประโยชน์ในการจัดการสารเคมีในกระบวนการผลิตหรือใช้สารเคมีได้อย่างปลอดภัย

3. **Authorization** การขออนุญาตผลิตหรือใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายมาก (very high concern) อย่างมีเงื่อนไข เพื่อลดความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม

4. **Restriction** การจำกัดการผลิต การใช้หรือจำหน่ายสารที่เป็นอันตรายมาก เมื่อมีความจำเป็นต้องใช้สารนั้นด้วยเหตุผลทางสังคมและเศรษฐกิจ และผู้ประกอบการไม่สามารถหาสารหรือวิธีอื่นที่เหมาะสมมาใช้แทนได้

นอกจากนี้ REACH ยังกำหนดให้มีการยอมรับร่วมในข้อมูลการทดสอบด้านพิษวิทยาของสารเคมี (Mutual Acceptance of Data - MAD) ระหว่างประเทศภาคีของ OECD โดยต้องเป็นข้อมูลที่ผ่านการทดสอบตาม OECD Test guideline จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD Good Laboratory Practice (GLP) อีกด้วย

การศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือก (Validation of Alternative method)[16]

การพัฒนาความรู้และเทคโนโลยีด้านชีววิทยาทางการแพทย์และเภสัชวิทยา ทำให้มีวิธีทางเลือกที่พัฒนาขึ้นใหม่ โดยอาศัยทางเลือกอื่น ๆ สำหรับใช้เป็นวิธีทดสอบทางพิษวิทยาทดแทนการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง ซึ่งจำเป็นต้องผ่านกระบวนการศึกษาความใช้ได้ของวิธี เพื่อให้มั่นใจว่าวิธีทางเลือกที่พัฒนานี้มีความใช้ได้ทางวิทยาศาสตร์ และการทดสอบเพื่อให้ได้ข้อมูลทางพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกนี้ได้รับการยอมรับ และเป็นไปตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีอำนาจในการกำกับดูแล (Regulatory authorities)

วิธีทางเลือกนี้จะต้องสามารถวัดหรือทำนายผลกระทบทางด้านชีววิทยาที่ศึกษาได้ การศึกษาความใช้ได้ของวิธีเป็นกระบวนการที่ต้องมีหลักการทางวิทยาศาสตร์ที่เหมาะสม มีวิธีขั้นตอนการทดลองซึ่งจัดทำเพื่อให้ได้วิธีที่เชื่อถือได้ (Reliability) คือเมื่อห้องปฏิบัติการเดียวกัน หรือระหว่างห้องปฏิบัติการ (within and among laboratories) ใช้กระบวนการทดสอบเดียวกันนี้ ในช่วงเวลาต่าง ๆ จะต้องได้ผลการทดสอบที่สามารถทำซ้ำได้ และเป็นวิธีที่เหมาะสมเกี่ยวข้อง (Relevance) คือ การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกนั้น มีความสัมพันธ์กับผลกระทบในสปีชีส์เป้าหมาย (target species) และวิธีทางเลือกนั้นเป็นประโยชน์และให้ข้อมูลผลการทดสอบตรงตามวัตถุประสงค์

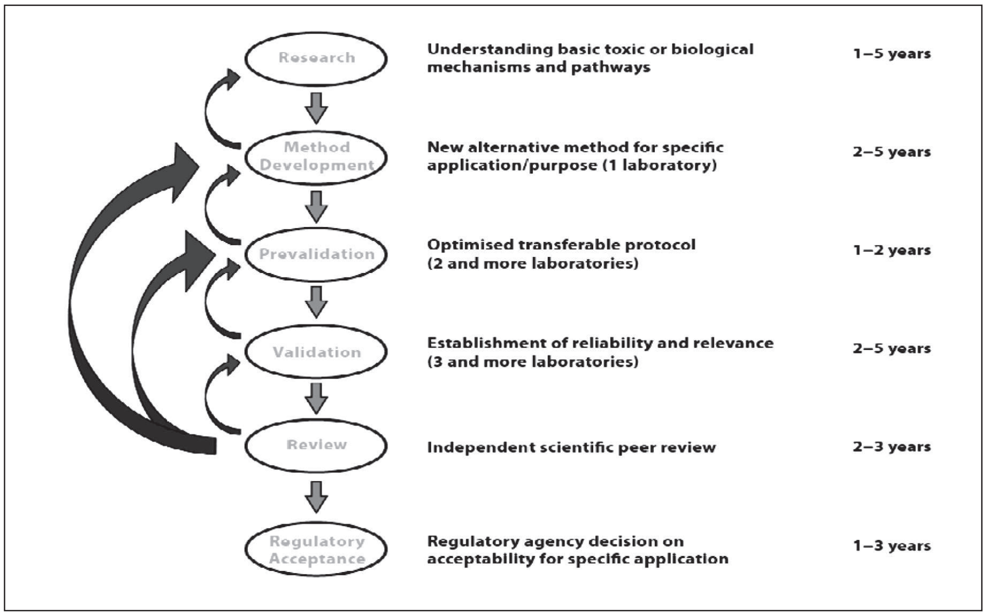
เฉพาะสำหรับการทดสอบนั้น ๆ โดยมีการระบุข้อจำกัดต่าง ๆ ที่มี โดยทั่วไปการศึกษาความใช้ได้ของวิธีจำแนกเป็น 2 รูปแบบ คือ Prospective validation (ภาพที่ 2) ซึ่งประกอบด้วย 6 ขั้นตอน เพื่อให้ได้ข้อมูลใหม่ และ Retrospective validation ซึ่งเป็นการนำข้อมูลเดิมที่มีอยู่แล้วมาศึกษาประเมินอีกครั้ง (re-assess) ซึ่งจัดว่าเป็นข้อจำกัดอย่างหนึ่ง เมื่อนำเสนอข้อมูลเพื่อประเมินความใช้ได้ของวิธี

ความสามารถในการทำนายผล (Predictivity) และความเชื่อมั่น (Reliability) พิจารณาจากข้อมูลต่อไปนี้

- ความไว (Sensitivity) พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่บ่งชี้สารเคมีที่ให้ผลทดสอบเป็นบวก (positive chemicals) ได้ถูกต้อง
- ความจำเพาะ (Specificity) พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่บ่งชี้สารเคมีที่ให้ผลทดสอบเป็นลบ (negative chemicals) ได้ถูกต้อง
- ความสามารถในการทำนาย พิจารณาจากร้อยละของผลทดสอบที่ทำนายการจำแนกสารเคมีเฉพาะกลุ่มได้ถูกต้อง
- ความแม่น (Accuracy) พิจารณาจากร้อยละทั้งหมดที่จำแนกชนิดสาร (classifications) ได้ถูกต้อง

พารามิเตอร์อื่น ๆ ที่ประเมินโดยนักชีวสถิติในระหว่างการศึกษาความใช้ได้ของวิธี ได้แก่

- ความทำซ้ำได้ในห้องปฏิบัติการเดียวกัน (Reproducibility within laboratories) การจำแนกชนิดสารที่ได้จากผลการทดสอบซ้ำ (independent runs) 3 ครั้ง หรือมากกว่า โดยห้องปฏิบัติการเดียวกันต้องมีความสอดคล้องกัน
- ความทำซ้ำได้ระหว่างห้องปฏิบัติการ (Reproducibility between laboratories) การจำแนกชนิดสารที่ได้จากผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ต้องมีความสอดคล้องกัน
- ความน่าจะเป็นของการจำแนกชนิดสารได้ถูกต้อง (Probability for correct classification)



ภาพที่ 2 แบบแผนการศึกษาความใช้ได้ของวิธีแบบ prospective validation study[11]

เมื่อวิธีทดแทนการใช้สัตว์ทดลองผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว จะเข้าสู่กระบวนการพิจารณารับรองของหน่วยงานผู้มีอำนาจในการกำกับดูแล และการยอมรับนำแนวทางการทดสอบมาใช้ (regulatory acceptance and guideline adoption) เช่น ECVAM, ICCVAM และ OECD เป็นต้น โดยวิธีการพิจารณาของหน่วยงานผู้มีอำนาจในการกำกับดูแลภายในประเทศ และแต่ละประเทศอาจมีความแตกต่างกันไป จึงมีการประสานให้ได้หลักการการทดสอบความใช้ได้ของวิธีที่สอดคล้องกันระหว่าง ECVAM, ICCVAM และ OECD ต่อจากนั้น OECD ได้จัดทำเอกสาร OECD GD 34 ระบุแนวทางการทดสอบความใช้ได้ของวิธีใหม่หรือวิธีที่ได้รับการปรับปรุง สำหรับประเมินความเป็นอันตรายที่มีการตกลงยอมรับร่วมกันระหว่างประเทศ ดังนั้น วิธีทดสอบที่มีขั้นตอนการปฏิบัติสอดคล้องกับหลักการต่าง ๆ ที่ระบุใน OECD GD 34 จะช่วยเพิ่มโอกาสให้ได้รับการยอมรับวิธีใหม่ หรือวิธีดัดแปลงได้มากขึ้น ตารางที่ 1 แสดงรายการวิธีทดสอบที่ผ่านการพิจารณารับรองโดย ECVAM, ICCVAM, JaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) และ OECD แล้วว่ามีความใช้ได้ทางวิทยาศาสตร์ และมีบางวิธีที่ได้รับการยอมรับให้ใช้เป็นวิธีทดสอบทางเลือกได้ แม้จะไม่ผ่านกระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีตามขั้นตอนปกติ

มีวิธีทางเลือกหลายวิธีที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในขั้นตอนแรก (pre-validated) และบางวิธีผ่านเกณฑ์ครบถ้วนแล้ว ที่สามารถนำมาใช้ทดสอบ ทดแทนการใช้สัตว์ทดลองได้บางส่วนหรือทั้งหมด เช่น การทดสอบความเป็นพิษต่อระบบพันธุกรรม (Genotoxicity), การทดสอบความเป็นพิษเฉพาะตำแหน่ง เช่น การกัดกร่อนและการระคายเคืองต่อผิวหนัง และการทดสอบความปลอดภัยของเครื่องสำอางสำเร็จรูป เป็นต้น ผลจากการศึกษาความใช้ได้ของวิธีทางเลือกจากหลายหน่วยงานทั่วโลกแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้วิธีทางเลือกเป็นวิธีทดสอบที่ช่วยลดจำนวนการใช้สัตว์ทดลอง หรือใช้เป็นวิธีทดแทนการใช้สัตว์ทดลองได้ ทั้งนี้ ในการศึกษาบางด้านอาจเลือกใช้การทดสอบร่วมระหว่างวิธีทางเลือกหลายวิธีได้ ได้แก่ การทดสอบด้วยวิธีทางเลือกในหลอดทดลอง (*in vitro*), การนำเซลล์หรือชิ้นส่วนใด ๆ จากสัตว์ทดลองมาทำการทดลองภายนอก (*ex vivo*) และการทดลองบนเครื่องคอมพิวเตอร์ (*in silico*) เช่น การพัฒนา software และวิธีต่าง ๆ สำหรับงานด้าน predictive toxicology ได้ นอกจากนี้ เมื่อพัฒนาวิธีทางเลือกที่ต้องศึกษาจุดยุติทางพิษวิทยาที่ซับซ้อน (Complex toxicity endpoints) ก็จำเป็นต้องศึกษาลำดับขั้นการตอบสนองในระดับเซลล์ ซึ่งเมื่อมีการรบกวนเพียงพอจะสามารถทำให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพ (toxicology pathways) และกลไกการเกิดพิษด้วย ในขณะเดียวกันก็จำเป็นต้องพิจารณาความสามารถในการทำนายผลความเป็นพิษจากวิธีการทดสอบด้วยสัตว์ทดลองแบบเดิมว่าสอดคล้องกับผลกระทบที่สังเกตพบในมนุษย์หรือไม่ ข้อพิจารณาต่าง ๆ เหล่านี้ช่วยเพิ่มความสามารถในการพัฒนาวิธีทางเลือกที่มีความเกี่ยวข้อง (relevant) และมีความเชื่อมั่นสูง สามารถทำนายผลกระทบต่อสุขภาพมนุษย์ได้(19)

ข้อดีของการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกแบบ in vitro

- สามารถควบคุมสภาวะการทดสอบ ลดความแปรปรวนระหว่างการทดลองหลาย ๆ ครั้งได้
- มีการทดสอบโดยใช้มาตรฐานระดับสูง
- ไม่มีผลกระทบจากระบบร่างกาย (Systemic effects)
- ทำการทดสอบสารเคมีได้จำนวนมาก รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายน้อย เช่น การตรวจแบบคัดกรองที่มีความรวดเร็วสูงและปานกลาง (High และ medium-throughput screening assays)
- ใช้วัสดุ หรือสารทดสอบในปริมาณน้อย
- ทำให้เกิดขยะพิษในปริมาณน้อย
- สามารถใช้เซลล์และเนื้อเยื่อมนุษย์ และเซลล์ที่มีการตัดต่อสารพันธุกรรม (Transgenic cells) ซึ่งมียีนมนุษย์สำหรับทดสอบได้
- ลดการทดสอบด้วยสัตว์ทดลอง

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด[20]

End-point and Method Name	Test Type[1]	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional[2]	International
Acute mammalian toxicity (oral)				
Acute toxic class method	*In vivo*	ESAC (2007)		OECD TG 423 (2001)
Fixed dose procedure	*In vivo*	ESAC (2007)		OECD TG 420 (2001)
Up-and-down procedure	*In vivo*	ICCVAM (2001), ESAC (2007)	EPA OPPTS 870.1100 (2002)	OECD TG 425 (2006)
Normal human keratinocyte neutral red uptake (NHK NRU) assay	*In vitro*[3]	ICCVAM (2008), JaCVAM (2011)		OECD GD 129 (2010)
Balb/c 3T3 neutral red uptake assay	*In vitro*[3]	ICCVAM (2008), ECVAM (2011), JaCVAM (2011)		OECD GD 129 (2010)
Acute mammalian toxicity (inhalation)				
Acute toxic class method	*In vivo*			OECD TG 436 (2009) OECD GD 153 (2011)
Carcinogenicity				
Syrian Hamster Embryo Cell Transformation Assay (SHE CTA): SHE CTA performed at pH 6.7, SHE CTA performed at pH 7.0	*In vitro*	EURL ECVAM Recommendation (2012)		Draft OECD TG (2013) OECD Detailed Review Paper No. 31
Bhas 42 Cell Transformation Assay (Bhas 42 CTA)	*In vitro*	EURL ECVAM Recommendation (2012)		Draft OECD TG (2013)
Chronic toxicity				
Ending 1-year dog studies of pesticides	*In vivo*	ESAC (2006)	Revised US EPA Pesticide Data Requirements	
Dermal absorption/ penetration				
In vitro skin absorption methods	*In vitro*	OECD Expert Group (2002)		OECD TG 428 (2004) OECD GD 28 (2004) OECD Guidance Notes 156
Ecotoxicity				
Acute aquatic toxicity: Upper threshold concentration step-down approach	*In vivo*	ESAC (2006)		OECD GD 126 (2010)
Acute avian toxicity (oral): Sequential testing procedure to minimize numbers of birds used	*In vivo*			OECD TG 223 (2010)
Fish embryo (Zebrafish) toxicity	*In vivo*	ESAC (2013)		OECD TG 236 (2013)
Endocrine active substances				
Androgen receptor binding assay (rat prostate cytosol)[4]	*Ex vivo*		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
Aromatase inhibition assay (human recombinant)[4]	*In vitro*		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
Estrogen receptor binding assay rat uterine cytosol (ER-RUC)[4]	*Ex vivo*		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	
H295R steroidogenesis assay[4]	*In vitro*		OPPTS TG 890.1150 (EPA, 2009)	OECD TG 456 (2011)
US EPA Tier 1 Screening Battery[4]	*In vitro/ In vivo*		US EPA (2009)	
BG1Luc ER TA test method for estrogen agonists and antagonists[4]	*In vitro*	ICCVAM (2012)		OECD TG 457 (2012) Draft Performance Standards for TG 457 (2012)
Eye corrosion				
Fluorescein Leakage	*In vitro*	ESAC 40 (2009), JaCVAM (2012)		OECD TG 430 (2012), OECD summary document no.180
Hen's egg test-chorioallantoic membrane (HET-CAM)	*In vitro*		EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive	
Isolated rabbit eye test	*Ex vivo*		EU Competent Authorities for Dangerous Substances Directive	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด[20] (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type[1]	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional[2]	International
Eye irritation				
Reconstructed Human Cornea-like Epithelium (RhCE) Test Method	*In vitro*	EURL ECVAM		Draft OECD TG (2014)
Eye corrosion & Eye irritation				
Bovine corneal opacity permeability (BCOP) test	*Ex vivo*	ICCVAM (2007), ESAC (2007), JaCVAM (2009)		OECD TG 437 (2009; revised 2013)
Cytosensor Microphysiometer modified	*In vitro*	ESAC 40 (2009), ICCVAM (2010)		Draft OECD TG (2012)
Isolated chicken eye (ICE) test	*Ex vivo*	ICCVAM (2007), ESAC (2007), JaCVAM (2009)		OECD TG 438 (2009; revised 2013)
Short Time Exposure (STE) test method	*In vitro*	ICCVAM (2013)		Draft OECD TG (2014)
Routine use of topical anesthetics, systemic analgesics, and humane endpoints	*In vivo*	ICCVAM (2010)		Updated OECD TG 405 (2012), OECD GD 19
Sequential testing strategy for eye irritation and corrosion	*In vitro / Ex vivo/ In vivo*	ICCVAM		Updated OECD TG 405 (2012)
Genotoxicity				
Bacterial reverse mutation (Ames) test	*In vitro*			OECD TG 471 (1997)
In vitro cell gene mutation test	*In vitro*			OECD TG 476 (1997) Draft updated (2014)
In vitro mammalian cell gene mutation assays using the thymidine kinase gene	*In vitro*			Draft OECD TG (2014)
In vitro chromosomal aberration test	*In vitro*			updated OECD TG 473 (2014)
In vitro mammalian micronucleus test	*In vitro*	ESAC (2006), ICCVAM		updated OECD TG 487 (2014)
In vitro sister chromatid exchange test	*In vitro*			OECD TG 479 (1986)
In vitro unscheduled DNA synthesis test	*In vitro*			OECD TG 482 (1986)
Saccharomyces cerevisiae gene mutation assay	*In vitro*			OECD TG 480 (1986)
Saacharomyces cerevisiae mitotic recombination assay	*In vitro*			OECD TG 481 (1986)
Phototoxicity				
3T3 Neutral Red Uptake Phototoxicity Test	*In vitro*	ESAC (1997)		OECD TG 432 (2004)
3T3 NRU Phototoxicity Test: Application to UV filter chemicals	*In vitro*	ESAC (1998)		OECD TG 432 (2004)
Pyrogenicity				
Human whole blood IL-1	*In vitro*	ESAC (2006) ICCVAM (2008)[5]	European Phar-macopeia; FDA	
Human whole blood IL-6	*In vitro*	ESAC (2006) ICCVAM (2008)[5]	European Phar-macopeia; FDA	
Human cryopreserved whole blood IL-1	*In vitro*	ESAC (2006) ICCVAM (2008)[5]	European Phar-macopeia; FDA	
PBMC IL-6		ESAC (2006) ICCVAM (2008)[5]	European Phar-macopeia; FDA	
MM6 IL-6	*In vitro*	ESAC (2006) ICCVAM (2008)[5]	European Phar-macopeia; FDA	
Limulus amebocyte lysate (LAL) test	*In vivo/ In vitro*		EU, US and Japanese Phar-macopeia (2005)	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด[20] (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type[1]	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional	International
Reproductive & developmental toxicity				
Extended one generation reproductive toxicity study	*In vivo*	ICCVAM		Udated OECD TG 443 (2012)
Skin corrosion				
EST-1000 human reconstructed epidermis	*In vitro*	ESAC (2009)		Udated OECD TG 431 (2014)
Membrane Barrier Corrosivity Test Method (Corrositex®)	*In vitro*	ICCVAM (1999), ESAC (2000)		OECD TG 435 (2006) Draft Revised (2014)
EpiSkin® human skin model	*In vitro*	ESAC (1998) ICCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
EpiDerm™ human skin model	*In vitro*	ESAC (2000) ICCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Rat skin transcutaneous electrical resistance (TER)assay	*Ex vivo*	ESAC (1998) ICCVAM (2002)		OECD TG 430 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
SkinEthic™ human skin model	*In vitro*	ESAC (2006, 2009), ICCVAM		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Vitrolife-Skin™ human reconstructed epidermis	*In vitro*	JaCVAM (2009)		OECD TG 431 (2004; revised 2013) Draft Revised (2014)
Skin irritation				
EpiSkin® skin irritation test (with MTT reduction)	*In vitro*	ESAC (2007, 2009), JaCVAM (2010)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
EpiDerm™ skin irritation test (with MTT reduction)	*In vitro*	ESAC (2007)[6]	EU test method B.46 in COM regulation 440/2008/EC	
EpiDerm™ SIT Model (EPI-200)	*In vitro*	ESAC (2008), JaCVAM (2012)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
SkinEthic RHE model	*In vitro*	ESAC (2008, 2009), JaCVAM (2012)	EU test method B.46 in COM regulation 440/2008/EC	Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
LabCyte EPI-MODEL 24 SIT	*In vitro*	JaCVAM (2013)		Updated OECD TG 439 (2013) Draft Revised (2014) OECD Background Document 137 (2010)
Skin sensitization				
Local lymph node assay (LLNA)	*In vivo*	ICCVAM (1999) ESAC (1999)		Updated OECD TG 429 (2010)
Reduced LLNA: rLLNA	*In vivo*	ESAC (2007) ICCVAM (2009)		Updated OECD TG 429 (2010)
Nonradiolabelled LLNA: DA	*In vivo*	ICCVAM (2010) JaCVAM (2012)		OECD TG 422A (2010)
Nonradiolabelled LLNA: BrdU-ELISA	*In vivo*	ICCVAM (2010)		OECD TG 422B (2010)
LLNA for Potency Categorization of Skin Sensitizers	*In vivo*	ICCVAM (2011)	UN GHS (2009)	

ตารางที่ 1 วิธีทางเลือกที่ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธี หรือได้รับการยอมรับตามเกณฑ์กำหนด(20) (ต่อ)

End-point and Method Name	Test Type[1]	Endorsement of Scientific Validity	Regulatory Acceptance	
			National/ Regional	International
ARE-Mrf2 Luciferase Test Method	*In vitro*	ESAC (2002)		Revised Draft OECD TG (2014)
Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)	*In chemico*	ESAC (2000)		Draft OECD TG (2014)
Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)	*In vitro*	EURL ECVAM and JaCVAM		Revised Draft OECD TG (2014)

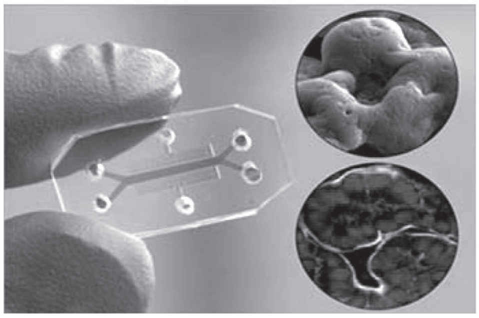
(ดัดแปลงจาก URL: http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/)

1 All *in vitro* and *ex vivo* methods listed; *in vivo* methods proposed to reduce or refine animal use also listed
2 National and regional regulatory acceptance is not fully documented here
3 Replaces animal use for initial dose setting, but *in vivo* test required to complete assessment
4 Screening assays to be used as part of a broader testing strategy
5 Subject to product-specific validation to demonstrate equivalence to the rabbit pyrogen test (RPT)
6 Recommended as screening test or as part of sequential testing strategy; only positive test results accepted in the 2007 endorsement

ข้อจำกัดของการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกแบบ *in vitro*

- ไม่สามารถทดสอบปฏิสัมพันธ์ระหว่างเนื้อเยื่อและอวัยวะ
- ไม่สามารถหาค่าความสัมพันธ์ของการตอบสนองกับปริมาณพิษที่ได้รับในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (in vivo Dose-response relationships) สำหรับการประเมินความเสี่ยงต่อมนุษย์
- ไม่สามารถประเมินผลกระทบจากระบบร่างกาย
- ไม่สามารถประเมินทางเภสัชจลนศาสตร์ (Pharmacokinetics)
- ไม่สามารถทดสอบผลการก่อพิษเรื้อรัง (Chronic effects)
- มีข้อจำกัดทางเทคนิค ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ปฏิกิริยากับพลาสติก ขาดคุณสมบัติของผนังกั้นเสมือนในร่างกายของสิ่งมีชีวิต (in vivo-like barrier)

ระหว่างนี้ยังมีความพยายามอย่างต่อเนื่องในการพัฒนาวิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลอง โดยเฉพาะในขั้นตอนการทดสอบด้านพิษวิทยา สำหรับพัฒนายาชนิดใหม่ Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering, Harvard University(21) ได้พัฒนา “อวัยวะบนแผ่นชิป” (Organs-on-Chips) โดยเพาะเลี้ยงเซลล์มนุษย์บนท่อกลวง (hollow channels) และมีอาหารเหลวไหลผ่านช่องในแผ่นชิปซึ่งมีลักษณะเป็นอุปกรณ์ไมโครฟลูอิดิกส์ (Microfluidic) ขนาดเล็ก มีโครงสร้างและคุณสมบัติเหมือนอวัยวะที่ต้องการ และทำการทดลองพบว่ามีการตอบสนองเหมือนอวัยวะมนุษย์ ปัจจุบันมีการพัฒนา “ปอดบนแผ่นชิป” (lung-on-chip) และ “ลำไส้บนแผ่นชิป” (gut-on-a-chip) (ภาพที่ 3) ได้รับรางวัลชนะเลิศ London Design Museum ในปี พ.ศ. 2555 และปี พ.ศ. 2558 ตามลำดับ(22) นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาโมเดลอวัยวะอื่น ๆ บนแผ่นชิปอีก เช่น ไต และหัวใจ ฯลฯ เมื่อวิธีทางเลือกเหล่านี้ผ่านการทดสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว จึงจะได้รับการยอมรับและสามารถนำมาใช้เป็นวิธีทดสอบประจำได้



ภาพที่ 3 เซลล์จากลำไส้เล็กของมนุษย์ที่นำมาเพาะเลี้ยงเป็น gut-on-a-chip เมื่อทดสอบด้วยการกระตุ้นที่เหมาะสม พบว่ามีการตอบสนองเป็นคลื่น villi เหมือนลำไส้มนุษย์ (scanning electron micrograph และไดอะแกรมในรูปในวงกลม) จาก http://wyss.harvard.edu/viewpage/484/

แนวทางการพัฒนาห้องปฏิบัติการทดสอบพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือกของประเทศไทย

จากสถานการณ์ระดับโลกที่มีการขยายข้อบังคับถึงที่มาของข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์รวมถึงวัตถุดิบนั้น ประเทศที่พัฒนาแล้วมีผลงานวิจัยพัฒนาวิธีใหม่ ๆ และทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธี เสนอเป็นวิธีทางเลือกทดแทนการใช้สัตว์ทดลองอย่างต่อเนื่อง และได้รับการยอมรับโดย ECVAM ให้เป็นวิธีมาตรฐานสากล ทำให้มีความได้เปรียบในการตั้งข้อกำหนดมาตรฐานการค้าของสินค้าในเวทีโลก และอาจเป็นข้อกีดกันทางการค้าอีกรูปแบบหนึ่ง นอกจากนี้ ข้อกำหนดของ REACH ในด้านการยอมรับร่วมในข้อมูลการทดสอบด้านพิษวิทยาของสารเคมีระหว่างประเทศภาคี OECD โดยต้องเป็นข้อมูลที่ผ่านการทดสอบตาม OECD Test Guideline จากห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP นั้น ประเทศไทย โดยสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ได้สมัครเข้าเป็นภาคีของ OECD แล้ว โดยในขั้นต้นเป็นภาคีแบบ Provisional Adherence และอยู่ระหว่างขั้นตอนดำเนินการเพื่อให้ได้เป็นภาคีแบบ Full Member Adherence ซึ่งจัดเป็นภาคีตามระบบการยอมรับร่วมในข้อมูลการประเมินสารเคมี เพื่อให้ข้อมูลจากห้องปฏิบัติการในประเทศไทยได้รับการยอมรับร่วม ห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ต้องได้รับการรับรองตามมาตรฐาน OECD GLP จึงเป็นความจำเป็นที่ประเทศไทยต้องเร่งพัฒนาดังนี้

1. พัฒนาบุคลากรในด้านทักษะ เทคนิค และความเชี่ยวชาญการปฏิบัติงานด้านการทดสอบ *in vivo* ได้แก่ การเพาะเลี้ยงเซลล์และเนื้อเยื่อ ด้านการทดสอบ ex vivo ได้แก่ การแยกและเก็บรักษาตาไก่, ตาวัว ฯลฯ จากโรงฆ่าสัตว์ และด้านการทดสอบ *in vivo* ได้แก่ การจำแนกและคัดเลือกอาสาสมัคร การอ่านผลทดสอบ และการทดสอบด้านพิษวิทยาด้วยวิธีทางเลือก ตาม OECD Test Guidelines เป็นต้น

2. พัฒนาห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือ เตรียมความพร้อมสำหรับการทดสอบความเป็นพิษ โดยใช้วิธีทดสอบตาม OECD Test Guidelines และพัฒนาห้องปฏิบัติการให้ได้การรับรองตามมาตรฐานสากล ได้แก่ มาตรฐาน OECD GLP สำหรับ in vitro tests และ ex vivo tests และ GCLP (Good Clinical Laboratory Practice) สำหรับ in vivo tests ทั้งนี้ อาจพัฒนาห้องปฏิบัติการในรูปแบบ ดังนี้

2.1 รูปแบบศูนย์รวม

ห้องปฏิบัติการในประเทศไทยส่วนใหญ่มีความชำนาญเฉพาะด้าน การรวบรวมผู้ชำนาญงาน รวมถึงการจัดเตรียมห้องปฏิบัติการทดสอบให้มีความพร้อมทุกด้าน ยกตัวอย่าง เช่น แนวคิดในการจัดตั้งศูนย์ทดสอบผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางของมหาวิทยาลัยมหิดล เพื่อให้มีขอบข่ายครอบคลุมงานทดสอบด้านกายภาพ (สี กลิ่น ความคงสภาพ) เคมี (โลหะหนัก สารห้ามใช้ ฯลฯ) และจุลชีววิทยา (จุลินทรีย์ปนเปื้อน และ Challenge tests) รวมถึงการทดสอบความปลอดภัย และประสิทธิภาพของเครื่องสำอาง อาจมีข้อจำกัดในเรื่องค่าใช้จ่ายในการลงทุนจัดตั้งห้องปฏิบัติการและค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการสูง และยังต้องคำนึงถึงความคุ้มค่า และความคุ้มทุนอีกด้วย

2.2 รูปแบบเครือข่าย

ปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีห้องปฏิบัติการทดสอบด้านพิษวิทยาที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากล OECD GLP สำหรับ in vitro tests และ GCLP สำหรับ in vivo tests หน่วยวิจัยศึกษาและพัฒนาด้านความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล อยู่ระหว่างขั้นตอนการขอรับรอง OECD GLP ด้านพิษวิทยาเป็นแห่งแรกของประเทศไทย การจัดทำห้องปฏิบัติการเฉพาะด้านการทดสอบความเป็นพิษที่มีระบบคุณภาพสากลเต็มรูปแบบ จำเป็นต้องใช้สถานที่ เครื่องมือ และเงินลงทุนจำนวนมากในการบริหารจัดการ การใช้รูปแบบเครือข่ายพันธมิตรที่มีการใช้วิธีทดสอบทางเลือกเป็นงานเดิมที่มีพื้นฐานอยู่แล้ว ได้แก่ หน่วยวิจัยศึกษาและพัฒนาด้านความเป็นพิษต่อสัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ห้องปฏิบัติการความปลอดภัยทางนาโนเทคโนโลยี ศูนย์นาโนเทคโนโลยีแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

สถาบันวิจัยจุฬาภรณ์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยต่าง ๆ และห้องปฏิบัติการเอกชน จะทำให้สามารถลดปัญหานี้ และสามารถพัฒนาหลายด้านไปพร้อมกันได้

3. พัฒนาหน่วยรับรองห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน OECD GLP ในประเทศไทย ให้ผ่านการประเมินได้รับการรับรองจาก OECD Committee ให้เป็นหน่วยรับรอง Compliance Monitoring Authority (CMA) ของประเทศ ซึ่งขณะนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กำลังดำเนินการให้ผ่านการประเมินเป็น CMA ภายในเดือนกรกฎาคม 2559 หลังจากนั้นประเทศไทยจึงจะได้เข้าเป็น Full Member Adherence ของประเทศภาคี OECD

สรุป

การใช้ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของสารเคมีและวัตถุดิบ และข้อมูลความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธีทางเลือกที่ผ่านกระบวนการทดสอบความใช้ได้ของวิธีและมีการยอมรับในระดับสากลแล้ว เช่น OECD Test Guidelines และดำเนินการทดสอบโดยห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานสากล โดยเฉพาะมาตรฐาน OECD GLP โดยประเทศไทยจะต้องเป็น Full Member Adherence ของประเทศภาคี OECD แล้ว ข้อมูลการทดสอบความเป็นพิษของผลิตภัณฑ์จึงจะได้รับการยอมรับร่วมอย่างเป็นทางการจากประเทศสมาชิกในกลุ่ม OECD และยอมรับตามข้อกำหนดของหน่วยงานหรือองค์กรผู้มีอำนาจในการกำกับดูแลของประเทศภาคี OECD อันจะเป็นการลดข้อกีดกันทางการค้า และเพิ่มศักยภาพการแข่งขันในเวทีสากลให้แก่ผู้ประกอบการไทยได้อีกทางหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

1. สภาวิจัยแห่งชาติ. จรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ [ออนไลน์]. [สืบค้น 23 พ.ค. 2558]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://www.nrct.go.th/th/Portals/0/data/2558/07/w_297.10.pdf.
2. Using animals in cosmetic testing [online]. [cited 2015 Jul 19]; [3 screens]. Available from: URL: https://www.dspca.ie/media/UsingAnimalsforTestingCosmetics1.pdf.
3. Ban on animal testing [online]. [cited 2014 May 2]; [3 screens]. Available from: URL: http://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing/index_en.htm.
4. European Commission. REACH and animal testing [online]. 2015; [cited 2015 Jun 26]; [1 screens]. Available from: URL: http://ec.europa.eu/environment/chemicals/reach/animal_en.htm.
5. UK REACH competent authority information leaflet number 18 – minimisation of animal testing. [online]. July 2014. [cited 2015 Jul 19]; [6 screens]. Available from: URL: http://www.hse.gov.uk/reach/resources/18animaltesting.pdf.
6. Regulation No 1907/2006 of the European parliament and of the council of 18 December 2006 concerning the registration, evaluation, authorisation and restriction of chemicals (REACH). Official Journal of the European Communities 2006; 49(L396): 1-849.
7. Nixon GA, Tyson CA, Wertz WC. Interspecies comparisons of skin irritancy. Toxicology and Applied Pharmacology 1975; 31(3): 481-90.
8. Abbott A. Animal testing: more than a cosmetic change. Nature 2005; 438(10): 144-6.
9. Russell WMS, Burch RL. The principles of humane experimental technique. London, UK: Methuen; 1959.

10. European Commission. Council Directive 86/609/EEC of 24 November 1986 on the approximation of laws, regulations and administrative provisions of the Member States regarding the protection of animals used for experimental and other scientific purposes. Official Journal 1986; L 358; 1-28.
11. Kandarova H, Letasiova S. Alternative methods in toxicology: pre-validated and validated methods. Interdiscip Toxico 2011; 4(3): 107-13.
12. Commission Regulation (EU) 2015/282 of 20 February 2015 amending Annexes VIII, IX and X to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards the Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study [online]. 2015; [5 screens]. Available from: URL: http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2015.050.01.0001.01.ENG.
13. Spielmann H. FRAME Annual Lecture. International Cooperation: an essential requirement for replacing animal toxicity tests. Altern Lab Anim 2001; 29(6): 637-46.
14. Spielmann H. Collaboration between ZEBET, FRAME, and ECVAM: FRAME's contribution to establishing the Three Rs in Europe. Altern Lab Anim 2009; 37(Suppl 2): 23-7.
15. Frazier JM. Scientific criteria for validation of In vitro toxicity tests. Environment monograph No. 36. Baltimore, MD: OECD; 1990.
16. ENV/JM/MONO(2005)14. Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test. methods for hazard assessment. OECD series on testing and assessment No. 34. Paris: OECD; 2005.
17. Directive 2003/15/EC of the European Parliament and of the Council of 27 February 2003 amending Council Directive 76/768/EEC on the approximation of the laws of the Member States relating to cosmetic products. Official Journal 2003; L 66: 26-35.
18. การจำแนกประเภทและการติดฉลากสารเคมีที่เป็นระบบเดียวกันทั่วโลก (Globally Harmonized System of classification and labelling of chemicals - GHS). ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ : กรมโรงงานอุตสาหกรรม; 2549.
19. Toxicity testing in the 21st century: a vision and strategy. Washington, DC: The National Academy of Sciences; 2007.
20. Alttox.org table of validated & accepted alternative methods: validation & regulatory acceptance status of alternative test methods & testing strategies [online]. Sep 2014. [cited 2015 Jan 30]; [20 screens]. Available from: URL: http://alttox.org/mapp/table-of-validated-and-accepted-alternative-methods/.
21. Three 'Organs-on-Chips' ready to serve as disease models, drug testbeds [online]. 2012. [cited 2015 Jul 30]; [3 screens]. Available from: URL: http://wyss.harvard.edu/viewpage/484/.
22. Medical technology that could eliminate need for animal testing wins design award [online]. Jun 2015. [cited 2015 Jul 30]; [6 screens]. Available from: URL: http://www.independent.co.uk/news/science/medical-technology-that-could-eliminate-need-for-animal-testing-wins-design-award-10337887.html.

Alternative Toxicology Tests

Suwunna Tienungoon

Bureau of Cosmetics and Hazardous Substances, Departiment of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000, Thailand.

ABSTRACT Toxicity or safety testing of product and raw materials before being used with human and environment are inevitable. In particular when REACH (Registration, Evaluation Authorization and Restriction of Chemicals) was implemented into the legal framework of European Union. All chemical substances imported or produced in the EU must provide toxicity data for registration and marketing in the EU. Alternative methods following the 3Rs principle i.e. Reduction, Refinement and Replacement must be considered in performing Toxicology tests. Such alternative methods must be scientifically validated to ensure that the toxicity information is reliable and relevant to organ specific and the end-point toxicity of interest and being accepted and conformed to the regulatory purposes. In addition, internationally accepted toxicology methods such as OECD Test Guideline shall be selected and performed by OECD GLP accredited laboratory so that the toxicity information will be accepted in regarding to the Mutual Acceptance of Data - MAD for the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) countries. Therefore, there is an urgent need for Thailand to develop technical personnel, OECD GLP accredited laboratories including the Compliance Monitoring Authority (CMA) in order to cope with the Technical Barrier to Trade (TBT) and enhance the competitiveness to the Thai exporters and help expand Thailand economics.

Key words: Alternative toxicology Tests, Alternative Test, Experimental animals, Laboratory

THE BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

The bulletin of the Department of Medical Sciences is an official publication of the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. It is devoted to the dissemination of knowledge concerning medical sciences and the facilitation of co-operation among scientists.

Owner Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

Administrative Advisor
Apichai Mongkol
Jureporn Boonyawongvirot
Varunee Jinaratana
Wanchai Sattayawuthipong

Technical Advisor
Amara Vongbuddhapitak
Mayura Kusum
Jongdee Wongpinairat
Pimjai Naigowit
Supatra Im-Erb
Sumol Pavittranon
Panadda Silva

Editor
Yaowapa Pongsuwanna

Editorial Board
Somchai Bovornkitti
Prasert Auewarakul
Orasa Suthienkul
Pilaipan puthavathana
Aree Thattiyaphong
Jurai Chotichanathawewong
Siri Srimanoroth
Usavadee Thavara
Kanokporn Atisook
Wichuda Jariyapan
Suthon Vongsheree
Malinee Chittaganpitch
Suwanna Tienungoon
Siripakorn Sangkitporn
Wimol Petkanchanapong
Prapai Wongsinkongman
Charoendee Pingsuthiwong
Walailuk Matapatara
Areerat Sa-ngasang

Secretary
Paiwan Boonwong

Administration
Namfon Noiprasert
Prasan Julwong

Subscription Rate The Bulletin of the Department of Medical Sciences is published quarterly. Annual subscription rate is ฿ 200.00 for domestic and US.$ 50.00 for all other countries.

Office Department of Medical Sciences
88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand.
Tel. 0-2951-0000 Fax: 0-2951-1297

Printed by Aroonkarnphim Ltd., Part.
457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200
Tel. 0-2282-6033-4

มุ่งมั่นพัฒนา ค้นคว้าวิจัย ฉับไวบริการ มาตรฐานสากล

www.dmsc.moph.go.th