

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2558

Vol. 57 No. 4 October - December 2015

ISSN 0125-684X

# วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

|                                |                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                               |                           |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| เจ้าของ<br>ที่ปรึกษาด้านบริหาร | กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข<br>นพ.อภิชัย มงคล<br>พญ.วารุณี จินารัตน์                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                               | นางจุรีภรณ์ บุณยวงศ์โรจน์ |
| ที่ปรึกษาด้านวิชาการ           | ภญ.อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์<br>ภญ. ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์<br>ภญ.สุภัทรา อิ่มเอิบ<br>ดร.ปนัดดา ชิลวา                                                                                                              | พญ.มยุรา กุสุมภ์<br>นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท<br>ภญ. ดร.สุมล ปิตรีวานนท์                                                                                                                                            |                           |
| บรรณาธิการ                     | นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                               |                           |
| ผู้ช่วยบรรณาธิการ              | นางเลาจนา เขาวนาดีชัย                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                               |                           |
| คณะบรรณาธิการ                  | ศ. ดร. นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล<br>ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุฒวัฒนะ<br>รศ. ดร. ภญ.พิณทิพย์ พงษ์เพชร<br>ดร.दनัย ทิวาเวช<br>นางสาวพรรณทิพย์ ตีัยพันธ์<br>ดร.อุษาวดี ถาวรระ<br>นายศิริ ศรีมโนรถ<br>นางวิษชุดา จริยะพันธ์ | ศ. ดร.อรษา สุตเธียรกุล<br>ศ. พญ.พรรณี ปิติสุทธิธรรม<br>ผศ.สุชาดา ไชยสวัสดิ์<br>ดร.เดือนถนอม พรหมชาติแก้ว<br>ดร.สลักจิต ชูติพงษ์วิเวท<br>ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณะ<br>นางกนกพร อธิสุข<br>ภญ. ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา |                           |
| ฝ่ายจัดการ                     | นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ<br>นางสาวประสาน จุลวงษ์                                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                               |                           |
| กำหนดออก<br>อัตราสมาชิก        | ราย 3 เดือน<br>ในประเทศปีละ 200.- บาท<br>ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                               |                           |
| สำนักงานวารสาร                 | กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์<br>88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000<br>โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297                                                                                               |                                                                                                                                                                                                               |                           |
| พิมพ์ที่                       | หจก. อรุณการพิมพ์<br>457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200<br>โทร. 0-2282-6033-4                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                               |                           |

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2558

Vol. 57 No. 4 October - December 2015

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

|                                                                                                                                      |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| การหาปริมาณ Imperatorin ในผลมะตูมด้วยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)                                             | 327 |
| ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก อภิรักษ์ ศักดิ์เพชร พีรธรรม เทียมเทียบรัตน์<br>สิริกัญจน์ ธนอริยโรจน์ ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง และณัฏฐรา จันทร์สุวานิชย์ |     |
| การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ยาตกค้างกลุ่มควิโนโลนในเนื้อสัตว์ โดยเทคนิค HPLC-FLD                                      | 341 |
| จิราภา อุณหเลขกะ และลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ                                                                                         |     |
| ข้อกำหนดทางเคมีกายภาพของโกลูนาเต้                                                                                                    | 352 |
| กัญยรัตน์ ชลสิทธิ์ สรินยา จุลศรีไกวล์ และศุภกร จันทร์จอม                                                                             |     |
| คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสมุนไพรแก่นแฉ่ง                                                                                             | 364 |
| สิรดา ปงเมืองมูล เจษฎา กาศโอสถ วิสิฐศักดิ์ วุฒิอดิเรก และสังคม วิทยนันทน์                                                            |     |

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

|                                                                                          |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| การช่วยเหลือผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในพื้นที่ประสบมหาอุทกภัย ปี 2554 - 2555 | 381 |
| ปิยมาศ แจ่มศรี ลดาพรรณ แสงคล้าย และกรรณิกา จิตติยศรา                                     |     |
| การศึกษาสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้ม                                         | 391 |
| ทองสุข ปายะนันท์ จิตผกา สันต์รบ วิชาดา จงมีวาสนา รัตติยากร ศรีโคตร และวีรวุฒิ วิทยนันทน์ |     |
| ดัชนีชื่อผู้นิพนธ์                                                                       | 401 |
| ดัชนีชื่อเรื่อง                                                                          | 409 |

# วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

## BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2558

Vol. 57 No. 4 October - December 2015

### CONTENTS

Page

#### Original Articles

- Quantitative Analisis of Imperatorin in Bael fruit by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)** 327  
*Duangpen Pattamadilok Apirak Sakpetch Peradhama Thiemthieprat Sirikarn Thanaariyaroj Sakwichai Ontong and Nuchattra Chansuvanich*
- Development and Validation of Analysis Method for Determination of Quinolone Drug Residues in Animal Tissue by HPLC-FLD** 341  
*Jirapa Unahalekhaka and Ladda Kaewklapanyacharoen*
- Chemical and Physcial Specifications of Kot Namtao** 352  
*Kanyarat Chonlasit Sarinya Julsrigival and Suppakorn Janjom*
- Physicochemical Properties of *Maerua siamensis* (Kurz) Pax Heartwood** 364  
*Sirada Pongmuangmul Jedsada Katosod Wisitsak Wuttiadirek and Sangkom Vittayanan*

#### Laboratory Findings

- Relief of Producers of Bottled Drinking Water and Ice in Huge Flood Areas in 2011-2012** 381  
*Piyamas Jamsri Ladapan Saengklai and Kanika Jittiyossara*
- Study of Pesticide Residues in Oranges** 391  
*Thongsuk Payanan Jitpaka Suntudrop Wischada Jongmevasna Rattiyakorn Srikote and Weerawut Wittayanan*
- Author Index** 401
- Title Index** 409



# บทบรรณาธิการ



สวัสดีท่านผู้อ่านวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกท่าน สำหรับวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ปีที่ 58 ฉบับที่ 4 ตุลาคม-ธันวาคม 2558 นี้ ได้มีการปรับปรุงรายชื่อบรรณาธิการและคณะบรรณาธิการใหม่เพื่อให้เหมาะสมกับสถานการณ์ปัจจุบัน และมีผู้เชี่ยวชาญจากหน่วยงานต่างๆ มาร่วมเป็นคณะบรรณาธิการหลากหลายมากขึ้น นอกจากนี้แล้วกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีแผนที่จะปรับปรุงกระบวนการรับและพิจารณาบทความที่มีผู้สนใจส่งมาตีพิมพ์ให้มีประสิทธิภาพและมีคุณภาพยิ่งขึ้นเพื่อประโยชน์สูงสุดแก่ผู้อ่านทุกท่าน ซึ่งหากท่านผู้ใดมีข้อเสนอแนะ หรือคำติชมที่เป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพัฒนาวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์นี้ โปรดส่งมาได้ที่ [teeranart.j@dmsc.mail.go.th](mailto:teeranart.j@dmsc.mail.go.th) ทางคณะบรรณาธิการยินดีน้อมรับด้วยความขอบคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบคุณทุกท่านที่สนใจติดตามผลงานวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ด้วยดีตลอดมา

อนึ่ง ทางกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ร่วมกับมูลนิธิกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้กำหนดการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ครั้งที่ 24 ประจำปี 2559 ระหว่างวันที่ 21-23 มีนาคม 2559 ณ อาคารอิมแพ็คฟอรั่ม อิมแพ็ค เมืองทองธานี ภายใต้หัวข้อ “Smart Medical Sciences Smart Life: ใช้ชีวิตอย่างชาญฉลาดด้วยวิทยาศาสตร์การแพทย์” ซึ่งจะเป็นหนึ่งในเวทีทางวิชาการที่สำคัญที่ผู้เข้าร่วมประชุมจะได้รับทราบข้อมูล องค์ความรู้ และเทคโนโลยีใหม่ๆ ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวกับนวัตกรรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โรคติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ การคุ้มครองผู้บริโภคด้านผลิตภัณฑ์สุขภาพ การศึกษาวิจัยสมุนไพร และการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขจากวิทยาการทั้งในและต่างประเทศ โดยผู้สนใจสามารถติดตามข้อมูลและสมัครเข้าร่วมการประชุมได้ทางเว็บไซต์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ [www.dmsc.moph.go.th](http://www.dmsc.moph.go.th) ทั้งนี้เภสัชกรและนักเทคนิคการแพทย์สามารถเก็บคะแนนสะสมการศึกษาต่อเนื่องได้

นางธีรนาถ จิระไพศาลพงศ์  
บรรณาธิการ

# การหาปริมาณ Imperatorin ในผลมะตูมด้วยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

ดวงเพ็ญ ปัทมดิลก อภิรักษ์ ศักดิ์เพชร พิธีธรรม เทียมเทียบริตน์ สิริกาญจน์ ธนอริยโรจน์  
ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง และณัฏฐรา จันทร์สุวานิชย์

สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**บทคัดย่อ** Imperatorin มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านออกซิเดชัน ต้านเนื้องอก ขยายหลอดเลือด ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด เป็นต้น เป็นสารออกฤทธิ์ชนิดหนึ่งที่พบในผลมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa วงศ์ Rutaceae) ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีการใช้ประโยชน์ทั้งทางยาและผลิตภัณฑ์สุขภาพ แต่ยังไม่มีการควบคุมคุณภาพสมุนไพรชนิดนี้ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมด้วยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ซึ่งสามารถสรุปวิธีวิเคราะห์ได้ดังนี้ การสกัดตัวอย่างโดยการ reflux ผลมะตูม 1 กรัมใน hexane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองและนำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC โดยใช้ BEH C18,  $2.1 \times 50$  มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร และใช้ 60% methanol เป็น mobile phase อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตร/นาที ตรวจวัดด้วย PDA ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร การทดสอบความใช้ได้ของวิธี พบว่า calibration curve มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.0402-0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า coefficient ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.999896 ค่า %recovery อยู่ในช่วง 99.43-103.00% ค่า HORRAT ได้เท่ากับ 0.60-0.88 มี LOD และ LOQ เท่ากับ 0.0026 และ 0.0086 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม และสามารถนำไปสู่การกำหนดเกณฑ์ปริมาณสารสำคัญในผลมะตูมต่อไป

## บทนำ

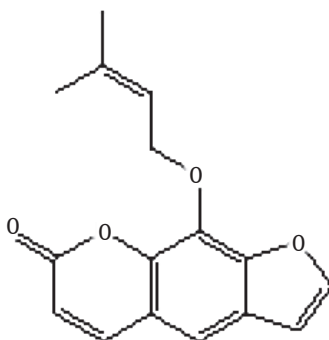
มะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa วงศ์ Rutaceae) มีชื่อสามัญ ได้แก่ Bael Fruit Tree, Bengal Quince และ Bilak ชื่อท้องถิ่น ได้แก่ กะทันตาเถร ตุ่มตั่ง ตุ่ม (ปัตตานี) พะโง้ง (เขมร) มะปิ่น (เหนือ) มะปิสำ (แม่ฮ่องสอน)<sup>(1)</sup> เป็นไม้ต้นผลัดใบ สูง 10-15 เมตร กิ่งก้านมีหนามแหลม ใบประกอบแบบขนนกปลายคี่ มักมี 3 ใบย่อย รูปไข่ถึงรูปรี ดอกออกเป็นช่อกระจุกหลวมๆ หรือเป็นช่อกระจุก ดอกสมบูรณ์เพศ กลีบเลี้ยงและกลีบดอกมี 4-5 กลีบ สีขาว มีกลิ่นหอม เกสรเพศผู้ 30-50 อัน ยาวเท่ากลีบดอก ผลสดเนื้อหลายเมล็ด ทรงกลมถึงรี เปลือกชั้นนอกหนาและแข็ง เปลือกชั้นในอ่อนนุ่มและฉ่ำน้ำ จะเปลี่ยนเป็นแข็งเมื่อผลสุก เมล็ดทรงรีแบน มีจำนวนมาก ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของผลมะตูม เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านไวรัส ยับยั้งการหดเกร็งของลำไส้ รักษาแผลในกระเพาะอาหาร คลายกล้ามเนื้อเรียบ ต้านฮีสตามีน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ลดไขมัน ยับยั้งการเกิด lipid peroxidation เป็นต้น<sup>(2)</sup> การแพทย์พื้นบ้านไทยใช้ผลมะตูมแก้แต่ยังไม่สุก สดหรือแห้ง ฝานบางๆ ชงรับประทานแก้ท้องเสีย แก้บิด แก้โรคระเคาะอาหาร ผาตสมาน เจริญอาหาร แก้อาการพิษไข้ ขับผายลม บำรุงกำลัง ผลแก่สุกทุบให้เปลือกแตก ต้มทั้งลูกกับน้ำตาลแดง เป็นยาระบายท้อง แก้อ่อนในกระหายน้ำ แก้มูกเลือด บิดเรื้อรัง และมีการใช้ผลมะตูมในพิกัด “ตรีผลสมุฏฐาน” แก้มุฏฐานแห่งตรีโทษ ขับลมต่างๆ แก้ไตพิการ



ภาพที่ 1 ผลมะตูม

imperatorin หรือ marmelosin (ภาพที่ 2) เป็นสารเคมีที่พบในผลมะตูม เป็นสารกลุ่ม furanocoumarin มีคุณสมบัติสามารถละลายได้ในน้ำร้อนแต่ไม่ละลายในน้ำเย็น ละลายได้ใน chloroform, benzene, alcohol, ether และ petroleum ether สาร imperatorin มีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย เช่น ต้านออกซิเดชัน<sup>(3)</sup> ต้านเนื้องอก<sup>(4)</sup> ขยายหลอดเลือด<sup>(5)</sup> ต้านการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด<sup>(6)</sup> ต้านชัก<sup>(7)</sup> ยับยั้งการแบ่งตัวของเชื้อไวรัสเอชไอวี<sup>(8)</sup> และยับยั้ง Cytochrome P450<sup>(9)</sup> เป็นต้น องค์ประกอบทางเคมีชนิดอื่นๆ ที่พบในผลมะตูม เช่น luvangetin, aurapten, psoralen, marmelide และ tannin เป็นต้น<sup>(2)</sup>

จากการทบทวนรายงานการวิจัย พบว่า มีรายงานการศึกษาวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณของสารสำคัญในผลมะตูมหลายวิธี ได้แก่ การหาปริมาณแทนนินรวม (วิธี Folin-Denis)<sup>(10)</sup> การหาปริมาณฟีนอลรวม (วิธี Folin-Ciocalteu)<sup>(11)</sup> การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (วิธี Aluminium chloride colorimetry)<sup>(12)</sup> ซึ่งล้วนแต่เป็นการหาปริมาณในลักษณะของปริมาณกลุ่มสารสำคัญ ส่วนการหาปริมาณสารสำคัญเดี่ยวๆ ในผลมะตูม ได้แก่ การหาปริมาณ imperatorin ด้วยวิธี qNMR (quantitative nuclear magnetic resonance)<sup>(13)</sup> นอกจากนี้ ยังมีการควบคุมคุณภาพด้วยวิธี chromatographic fingerprint ได้แก่ HPLC fingerprint profile และ HPTLC fingerprint profile ของใบมะตูม<sup>(14)</sup> ด้วยโดยสาร aegeline เป็นสารสำคัญในใบมะตูมและใช้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ imperatorin

เนื่องจาก imperatorin เป็นสารเคมีที่พบในผลมะตูมและมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลาย การศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมด้วยวิธี Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC) ให้ได้วิธีวิเคราะห์ที่ให้ผลถูกต้อง แม่นยำ รวดเร็ว และเชื่อถือได้ ผลจากการศึกษาวิจัยนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ ตลอดจนการวิจัยและพัฒนาตำรับยาที่มีผลมะตูมเป็นส่วนประกอบต่อไปในอนาคต

## วัสดุและวิธีการ

### วัสดุ

#### 1. ตัวอย่างผลมะตูม

รวบรวมตัวอย่างผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง ในช่วงเดือนมิถุนายน 2554 ถึงเมษายน 2556 เป็นผลสดจากแหล่งธรรมชาติ จำนวน 3 ตัวอย่าง และผลแห้งจากร้านยาสมุนไพร จำนวน 26 ตัวอย่าง ผลสดนำมาล้างให้สะอาดผ่านเป็นแว่น ผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำมาอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน นำมาบดเป็นผง ผ่านแรงเบอร์ 180 แล้วเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท ส่วนผลแห้งนำมาอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อไล่ความชื้น แล้วนำมาบดเป็นผง ผ่านแรงเบอร์ 180 แล้วเก็บในขวดแก้วสีชาปิดสนิท

#### 2. สารมาตรฐาน

imperatorin (marmelosin) ความบริสุทธิ์  $\geq 98\%$  (Sigma-Aldrich, India)

#### 3. ตัวทำละลาย

hexane (AR grade), methanol (HPLC grade), น้ำ (Deionized water)

#### 4. เครื่องมือ

Acquity™ Ultra Performance Liquid Chromatography –PDA detector (Waters®, USA)

Mettler Toledo Analytical Balance

Eyela NE-1 Rotary Evaporator

Retsch AS200 Basic Sieves

Water bath

5. วัสดุวิทยาศาสตร์

Acquity™ UPLC column BEH C18, 2.1 × 50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร, PVDF membrane filter 0.2 ไมโครเมตร, Membrane filter 0.45 ไมโครเมตร, Nylon filter syringe 0.2 ไมโครเมตร, กระดาษกรอง เบอร์ 4 และเครื่องแก้ว

วิธีการ

1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม

1.1 การเลือกชนิดของตัวทำละลายในการสกัด

สกัดตัวอย่างผลมะตูม น้ำหนัก 1 กรัม ด้วย hexane และ methanol ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ด้วยวิธี reflux เป็นเวลา 1 ชั่วโมง กรอง นำสารสกัด hexane ไประเหยแห้ง แล้วละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask ส่วนสารสกัด methanol ให้นำไประเหยเพื่อลดปริมาตร จากนั้นปรับปริมาตรกลับจนครบ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการสกัดสาร imperatorin จากผลมะตูมของตัวทำละลายแต่ละชนิด

1.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

สกัดผลมะตูมแห้ง น้ำหนัก 1 กรัม ด้วย hexane โดยวิธี reflux เป็นเวลา 30 และ 60 นาที กรอง แล้วนำสารละลายที่ได้ไประเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร โดยใช้ volumetric flask นำสารละลายตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC เพื่อเปรียบเทียบผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดสาร imperatorin

1.3 ความยาวคลื่นในการตรวจวัดสาร imperatorin

วัดการดูดกลืนแสง UV ของ imperatorin เพื่อดูความยาวคลื่นที่สารชนิดนี้สามารถดูดกลืนแสงสูงสุด (λmax) และวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างผลมะตูมโดยใช้ PDA เพื่อเลือกความยาวคลื่นสำหรับการตรวจวัด imperatorin โดยที่ไม่พบการเกิด co-elute

1.4 ภูมิภาคคงที่และภูมิภาคเคลื่อนที่

ภูมิภาคคงที่ เปรียบเทียบผลของคอลัมน์ชนิดต่างๆ ที่แตกต่างกันในเรื่องชนิดอนุภาคภายในคอลัมน์ (BEH C18, BEH C8 และ BEH phenyl) ความยาวคอลัมน์ (50 และ 100 มิลลิเมตร) โดยพิจารณาเลือกคอลัมน์จากลักษณะ peak ของ imperatorin (peak shape และ peak symmetry) และ retention time

ภูมิภาคเคลื่อนที่ ศึกษาชนิดและสัดส่วนของภูมิภาคเคลื่อนที่ โดยพิจารณาจาก peak shape และ retention time ของ imperatorin ความสามารถในการแยก impurity จาก peak ของ imperatorin ในสารละลายตัวอย่างผลมะตูม และความดันของระบบโครมาโทกราฟี

1.5 วิธีวิเคราะห์ปริมาณสาร imperatorin

โดยสรุปวิธีจากผลการศึกษาในข้อ 1.1-1.4

2. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมที่พัฒนาขึ้นตามแนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข<sup>(15)</sup>

## 2.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงการวิเคราะห์ (Range)

นิตสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin ที่ 6 ระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.0402-0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ด้วยเครื่อง UPLC นำค่า peak area และความเข้มข้นของสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin ไปสร้าง calibration curve ศึกษา Linearity โดยพิจารณาจาก coefficient ( $R^2$ ) และช่วงความเข้มข้นที่ทำการทดสอบ (Range)

## 2.2 ความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

เติมสารมาตรฐาน (spike) ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในช่วงการใช้งาน 3 ระดับ ลงใน sample blank แล้ววิเคราะห์ sample blank (unspiked) จำนวน 6 ซ้ำ และวิเคราะห์ spiked sample ระดับละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำทำ duplicate จากนั้นคำนวณค่า %recovery, %RSD และ HORRAT

$$\%recovery = \frac{(C_1 - C_2) \times 100}{C_3}$$

เมื่อ  $C_1$  คือ ความเข้มข้นของสารใน spiked sample

$C_2$  คือ ความเข้มข้นของสารใน sample blank

$C_3$  คือ ความเข้มข้นของสารที่เติมลงไป (analyte)

## 2.3 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

LOD คำนวณจากจุดตัดของกราฟมาตรฐานที่เตรียมโดยใช้ sample blank เมื่อสร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ spiked sample blank ที่ 6 ระดับความเข้มข้นของสารมาตรฐาน ระดับละ 3 ซ้ำ จากนั้นคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของ y-intercept ( $Sy/x$ ) และคำนวณค่า LOD โดย LOD คือ ความเข้มข้นที่ response กับ y-intercept + 3  $Sy/x$

## 2.4 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

LOQ คำนวณโดย LOQ มีค่าเท่ากับ 10 เท่าของ  $Sy/x$

## 2.5 ความจำเพาะ (Specificity)

วิเคราะห์ method blank โดยสกัดและวิเคราะห์ตามวิธีที่พัฒนา ใช้สารเคมีทั้งหมด แต่ไม่มีตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบสารรบกวนที่อาจมาจากสารเคมีหรืออุปกรณ์ที่ใช้

## 3. การวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในตัวอย่างผลมะตูม

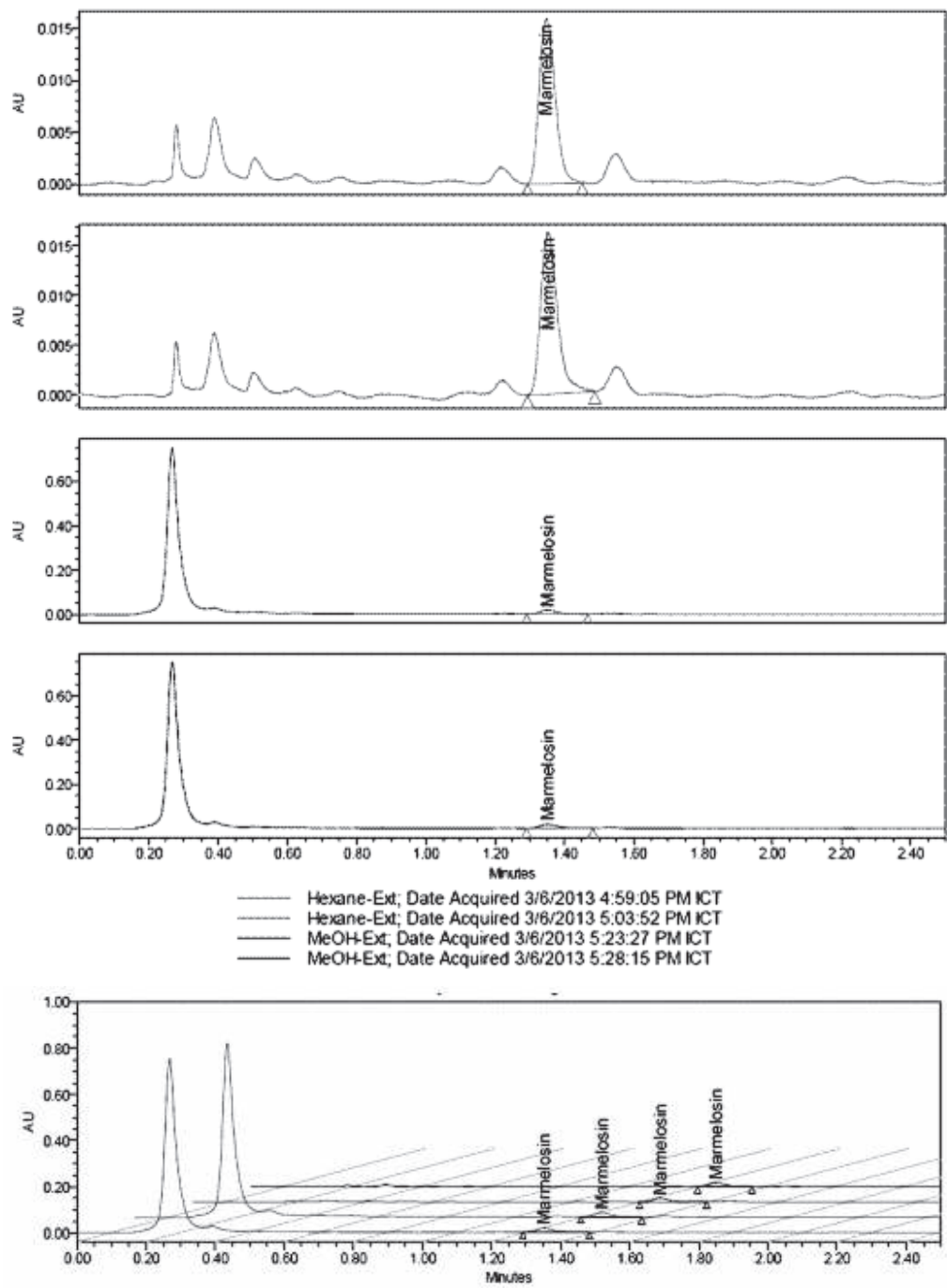
วิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง ด้วยวิธีที่พัฒนาขึ้นในข้อ 1.5

## ผล

### 1. การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม

#### 1.1 ชนิดของตัวทำละลายในการสกัด

ผลการศึกษาพบว่า เมื่อนำสารละลายที่ได้จากการสกัดผลมะตูมด้วย hexane และ methanol วิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC พบว่า พื้นที่ใต้กราฟของ peak สาร imperatorin ที่ retention time 1.3 นาที มีค่าไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 3) แต่สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัดด้วย methanol จะมีสีของสารละลายตัวอย่างเข้มกว่าการสกัดด้วย hexane และยังพบการตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายในเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง ซึ่งเป็นตะกอนที่คงทนไม่สลายเมื่อตั้งทิ้งไว้ข้ามคืน

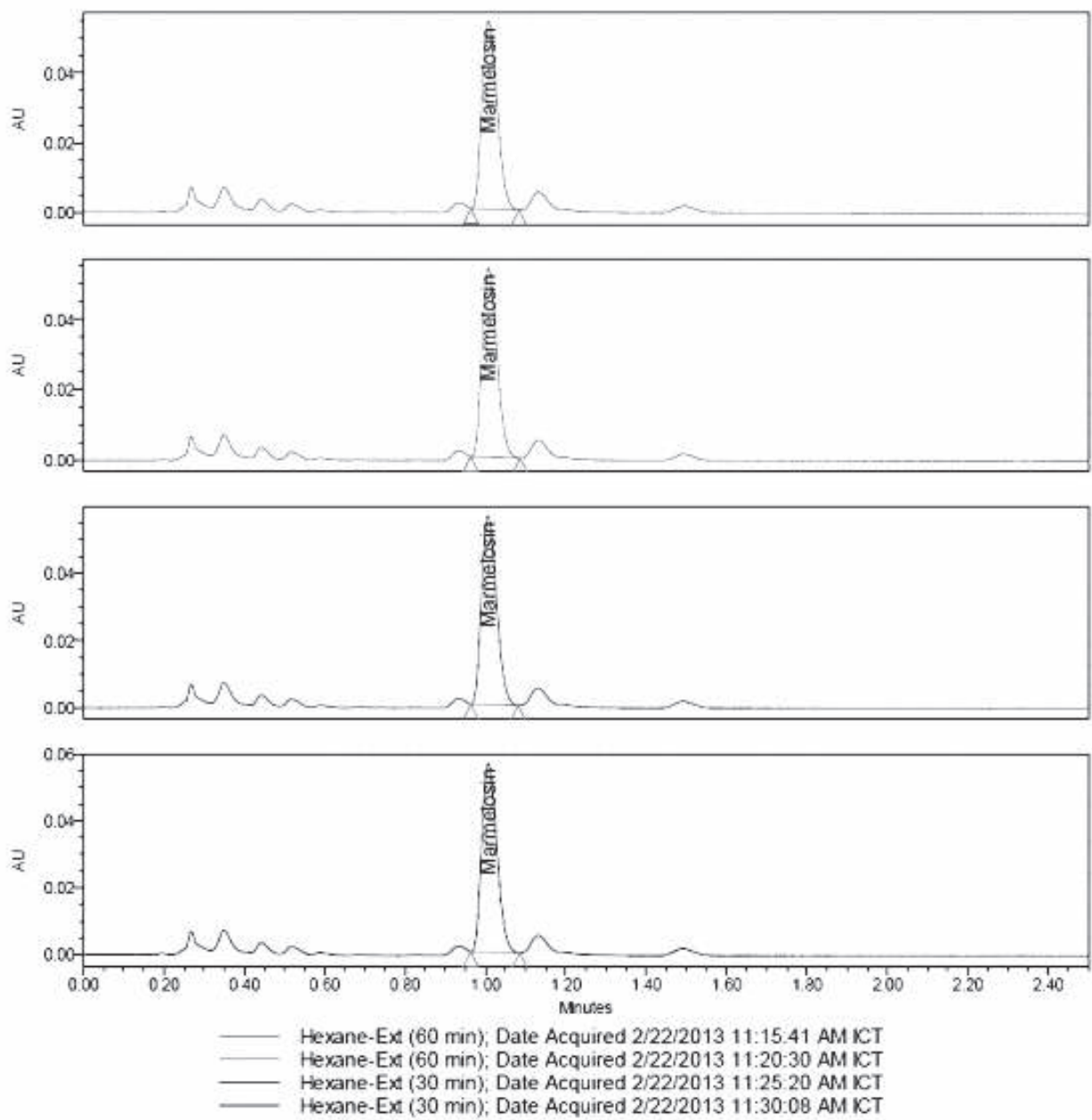


ภาพที่ 3 ผลการสกัด imperatorin (marmelosin) ในผลมะตูมด้วย hexane และ methanol

ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม จึงเลือกใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย อินทรีย์ในการสกัดตัวอย่างผลมะตูม

1.2 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัด

สารละลายที่ได้จากการสกัดตัวอย่างผลมะตูม ซึ่งสกัดด้วยวิธีเดียวกันโดยการ reflux กับ hexane แต่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดแตกต่างกัน เมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง UPLC พบว่า พื้นที่ใต้กราฟของ peak สาร imperatorin ที่ retention time 1.0 นาที ทั้งจากการสกัดด้วยระยะเวลา 30 และ 60 นาที มีค่าไม่แตกต่างกัน (ภาพที่ 4)



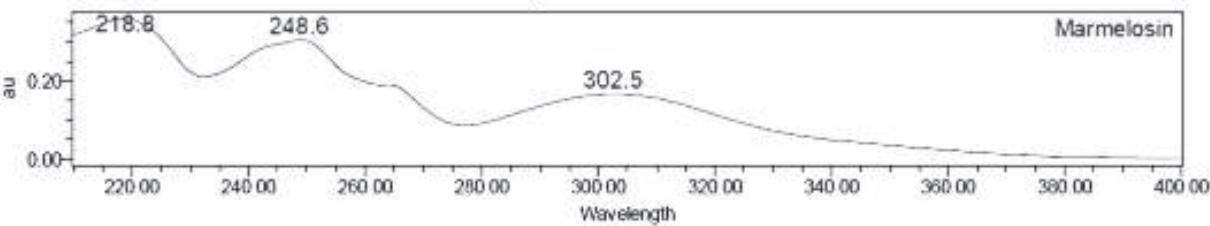
|   | Sample              | Vial Id | Retention time (min) | Area (μV*sec) | Height (μV) |
|---|---------------------|---------|----------------------|---------------|-------------|
| 1 | Hexane-Ext (60 min) | 1297    | 1.008                | 141610.52     | 53879.63    |
| 2 | Hexane-Ext (60 min) | 1302    | 1.007                | 137679.07     | 53321.92    |
| 3 | Hexane-Ext (30 min) | 1307    | 1.006                | 144786.61     | 56025.46    |
| 4 | Hexane-Ext (30 min) | 1312    | 1.007                | 147092.25     | 56494.11    |

ภาพที่ 4 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด imperatorin (marmelosin) จากตัวอย่างผลมะตูม

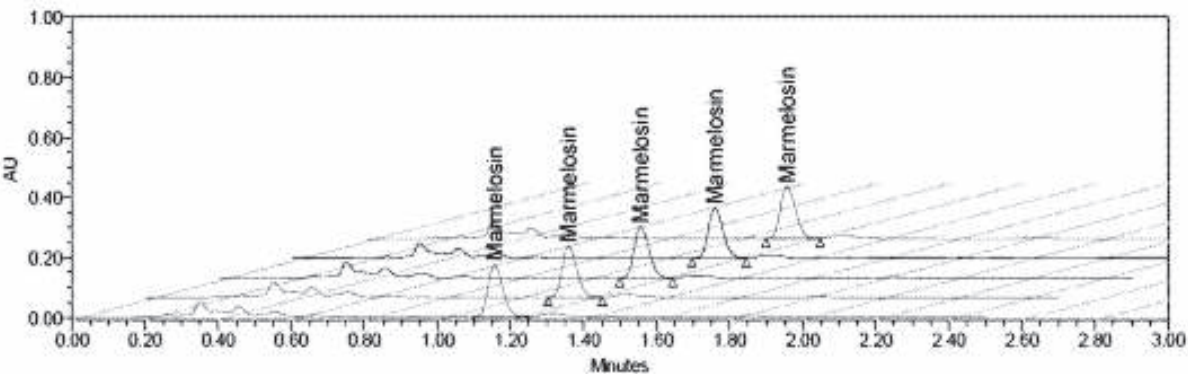
ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมจึงเลือกใช้ hexane เป็นตัวทำละลายในการสกัดและใช้เวลาในการสกัดเพียง 30 นาที

1.3 ความยาวคลื่นในการตรวจวัด imperatorin

จากการศึกษาการดูดกลืนแสง UV ของ imperatorin พบว่า  $\lambda_{max}$  ของสารดังกล่าว มีค่าเท่ากับ 218.8, 248.6 และ 302.5 นาโนเมตร (ภาพที่ 5) และเมื่อวิเคราะห์สารละลายตัวอย่างผลมะตูมด้วยเครื่อง UPLC โดยใช้ PDA เป็น detector ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร ไม่พบการเกิด co-elute ของสารอื่น (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 5 UV spectrum ของ imperatorin (marmelosin)



ภาพที่ 6 UPLC fingerprint ของสารละลายตัวอย่างผลมะตูม

ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม จึงเลือกตรวจวัดการดูดกลืนแสง UV ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร ในการตรวจวัด

1.4 ภูมิภาคคงที่และภูมิภาคเคลื่อนที่

ภูมิภาคคงที่ จากการศึกษ UPLC chromatographic fingerprint ของสารสกัด hexane จากผลมะตูมและตรวจวัดด้วย PDA ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร โดยใช้ 70 % methanol เป็นภูมิภาคเคลื่อนที่พบว่า เมื่อใช้ UPLC column ชนิด BEH C18, 2.1 × 50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร พบว่า UPLC chromatogram ที่ได้ให้ peak ของ imperatorin ที่ retention time 0.6 นาที ซึ่งมีแยกจาก impurity อื่นอย่างชัดเจน ดังนั้น จึงเลือก UPLC column ชนิดดังกล่าวสำหรับวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ที่พัฒนาขึ้น

ภูมิภาคเคลื่อนที่ เมื่อปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของภูมิภาคเคลื่อนที่เป็น 55 % และ 60 % methanol พบว่า retention time ของสาร imperatorin เปลี่ยนเป็น 1.4 และ 1.2 นาที ตามลำดับ และเมื่อใช้ 60 % methanol เป็นภูมิภาคเคลื่อนที่จะได้ peak shape ของ imperatorin ที่ดีขึ้น แต่เมื่อใช้ 55 % methanol ความดันของระบบ UPLC จะสูงขึ้น ซึ่งจะทำให้อายุการใช้งานของ UPLC column สั้นลง

ดังนั้น ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมด้วยเครื่อง UPLC จึงเลือกใช้ Acquity™ BEH C18, 2.1 × 50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร และ 60% methanol เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ ตรวจวัดด้วย PDA ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร

### 1.5 วิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม

#### การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

สกัดผงมะตูม น้ำหนัก 1 กรัม ด้วย hexane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยวิธี reflux เป็นเวลา 30 นาที กรองและนำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร

#### การเตรียมสารละลายมาตรฐาน imperatorin

ชั่ง imperatorin น้ำหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย volumetric flask จากนั้นเจือจางให้ได้ 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0.04, 0.08, 0.12, 0.16, 0.20 และ 0.24 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

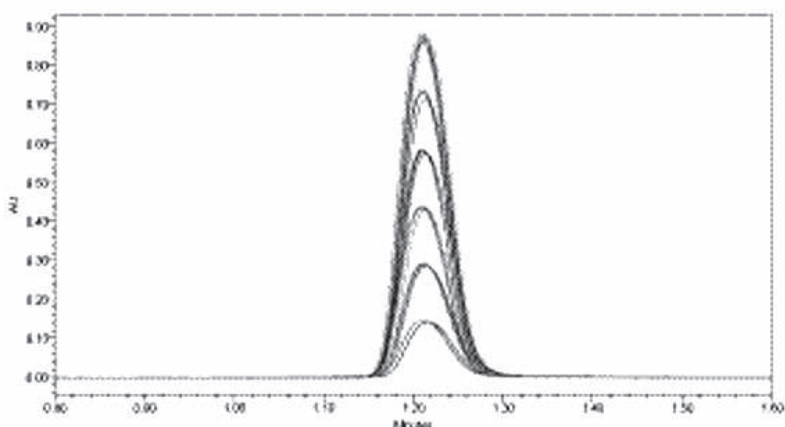
#### สภาวะของระบบโครมาโทกราฟี

|                                                     |                                                          |
|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| วัฏภาคคงที่                                         | Acquity™ UPLC BEH C18, 2.1 × 50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร |
| อุณหภูมิคอลัมน์                                     | ambient                                                  |
| วัฏภาคเคลื่อนที่                                    | 60 % methanol                                            |
| อัตราการไหล                                         | 0.5 มิลลิลิตร/นาที                                       |
| การตรวจวัดสาร                                       | PDA ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร                         |
| ปริมาตรการฉีด                                       | 3 ไมโครลิตร                                              |
| โดย retention time ของ imperatorin เท่ากับ 1.2 นาที |                                                          |

## 2. การทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์

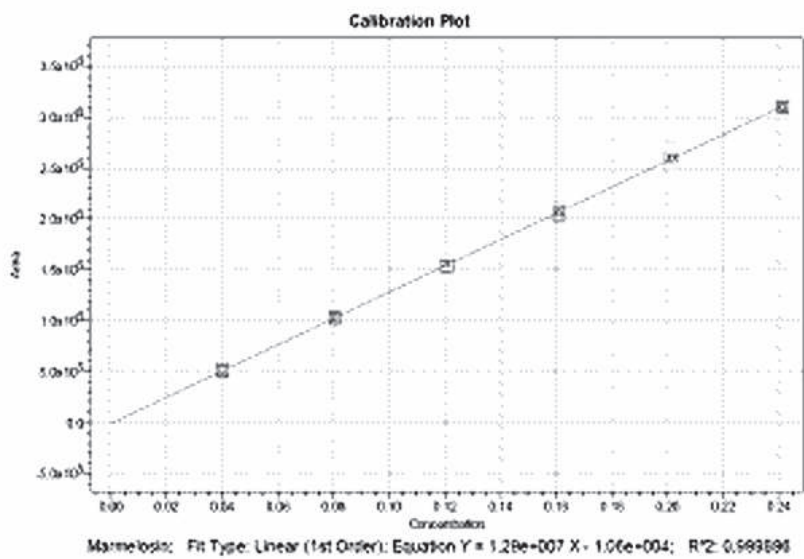
### 2.1 ความเป็นเส้นตรง (Linearity) และช่วงการวิเคราะห์ (Range)

ฉีดสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin ที่ 6 ระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ 0.0402–0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 3 ขั้ว และวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง ด้วยเครื่อง UPLC นำค่า peak area และความเข้มข้นของสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin ไปสร้าง calibration curve ผลการศึกษา (ภาพที่ 7–8)



ภาพที่ 7 Chromatogram ของสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin

ในช่วงความเข้มข้น 0.0402–0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร



ภาพที่ 8 Calibration curve ของสารละลายสารมาตรฐาน imperatorin ในช่วงความเข้มข้น 0.0402-0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จากภาพที่ 7-8 พบว่า calibration curve ของสารมาตรฐาน imperatorin มีลักษณะเป็นเส้นตรง ในช่วงความเข้มข้น 0.0402-0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยมีค่า coefficient ( $R^2$ ) เท่ากับ 0.999896

2.2 ความแม่นยำ (Accuracy) และความเที่ยง (Precision)

เมื่อเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ในช่วงการใช้งาน 3 ระดับ ลงใน sample blank วิเคราะห์ sample blank จำนวน 6 ซ้ำ และวิเคราะห์ spiked sample ระดับละ 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำทำ duplicate ผลการศึกษา (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาความแม่นยำและความเที่ยง

| Standard addition level | %Spiked target | %Recovery  |         | HORRAT** | เกณฑ์การยอมรับของ %recovery* |
|-------------------------|----------------|------------|---------|----------|------------------------------|
|                         |                | Individual | Average |          |                              |
| Low level               | 50             | 104.8272   | 103.00  | 0.60     | 95-105%                      |
|                         |                | 101.7207   |         |          |                              |
|                         |                | 102.4670   |         |          |                              |
| Medium level            | 100            | 100.1012   | 99.43   | 0.88     | 95-105%                      |
|                         |                | 96.8887    |         |          |                              |
|                         |                | 101.2907   |         |          |                              |
| High level              | 150            | 103.1674   | 101.06  | 0.76     | 95-105%                      |
|                         |                | 99.1816    |         |          |                              |
|                         |                | 100.8324   |         |          |                              |

\* ตาม AOAC Peer-verified methods program on policies and procedures, Arlington, VA, USA (1998)

\*\* การยอมรับความเที่ยง ประเมินจาก HORRAT (< 2)

2.3 ขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD)

พบว่า LOD มีค่าเท่ากับ 0.0026 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.4 ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ)

LOQ จากการคำนวณ มีค่าเท่ากับ 0.0086 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.5 ความจำเพาะ (Specificity)

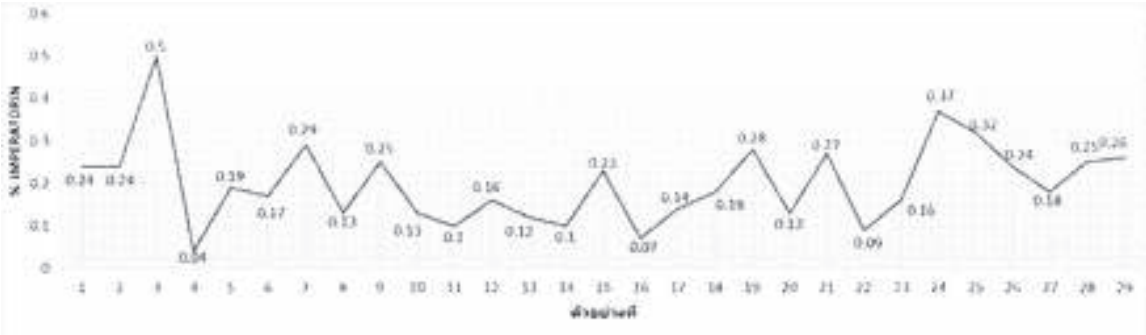
ผลการวิเคราะห์ method blank ไม่พบสารรบกวน peak ของ imperatorin

3. การวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในตัวอย่างผลมะตูม

ผลการวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณ imperatorin มีค่าอยู่ในช่วง 0.04–0.5 % โดยน้ำหนัก มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ imperatorin เท่ากับ 0.20 % โดยน้ำหนัก ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.09 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 9)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมด้วยวิธี UPLC

| ตัวอย่างที่ | ปริมาณ imperatorin<br>(% โดยน้ำหนัก) | ตัวอย่างที่ | ปริมาณ imperatorin<br>(% โดยน้ำหนัก) |
|-------------|--------------------------------------|-------------|--------------------------------------|
| 1           | 0.24                                 | 16          | 0.07                                 |
| 2           | 0.24                                 | 17          | 0.14                                 |
| 3           | 0.50                                 | 18          | 0.18                                 |
| 4           | 0.04                                 | 19          | 0.28                                 |
| 5           | 0.19                                 | 20          | 0.13                                 |
| 6           | 0.17                                 | 21          | 0.27                                 |
| 7           | 0.29                                 | 22          | 0.09                                 |
| 8           | 0.13                                 | 23          | 0.16                                 |
| 9           | 0.25                                 | 24          | 0.37                                 |
| 10          | 0.13                                 | 25          | 0.32                                 |
| 11          | 0.10                                 | 26          | 0.24                                 |
| 12          | 0.16                                 | 27          | 0.18                                 |
| 13          | 0.12                                 | 28          | 0.25                                 |
| 14          | 0.10                                 | 29          | 0.26                                 |
| 15          | 0.23                                 | $\bar{x}$   | 0.20                                 |
|             |                                      | SD          | 0.09                                 |



ภาพที่ 9 ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม

วิจารณ์

วิธีรับประทานผลมะตูมโดยมากจะต้มเป็นน้ำมะตูม ซึ่งจะได้น้ำมะตูมที่มีลักษณะใสเนื่องจากการต้มจะเติมน้ำในปริมาณมาก แต่ในการวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin หากสกัดโดยการต้มกับน้ำและนำมาลดปริมาตร สารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นเมือก ข้นหนืด ไม่สามารถทำการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้ได้ จึงต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดแทน UPLC เป็น High Performance Liquid Chromatograph (HPLC) ที่มีการพัฒนาเพื่อให้มีประสิทธิภาพการแยกสาร ความไวในการแยกสารที่ดีขึ้น ใช้วัฏภาคเคลื่อนที่น้อยลง และลดระยะเวลาในการตรวจวิเคราะห์ ดังนั้น จึงเลือกใช้เครื่อง UPLC ในการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมจากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ที่พัฒนาขึ้น พบว่า %recovery จากการวิเคราะห์ spiked sample อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (95–105%) ซึ่งแสดงถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ และค่า HORRAT อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ (< 2) ซึ่งแสดงถึงความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้น วิธีดังกล่าวจึงมีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสาร imperatorin เพื่อการควบคุมคุณภาพของผลมะตูมต่อไปได้จากผลการวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม จำนวน 29 ตัวอย่าง สามารถนำไปสู่การกำหนดมาตรฐานปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมได้ โดยกำหนดจากค่าเฉลี่ยปริมาณสารดังกล่าวลบด้วย 10% ของค่าเฉลี่ยนั้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.18% เมื่อปัดเลขเป็นทศนิยม 1 ตำแหน่ง ได้ค่า 0.20% ดังนั้น ผลมะตูมควรมีปริมาณ imperatorin ไม่น้อยกว่า 0.20% โดยน้ำหนัก

สรุป

วิธีวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูมด้วยเครื่อง UPLC ที่พัฒนาขึ้น โดยสกัดผงมะตูม น้ำหนัก 1 กรัม ด้วย hexane ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยวิธี reflux เป็นเวลา 30 นาที กรองและนำสารสกัดที่ได้มาระเหยแห้ง จากนั้นละลายกลับและปรับปริมาตรด้วย methanol จนครบ 25 มิลลิลิตร นำสารละลายดังกล่าว ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ฉีดเข้าสู่ระบบโครมาโทกราฟีของ UPLC ซึ่งใช้ column ชนิด BEH C18, 2.1 × 50 มิลลิเมตร, 1.7 ไมโครเมตร และใช้ 60% methanol เป็นวัฏภาคเคลื่อนที่ อัตราการไหล 0.5 มิลลิลิตร/นาที และตรวจวัดสารด้วย PDA ที่ความยาวคลื่น 302 นาโนเมตร จะปรากฏ peak ของ imperatorin ที่ retention time เท่ากับ 1.2 นาที ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ดังกล่าว พบว่า calibration curve มีความเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.0402–0.2414 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า coefficient (R<sup>2</sup>) เท่ากับ 0.999896 ค่า %recovery อยู่ในช่วง 99.43–103.00% ค่า HORRAT เท่ากับ 0.60–0.88 ค่า LOD และ LOQ มีค่าเท่ากับ 0.0026 และ 0.0086 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ จากข้อมูลข้างต้นแสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้มีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ปริมาณ imperatorin ในผลมะตูม และสามารถนำไปสู่การกำหนดเกณฑ์ปริมาณสารสำคัญในผลมะตูมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. เต็ม สมิตินันท์. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย : ชื่อพฤกษศาสตร์-ชื่อพื้นเมือง. กรุงเทพฯ : กรมป่าไม้; 2523. หน้า 8.
2. นันทวัน บุญยะประกิตร์, อรุณ โชคชัยเจริญพร, บรรณธิการ. สมุนไพรไม้พุ่มบ้าน เล่ม 3. กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล; 2542. หน้า 570–578.
3. Piao XL, Park IH, Baek SH, Kim HY, Park MK, Park JH. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from Angelicae dahuricae. J Ethnopharmacol 2004; 93(2–3): 243–6.
4. Yang LL, Wang MC, Chen LG, Wang CC. Cytotoxic activity of coumarins from the fruits of *Cnidium monnieri* on leukemia cell lines. Planta Med 2003; 69(12): 1091–5.

5. He JY, Zhang W, He LC, Cao YX. Imperatorin induces vasodilation possibly via inhibiting voltage dependent calcium channel and receptor-mediated  $\text{Ca}^{2+}$  influx and release. *Eur J Pharmacol* 2007; 573(1-3): 170-5.
6. Chen IS, Chang CT, Sheen WS, Teng CM, Tsai IL, Duh CY, et al. Coumarins and antiplatelet aggregation constituents from Formosan *Peucedanum japonicum*. *Phytochemistry* 1996; 41(2): 525-30.
7. Luszczyk JJ, Wojda E, Raszewski G, Glowinski K, Czuczwar SJ. Influence of imperatorin on the anticonvulsant activity and acute adverse effect profile of lamotrigine in maximal electroshock-induced seizures and chimney test in mice. *Pharmacol Rep* 2008; 60(4): 566-73.
8. Sancho R, Márquez N, Gómez-Gonzalo M, Calzado MA, Bettoni G, Coiras MT, et al. Imperatorin inhibits HIV-1 replication through an Sp1-dependent pathway. *J Biol Chem* 2004; 279(36): 37349-59.
9. Kleiner HE, Reed MJ, DiGiovanni J. Naturally occurring coumarins inhibit human cytochromes P450 and block benzo[a]pyrene and 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene DNA adduct formation in MCF-7 cells. *Chem Res Toxicol* 2003; 16(3): 415-22.
10. Polshettiwar SA, Ganjiwale RO, Wadher SJ, Yeol PG. Spectrophotometric estimation of total tannins in some ayurvedic eye drops. *Indian J Pharma Sci* 2007; 69(4): 574-6.
11. McDonald S, Prenzler PD, Antolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chem* 2001; 73: 73-84.
12. Rajan S, Gokila M, Jency P, Brindha P, Sujatha RK. Antioxidant and phytochemical properties of *Aegle marmelos* fruit pulp. *Int J Curr Pharm Res* 2011; 3(2): 65-70.
13. Chauthe SK, Sharma RJ, Agil F, Gupta RC, Singh IP. Quantitative NMR: an applicable method for quantitative analysis of medicinal plant extracts and herbal products. *Phytochem Anal* 2012; 23(6): 689-96.
14. Janarthanan UK, Varadharajan V, Krishnamurthy V. Physicochemical evaluation, phytochemical screening and chromatographic fingerprint profile of *Aegle marmelos* (L.) leaf extracts. *World J Pharm Res* 2012;1(3): 813-37.
15. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2549.

---

# Quantitative Analysis of Imperatorin in Bael fruit by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

---

**Duangpen Pattamadilok   Apirak Sakpetch   Peradhama Thiemthieprat  
Sirikarn Thanaariyaroj   Sakwichai Ontong   and Nuchattrra Chansuvanich**  
*Medicinal Plant Research Institute, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road,  
Nonthaburi 11000, Thailand.*

**ABSTRACT** Imperatorin is an active principle for anti-oxidation, anti-tumor, vasodilation, anti-platelet aggregation in Bael fruit (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa, Family Rutaceae). Although this plant is widely used in traditional medicine and health products, there is no quality control method for it. The objective of this study is to develop an analytical method for determination of imperatorin content in Bael fruit using UPLC. Sample preparation was prepared by refluxing 1 g of powdered drug in 50 ml of hexane for 30 min, filtering and evaporating until dryness. The residue was redissolved and adjusted with methanol to 25 ml. A 3 µl-portion of sample solution was injected to UPLC system. The analysis was performed using BEH C18, 2.1×50 mm, 1.7 µm column and 60% methanol as the mobile phase at flow rate of 0.7 ml/min, and detected with PDA at wavelength 302 nm. This method was validated. Linearity was established for imperatorin concentration range of 0.0402–0.2414 mg/ml with a coefficient of determination ( $R^2$ ) 0.999896. %Recovery was in the range of 99.43–103.00%. HORRAT was in the range of 0.60–0.88. LOD and LOQ were equal to 0.0026 and 0.0086 mg/ml, respectively. It was shown that this developed method was suitable and could be used to analyze the content of imperatorin in Bael fruit. The appropriate specification of imperatorin content in Bael fruit could be established.

# การพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ยาตกค้างกลุ่มควิโนโลนในเนื้อสัตว์ โดยเทคนิค HPLC-FLD

จิราภา อุนทะเลชกะ และลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**บทคัดย่อ** ยาปฏิชีวนะกลุ่มควิโนโลนเป็นยาที่อนุญาตให้ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อในสัตว์ที่เสี่ยงเพื่อการบริโภค การใช้ยาอย่างไม่ถูกต้องจะทำให้เกิดการตกค้างในเนื้อสัตว์ ส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงและการดื้อยาในมนุษย์ได้ จึงได้พัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ยาในกลุ่มนี้ จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ danofloxacin, difloxacin, enrofloxacin, sarafloxacin, flumequine และ oxolinic acid โดยเทคนิค HPLC-FLD ยาในกลุ่มนี้จะถูกสกัดออกจากตัวอย่างด้วยสารละลายผสมของ 0.3% metaphosphoric acid กับ acetonitrile ด้วยอัตราส่วน 1:10 โดยปริมาตร กำจัดไขมันโดยใช้เทคนิค liquid-liquid extraction ด้วย hexane ที่อิ่มตัวด้วย acetonitrile และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค solid phase extraction ด้วย HLB C-18 cartridge จากนั้นตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเครื่อง HPLC-FLD วิธีดังกล่าวมีขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection, LOD) และค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation, LOQ) เท่ากับ 5 และ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ช่วงการวิเคราะห์ที่ให้ความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (linearity of working range) อยู่ในช่วง 10-100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination:  $R^2$ ) มากกว่า 0.95 มีความแม่นยำ (accuracy) แสดงด้วยค่าเฉลี่ย % recovery และความเที่ยง (precision) แสดงด้วยค่า HORRAT ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม อยู่ในช่วง 65.1-97.8% และ 0.3-0.9 ตามลำดับ และจากการทดสอบ matrix effect ทางสถิติด้วย paired t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $\mu = 0.05$ ) การเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญโดยการเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการมีค่า  $|Z|$  น้อยกว่า 2 วิธีนี้จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการทดสอบตามข้อกำหนดของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 303) พ.ศ. 2550 จากนั้นได้สำรวจปริมาณการตกค้างของสารกลุ่มนี้ในเนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัวจำนวนทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง ที่จำหน่ายในตลาด 11 แห่งในเขตกรุงเทพฯ และนนทบุรี พบว่ามีเนื้อไก่ 1 ตัวอย่าง ที่ตรวจพบ oxolinic acid ปริมาณ 29.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และอีก 2 ตัวอย่าง พบ Enrofloxacin ปริมาณ 16.1 และ 16.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

## บทนำ

กลุ่มยาควิโนโลนมีสูตรโครงสร้างหลักที่ประกอบด้วย 1-substituted-1, 4-dihydro-4-oxopyridine-3-carboxylic moiety และ aromatic groups มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย สามารถแบ่งตามสูตรโครงสร้างได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มที่ประกอบด้วย pyridonecarboxylic acid ได้แก่ nalidixic acid, flumequine และ oxolinic acid เป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียชนิดแกรมลบได้ดี และกลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มที่ประกอบด้วย piperazinyl ได้แก่ danofloxacin, enrofloxacin, marbofloxacin, sarafloxacin, ciprofloxacin, difloxacin เป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้าง (broad spectrum antibiotics) ทั้งแบคทีเรียชนิดแกรมบวก แกรมลบ และ mycoplasma โดยยับยั้งเอนไซม์ DNA gyrase และ topoisomerase IV ที่จำเป็นต่อการทำซ้ำและแปลรหัส DNA (DNA replication and transcription) ของแบคทีเรีย<sup>(1, 2)</sup> ยากลุ่มนี้เป็นยาที่อนุญาตให้ใช้เพื่อรักษาโรคติดเชื้อในระบบทางเดินหายใจ ทางเดินปัสสาวะ และทางเดินอาหารในสัตว์ที่เลี้ยงเพื่อการบริโภคทั้งสัตว์บกและสัตว์น้ำ<sup>(3)</sup> การใช้ยาอย่างไม่ถูกต้องหรือไม่สมเหตุผลตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง ข้อปฏิบัติการควบคุมการใช้ยาสัตว์ การกำหนดเภสัชเคมีภัณฑ์ที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์<sup>(4, 5)</sup> หรือตามประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม เรื่อง ข้อกำหนดการควบคุมการใช้ยาสำหรับสัตว์<sup>(6)</sup> รวมไปถึงการไม่ปฏิบัติตามการปฏิบัติทางการเกษตรที่ดี (Good Agriculture Practices; GAP) สำหรับปศุสัตว์หรือสัตว์น้ำ ทำให้เกิดการตกค้างของยาปฏิชีวนะในเนื้อสัตว์ เมื่อบริโภคจะส่งผลให้เกิดอาการข้างเคียงที่เกี่ยวข้องกับระบบประสาทส่วนกลาง อาการไม่สบายท้อง คลื่นไส้ ปวดศีรษะ นอนไม่หลับ<sup>(7)</sup> และอาจก่อให้เกิดการดื้อยาในมนุษย์ได้เนื่องจากเป็นยากลุ่มเดียวกับที่ใช้ในมนุษย์ มีการรายงานในประเทศไทยกำลังประสบปัญหาการดื้อยากลุ่มนี้ของเชื้อ *E.coli* โดยมีร้อยละการดื้อยาประมาณ 54 ในปี พ.ศ. 2555-2556<sup>(8)</sup> เชื้อกลุ่ม nontyphoidal *Salmonella* และ *Shigella* ในภูมิภาคตะวันออกเฉียงใต้ มีช่วงร้อยละการดื้อยากลุ่มนี้อยู่ที่ 0.2-4 และ 0-82 ตามลำดับ<sup>(9)</sup> และจากงานวิจัยพบว่าไก่ฟาร์มดื้อยาด้านเชื้อ *Salmonella* มากกว่าไก่บ้าน สาเหตุเนื่องจากการใช้ยาต้านจุลชีพ เช่น มีอัตราการดื้อยาต่อ nalidixic acid, ciprofloxacin เพิ่มขึ้นจากร้อยละ 59.2 เป็น 78.3, 0 เป็น 8.7 ตามลำดับ<sup>(10)</sup>

การวิเคราะห์ยากลุ่มนี้ในเนื้อสัตว์นิยมใช้เทคนิค HPLC โดยมีเครื่องตรวจวัดเป็น UV/VIS, photodiode array (PDA)<sup>(11, 12)</sup>, fluorescence (FLD)<sup>(13, 14, 15)</sup> หรือ MS/MS<sup>(16)</sup> วิธีที่พัฒนาขึ้นมานี้ มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างเริ่มจากการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายและสารละลายกรด กำจัดไขมันด้วย n-hexane ทำให้บริสุทธิ์ (clean up) ด้วย solid phase extraction: SPE แล้ววิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเครื่อง HPLC-FLD

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 303 พ.ศ. 2550 เรื่อง อาหารที่มียาสัตว์ตกค้าง มีการกำหนดมาตรฐานการตรวจพบยาสัตว์ตกค้างสูงสุด (maximum residue limit, MRL) ของยากลุ่มนี้ไว้เพียง 3 ชนิดเท่านั้น คือ sarafloxacin, danofloxacin และ flumequine โดยตกค้างได้ไม่เกินปริมาณ 10-80, 50-400 และ 500-3,000 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ<sup>(17)</sup> และตามประกาศกรมปศุสัตว์ พ.ศ. 2549 เรื่อง กำหนดมาตรฐานสารตกค้างสำหรับสินค้าปศุสัตว์กำหนดให้มี enrofloxacin ตกค้างสูงสุดได้ไม่เกิน 100-300 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม<sup>(18)</sup> แต่เนื่องจากในประเทศไทยยังไม่พบการรายงานการเฝ้าระวังยากลุ่มนี้ในอาหารอย่างต่อเนื่อง และกฎหมายไม่ครอบคลุมยากลุ่มนี้ทุกชนิด รวมถึงไม่มีวิธีมาตรฐานในระดับชาติหรือนานาชาติ (AOAC) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องพัฒนาวิเคราะห์ที่เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการ โดยเลือกใช้เทคนิค HPLC-FLD แม้ว่าจะมีความไวน้อยกว่าเครื่องตรวจวัดชนิด MS หรือ MS/MS 15-50 เท่า แต่มีความไวมากกว่าชนิด UV 5 เท่า<sup>(19)</sup> เพื่อเป็นประโยชน์ต่อการคุ้มครองผู้บริโภค และเป็นข้อมูลในการกำหนดค่าการตกค้างสูงสุด (Maximum residue limits: MRLs) ของประเทศต่อไป

## วัสดุและวิธีการ

### สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารมาตรฐาน : danofloxacin mesylate (purity 93.5%), difloxacin hydrochloride (purity 97.5%), enrofloxacin (purity 98.5%), flumequine (purity 99.0%), oxolinic acid (purity 98.0%), sarafloxacin hydrochloride (purity 95.5%) ผลิตจาก Dr. Ehrenstorfer GmbH

สารเคมี : acetonitrile ( $C_4H_8O_2$ ), hexane ( $C_6H_{14}$ ) และ methanol (MeOH) เป็น HPLC grade, phosphoric acid ( $H_3PO_4$ ), metaphosphoric acid ( $HPO_3$ )<sub>n</sub>, sodium dihydrogen phosphate ( $NaH_2PO_4$ ), sodium dodecyl sulfate ( $NaC_{12}H_{25}SO_4$ ) และ sodium hydroxide pellets (NaOH) เป็น AR grade

### เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งความละเอียด 0.001 กรัม และ 0.01 มิลลิกรัม, refrigerated centrifuge, vortex mixer, rotary evaporator, เครื่องบดปั่น (blender), เครื่องผสมเป็นเนื้อเดียว (homogenizer), micro pipette ขนาด 10–200, 20–200 และ 100–1,000 ไมโครลิตร, screw cap centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร, separating funnel ขนาด 125 มิลลิลิตร, round bottom flask ขนาด 100, 250 มิลลิลิตร, vacuum manifold, SPE HLB cartridge, micro-spin filter tube ชนิด PVDF 0.45 ไมโครเมตร, เครื่อง HPLC Agilent 1,200 series ประกอบด้วย quaternary pump, autosampler, vacuum degasser, thermostat column compartment, detector ชนิด FLD Ex 327/Em 367 nm, Ex 295/Em 446 nm, HPLC column: pHendure C18, 150 × 4.6 มิลลิเมตร, 5 ไมโครเมตร มีเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายผสมของ acetonitrile: 0.05M  $NaH_2PO_4$  (pH 2.5) 35:65 (v/v) ที่มี 3.5 mM sodium dodecyl sulfate (SDS) ใช้โปรแกรม gradient มี flow rate 1.0–1.2 มิลลิลิตรต่อนาที, inj. vol. 20 ไมโครลิตร เวลาที่ใช้ในการวิเคราะห์ทั้งหมด 20 นาที

### ตัวอย่าง

1. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ใช้เนื้อหมูเป็นตัวแทนของกลุ่มเนื้อสัตว์ เนื่องจากเนื้อหมูมีไขมันสูงทำให้เกิดสารรบกวน (Interference) มากกว่าเนื้อสัตว์ชนิดอื่น
2. การสำรวจปริมาณยาตกค้างในอาหาร พ.ศ. 2556 ใช้เฉพาะตัวอย่างสัตว์บก เนื่องจากตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขไม่มีเกณฑ์กำหนดในสัตว์น้ำ โดยเก็บเนื้อไก่ 24 ตัวอย่าง เนื้อหมู 24 ตัวอย่าง และเนื้อวัว 12 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง จากตลาดในเขตกรุงเทพฯ และนนทบุรี จำนวน 11 แห่ง

### วิธีวิเคราะห์

#### การสกัด (extraction)

ชิ้นเนื้อสัตว์บดละเอียด 5 กรัม ใส่ใน screw cap centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม 0.3% metaphosphoric acid:acetonitrile 1:10 (v/v), 15 มิลลิลิตร ปั่นด้วย homogenizer นาน 1 นาที vortex mixer นาน 1 นาที นำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาที 4°C นาน 10 นาที กรองส่วนใสใส่ separating funnel สกัดซ้ำอีกครั้ง จากนั้นนำส่วนใสที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 ครั้ง มาสกัดไขมันด้วย hexane ที่อิ่มตัวด้วย acetonitrile ครั้งละ 25 มิลลิลิตร นาน 5 นาที สกัดซ้ำอีกครั้ง นำชั้น acetonitrile ที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 ครั้ง นำมาระเหยแห้งด้วย rotary evaporator

### การทำให้บริสุทธิ์ (clean - up)

ละลาย residue ที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร นำไป load ผ่าน SPE HLB cartridge ที่ activated ด้วย methanol 5 มิลลิลิตร น้ำ 10 มิลลิลิตร ละลาย residue ซ้ำด้วย 10% methanol 10 มิลลิลิตร 2 ครั้ง แล้วนำไป load ผ่าน SPE HLB cartridge จากนั้น elute ด้วยสารละลายผสมของ methanol: 0.05M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (pH 2.5) 7:3 (v/v) 5 มิลลิลิตร 2 ครั้ง ระเหยแห้งด้วย rotary evaporator ละลาย residue ด้วย mobile phase 1 มิลลิลิตร เทสารละลายที่ได้ใส่ micro-spin filter นำไปหมุนเหวี่ยง 5,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เทสารละลายที่กรองได้ใส่ใน HPLC vial สีชา นำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณด้วยเครื่อง HPLC-FLD

### การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (method validation)<sup>(20)</sup>

#### การทดสอบช่วงของการวัด (Working range) และความเป็นเส้นตรง (Linearity) ของวิธีวิเคราะห์

การทดสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (calibration curve)

เตรียม external standard calibration curve ที่ระดับความเข้มข้น 50, 125, 250, 375 และ 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร วิเคราะห์ระดับละ 3 ซ้ำ สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (แกน x) กับ peak area ของสารมาตรฐาน (แกน y) คำนวณค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination:  $R^2$ )

#### การทดสอบ matrix effect

เตรียม external standard calibration curve และ standard addition calibration curve ที่ระดับความเข้มข้น 50, 125, 250, 375 และ 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทดสอบสถิติด้วย paired t-test

#### การหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection: LOD)

ทดสอบโดยเติมสารมาตรฐานทั้ง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงใน matrix blank วิเคราะห์ 10 ซ้ำ แล้วตรวจสอบค่า signal/noise

#### การหาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation: LOQ)

ทดสอบโดยเติมสารมาตรฐานทั้ง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงใน matrix blank วิเคราะห์ 10 ซ้ำ คำนวณปริมาณเทียบกับสารมาตรฐาน แล้วคำนวณ % recovery และ HORRAT

#### การทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision)

ทดสอบโดยเติมสารมาตรฐานทั้ง 6 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 10, 50, 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ลงใน matrix blank วิเคราะห์ระดับละ 10 ซ้ำ คำนวณปริมาณเทียบกับสารมาตรฐาน แล้วคำนวณ % recovery และ HORRAT

#### การประกันคุณภาพผลการทดสอบ (Assuring the quality of test results)

การเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญโดยการเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ แล้วตรวจสอบค่า Z-score

การประเมินผลการทดสอบความถูกต้องของวิธีตามเกณฑ์ยอมรับ<sup>(20, 21)</sup>

ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (Coefficient of determination:  $R^2$ ) > 0.95, ค่า signal/noise > 3, ค่า % recovery อยู่ในช่วง 60 -120, ค่า HORRAT (Horwitz ratio)  $\leq 2$ ,  $|Z| \leq 2$

ผล

วิธี HPLC-FLD ที่พัฒนาขึ้นสามารถวิเคราะห์ยาตกค้างกลุ่มควิโนโลน 6 ชนิด ให้ค่า retention time (RT) เรียงลำดับจากน้อยไปมาก ดังนี้ oxolinic acid 3.9 นาที, flumequine 7.1 นาที, danofloxacin 8.3 นาที, enrofloxacin 10.2 นาที, sarafloxacin 12.7 นาที และ difloxacin 13.6 นาที โดยวิธีวิเคราะห์นี้มีช่วงของการวัดที่ระดับความเข้มข้นในตัวอย่างเท่ากับ 10-100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม มีความเป็นเส้นตรงที่แสดงด้วยค่า  $R^2$  อยู่ในช่วง 0.952-0.991 และจากการทดสอบ matrix effect ทางสถิติด้วย paired t-test พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงว่าไม่มี matrix effect รบกวน

ตารางที่ 1 การทดสอบช่วงของการวัด (Working range) ความเป็นเส้นตรง (Linearity) และ Matrix effect ของวิธีวิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้น 10-100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

| Quinolone group          | Linearity    |                                                                                                    | Matrix effect                 |                               |
|--------------------------|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                          | $R^2$ (n=15) | t cal (n=5)                                                                                        | $R^2$ external standard (n=5) | $R^2$ standard addition (n=5) |
| danofloxacin mesylate    | 0.971        | 1.36                                                                                               | 0.999                         | 0.978                         |
| difloxacin hydrochloride | 0.965        | 1.51                                                                                               | 0.999                         | 0.985                         |
| enrofloxacin             | 0.952        | 2.49                                                                                               | 0.999                         | 0.984                         |
| flumequine               | 0.991        | 1.29                                                                                               | 0.998                         | 0.997                         |
| oxolinic acid            | 0.957        | 1.03                                                                                               | 0.956                         | 0.992                         |
| sarafloxacin             | 0.967        | 2.10                                                                                               | 0.997                         | 0.993                         |
| เกณฑ์ยอมรับ              | > 0.95       | < $t_{table} (0.05, 4) = 2.78$<br>ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% |                               |                               |

จากการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ พบว่ามีค่าเท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยให้ค่า signal to noise >3 ในทุกชนิดยา ค่าขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณมีค่าเท่ากับ 10 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยมีค่า %recovery อยู่ในช่วง 76.8-95.2% และ HORRAT อยู่ในช่วง 0.3-0.9 การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีความแม่นยำที่ประเมินด้วย %recovery อยู่ในช่วง 65.1-97.8% และความเที่ยงที่ประเมินด้วย HORRAT อยู่ในช่วง 0.3-0.8 (ตารางที่ 2) และการประกันคุณภาพผลการทดสอบ โดยการเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญโดยการเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการรายการทดสอบ Fluoroquinolone group และ Quinolone group ในตัวอย่างกึ่ง ILC 56-06 จัดโดย บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด เมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 พบว่าผลการประเมินอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ โดยมีค่าการประเมิน Z-score (z) อยู่ในช่วง -0.59 ถึง 0.99 (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 2 การทดสอบความแม่นยำ (accuracy) และความเที่ยง (precision) ที่ระดับความเข้มข้น 10 (LOQ), 50 และ 100 นาโนกรัมต่อกรัม ในตัวอย่างเนื้อหมู

| Quinolone group          | Spiked level (µg/kg) | % Recovery (n=10) | HORRAT |
|--------------------------|----------------------|-------------------|--------|
| danofloxacin mesylate    | 10                   | 83.7              | 0.7    |
|                          | 50                   | 73.1              | 0.4    |
|                          | 100                  | 65.9              | 0.5    |
| difloxacin hydrochloride | 10                   | 79.3              | 0.7    |
|                          | 50                   | 77.2              | 0.4    |
|                          | 100                  | 69.7              | 0.5    |
| enrofloxacin             | 10                   | 76.8              | 0.9    |
|                          | 50                   | 70.9              | 0.5    |
|                          | 100                  | 65.1              | 0.6    |
| flumequine               | 10                   | 88.3              | 0.3    |
|                          | 50                   | 80.9              | 0.3    |
|                          | 100                  | 72.8              | 0.3    |
| oxolinic acid            | 10                   | 95.2              | 0.3    |
|                          | 50                   | 97.8              | 0.6    |
|                          | 100                  | 74.8              | 0.8    |
| sarafloxacin             | 10                   | 77.5              | 0.7    |
|                          | 50                   | 74.4              | 0.3    |
|                          | 100                  | 66.7              | 0.6    |
| เกณฑ์ยอมรับ              |                      | 60-120            | < 2    |

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ

| Quinolone group | Assign value (µg/kg) | Analytical results (µg/kg) | Z            |
|-----------------|----------------------|----------------------------|--------------|
| enrofloxacin    | 55.23 ± 2.54         | 66.15, 67.24               | 0.90, 0.99   |
| difloxacin      | 90.69 ± 3.43         | 95.41, 99.70               | 0.24, 0.45   |
| flumiquine      | 134.20 ± 3.52        | 139.46, 134.36             | 0.18, 0.01   |
| oxolinic acid   | 141.38 ± 2.88        | 123.43, 135.34             | -0.59, -0.20 |
| เกณฑ์ยอมรับ     |                      |                            | Z  ≤ 2       |

นอกจากนี้ในปี พ.ศ. 2556 ได้นำวิธีวิเคราะห์ที่ผ่านการทดสอบความถูกต้องแล้วนี้มาใช้ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่จำหน่ายในตลาดเขตกรุงเทพฯ และนนทบุรี จำนวนทั้งสิ้น 60 ตัวอย่าง ได้แก่ เนื้อไก่ เนื้อหมู และเนื้อวัว จำนวน 24, 24 และ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ ผลวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างเนื้อไก่ 1 ตัวอย่าง ตรวจพบ oxolinic acid 29.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และเนื้อไก่อีก 2 ตัวอย่าง ตรวจพบ Enrofloxacin 16.1 และ 16.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นมีการตรวจพบการตกค้างของยาในกลุ่มนี้คิดเป็นร้อยละ 5 ของตัวอย่างทั้งหมด

## วิจารณ์

เนื่องจากยากลุ่มครีโโนโลนจะถูกดูดซับได้โดย ODS reverse phase column ทำให้เกิดหางพีก (peak tailing) ซึ่งคาดว่าเป็นผลจากการตกค้างของ silanol ที่เฟสอยู่กับที่ (stationary phase)<sup>(13)</sup> เพื่อเป็นการลดปัญหาดังกล่าวจึงเลือกใช้ pH endure C-18 column แบบ end capping ส่วนเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) มีหลายงานวิจัยที่ใช้ MeOH หรือ CH<sub>3</sub>CN ผสมกับ buffer ต่างๆ ที่เป็น ionic หรือ acidic เช่น acetic acid, citric acid และ NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ที่ pH 3-4.5<sup>(11, 22, 23)</sup> และเติม SDS ซึ่งเป็น ion-pairing reagent เพื่อเพิ่มความสามารถในการแยกสาร เนื่องจาก enrofloxacin, danofloxacin, difloxacin และ sarafloxacin อยู่ในรูป cation ในภาวะกรดจึงมีขั้วสูง และความมีขั้วจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของ SDS<sup>(12)</sup>

ในการวิเคราะห์ยากลุ่มครีโโนโลนมีการใช้ detector หลายชนิด ได้แก่ UV, fluorescence และ tandem mass เป็นต้น ยากลุ่มนี้เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการเรืองแสง fluorescence ในงานวิจัยนี้จึงปรับการตรวจวัดสัญญาณของแต่ละช่วงเวลากการตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC-FLD ดังนี้ ที่เวลา 0-5 นาที และ 18-20 นาที ใช้ Ex 327/Em 367 nm และที่เวลา 5-18 นาที Ex 295/Em 446 nm ตามงานวิจัยที่ใช้ FLD ในการตรวจวัดสัญญาณ<sup>(15, 22, 24, 25)</sup> ทำให้สามารถแยก peak ของแต่ละตัวยากออกจากกันได้ และ peak ที่ได้มี asymmetric factor อยู่ในช่วงที่กำหนด

ยากลุ่มครีโโนโลนสามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์มีขั้ว เช่น methylene chloride, acetonitrile และ trichloroacetic acid ซึ่งใช้เป็นสารสกัดตัวอย่างในงานวิจัยก่อนหน้านี้<sup>(14)</sup> ในการทดสอบเบื้องต้นจึงใช้ methylene chloride, m-phosphoric: acetonitrile, 75:25 (v/v) และ 1 M hydrochloric acid ในการสกัดตัวอย่างแต่พบว่าทั้ง 3 สารสกัดให้ % recovery ต่ำ จึงปรับมาใช้ 0.3% metaphosphoric acid: acetonitrile, 1:10 (v/v) แทน ให้ผลสอดคล้องกับ Yorke JC. และ Froc P. ที่พบว่าการสกัดตัวอย่างโดยใช้ CH<sub>3</sub>CN และ phosphate buffer ให้ค่า % recovery มากกว่า ethyl acetate หรือ methylene chloride แต่ต้องเพิ่มขั้นตอนการ clean-up เพื่อกำจัด phosphate buffer ด้วย solid phase extraction column นอกจากนี้ pH ยังมีผลต่อการสกัดด้วย เนื่องจากยากลุ่มครีโโนโลนที่มีสูตรโครงสร้างประกอบด้วย piperazinil moiety จะมีค่า pKa<sub>1</sub> ~ 6 และ pKa<sub>2</sub> ~ 9 โดยในภาวะเบส enrofloxacin, danofloxacin, difloxacin และ sarafloxacin จะอยู่ในรูป anion ภาวะกรดอยู่ในรูป cation และภาวะเป็นกลางอยู่ในรูป zwitterion จึงละลายได้น้อยในตัวทำละลายมีขั้ว<sup>(3)</sup> ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ภาวะกรดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด และอยู่ในสภาพที่สอดคล้องกับเฟสเคลื่อนที่

โดยทั่วไป hexane จะถูกใช้ในการจัดไขมันและสารไม่บริสุทธิ์ที่ละลายได้ในไขมันที่อยู่ในตัวอย่างที่สกัดได้ด้วยเทคนิค liquid-liquid extraction แต่มีบางงานวิจัยเลือกใช้เทคนิค SPE แทน โดยเติม hexane ลงใน isolate ENV + cartridges ก่อนจะชะครีโโนโลนออก ซึ่งให้ค่า %recovery ดีกว่า<sup>(24)</sup> แต่เนื่องจาก cartridges ชนิดดังกล่าวไม่มีตัวแทนจำหน่ายในประเทศไทย และเทคนิค liquid-liquid extraction เป็นที่นิยมมากกว่า คณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้เทคนิคนี้ในการพัฒนาวิธี ซึ่งขั้นตอนต่อไปจะทำการปรับปรุงวิธีมาใช้ SPE แทน เพื่อลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ และเพิ่มความสะดวกรวดเร็วในการวิเคราะห์ให้มากขึ้น

การทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิค SPE เป็นที่นิยมในงานวิเคราะห์ยาตกค้างในเนื้อสัตว์ เช่น ในงานวิเคราะห์ยากลุ่มครีโโนโลน มีการเปรียบเทียบการใช้ SPE ระหว่าง sulfonic cation exchange, Bond elute certify, SDB-RPS Sep-pack cartridges และ MPC-SD disk cartridges พบว่า Bond elute certify มีประสิทธิภาพการสกัดดีที่สุด<sup>(16)</sup> และการเปรียบเทียบ Bond Elute (200, 500 mg), Sep Pak (360 mg) และ J.T. Baker (500 mg) แสดงให้เห็นว่าความจุค้าง (retention capability) ของครีโโนโลนไม่ได้ขึ้นกับปริมาณ sorbent เพียงอย่างเดียว แต่มีปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น รูปร่างอนุภาค ขนาดรูพรุน ปริมาณคาร์บอน และ end capping<sup>(25)</sup> แต่จากการทดสอบเบื้องต้น พบว่า HLB ดีกว่า Bond Elute เพราะมีคุณสมบัติ hydrophilic-lipophilic balanced จึงเพิ่มการคงค้างของสารมีขั้ว มีความสามารถเป็น water-wettable ทำให้มีประสิทธิภาพคงเดิมแม้ว่า sorbent แห่งระหว่างขั้นตอน conditioning หรือ loading และไม่มีปฏิกิริยากับ silanol

ในการประกันคุณภาพผลการทดสอบ ห้องปฏิบัติการมีขั้นตอนการดำเนินงานในการควบคุมคุณภาพเพื่อเฝ้าระวังความใช้ได้ของการทดสอบ โดยเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ โดยการเปรียบเทียบผลทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ เมื่อเดือนเมษายน พ.ศ. 2556 พบว่า ผลการประเมินอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ตามหลักสถิติ แสดงว่าวิธีนี้มีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ยาในกลุ่มควิโนโลนในเนื้อสัตว์ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของห้องปฏิบัติการอื่นๆ และมีการควบคุมคุณภาพภายในด้วยการวิเคราะห์ method blank, matrix blank, duplicate sample และ spiked sample ทุก 10% ของตัวอย่าง พบว่าผลวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับ

จากผลการสำรวจตรวจพบ oxolinic acid 29.5 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม enrofloxacin 16.1 และ 16.9 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัมในเนื้อไก่ ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 303 ไม่ได้กำหนดมาตรฐานการตรวจพบยาตกค้างในเนื้อสัตว์สูงสุดของยา 2 ชนิดนี้ แต่ทั้ง 3 ตัวอย่างผ่านเกณฑ์มาตรฐานของสหภาพยุโรปและสาธารณรัฐประชาชนจีนที่กำหนดค่า MRL ของ oxolinic acid และ enrofloxacin ในกล้ามเนื้อไก่อยู่ที่ 100 นาโนกรัมต่อกิโลกรัม<sup>(26, 27)</sup> อย่างไรก็ตาม ภาครัฐควรมีการเฝ้าระวังยาตกค้างในเนื้อสัตว์อย่างต่อเนื่องจากผลกระทบในระดับโลกเกี่ยวกับปัญหาเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะ เนื่องจากยาส่วนใหญ่ที่ใช้ในการรักษา ป้องกันโรค และเร่งการเจริญเติบโตในสัตว์ เป็นยาในกลุ่มเดียวกับที่ใช้ในคน เช่น ยาในกลุ่มฟลูออโรควิโนโลน หรือเป็นชนิดที่ไม่ใช้ในคนแต่อยู่ในกลุ่มยาเดียวกับที่ใช้ในคน เช่น enrofloxacin ดังนั้นหากมีการใช้ยาอย่างไม่ถูกต้องในสัตว์จะเพิ่มโอกาสที่เชื้อจะดื้อยามากขึ้น ตลอดจนเกิดการพัฒนาเชื้อดื้อยาแบบข้ามกลุ่ม (cross resistance) จนอาจทำให้เกิดการดื้อยาที่ใช้รักษาโรคในคนได้<sup>(28)</sup> ยา enrofloxacin เป็นยาที่ถูกดูดซึมได้ดีหลังจากผสมให้สัตว์กิน สามารถละลายได้ดีในไขมันของร่างกาย เคลื่อนตัวผ่านชั้น lipoprotein ของ cell membranes ได้ง่ายและรวดเร็ว จากนั้นตัวยาก็จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดและแพร่กระจายไปยังเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ<sup>(29)</sup> โดยในประเทศไทยใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ เช่น โรคหวัดเรื้อรังในไก่ และโรคติดเชื้อ *E. coli* ทำให้อาจพบการตกค้างในเนื้อสัตว์ได้ ส่งผลให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน มีอาการเกี่ยวกับระบบประสาท มีความไวต่อแสงผิดปกติ และคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญด้านวัตถุเจือปนอาหารขององค์การอนามัยโลก และองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ กำหนดค่าความปลอดภัยที่ยอมรับได้จากการบริโภคอาหารที่ปนเปื้อน enrofloxacin 0.002 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว<sup>(30)</sup> ในขณะที่องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาได้ประกาศถอนการใช้ยา enrofloxacin ในสัตว์ปีก เนื่องจากเป็นสาเหตุของการดื้อยาของเชื้อ campylobacter ในมนุษย์<sup>(31)</sup> ส่วน oxolinic acid เป็นยาที่ใช้ต้านแบคทีเรียชนิดแกรมลบ และ *Staphylococcus aureus* สามารถแพร่กระจายในเนื้อเยื่อปลาได้ดีกว่ายา oxytetracycline มีผลข้างเคียงในคนอย่างมากต่อระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้คลื่นไส้ อาเจียน ท้องร่วง และปวดท้อง โดยสารนี้จะถูกดูดซึมได้น้อยแต่รวดเร็วในระบบทางเดินอาหาร ถูกขับออกได้ทางปัสสาวะและน้ำนม<sup>(29)</sup>

## สรุป

วิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ยาในกลุ่มควิโนโลนได้ 6 ชนิด ได้แก่ oxolinic acid, flumequine, danofloxacin, enrofloxacin, sarafloxacin และ difloxacin เป็นวิธีที่มีสมรรถนะผ่านเกณฑ์การยอมรับของการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว มีความถูกต้อง แม่นยำ เหมาะกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ และมีการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ ตามระบบคุณภาพของ ISO/IEC 17025:2005 จึงสามารถนำวิธีนี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคได้

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางกนกพร อธิสุข นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญด้านมาตรฐานของอาหาร ที่ให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะ และตรวจทานต้นฉบับ ตลอดจนสนับสนุนการศึกษาวิจัยจนบรรลุผลสำเร็จในครั้งนี้

## เอกสารอ้างอิง

1. Shen JZ, Xie LJ. Veterinary pharmacology. Beijing, China: China Agricultural University Press; 2000. p. 162-167.
2. Martin AR. Quinolones. In: Gisvold O, Delgado JN, Remers WA, editors. Wilson and Gisvold's textbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 10th ed. New York: Lippincott-Raven; 1998. p.196-202.
3. Yorke JC, Froc P. Quantitation of nine quinolones in chicken tissues by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. J Chromatogr A 2000; 882: 63-77.
4. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสินค้าเกษตร : ข้อปฏิบัติการควบคุมการใช้ยาสัตว์ ตามพระราชบัญญัติมาตรฐานสินค้าเกษตร พ.ศ. 2551. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 126 ตอนพิเศษ 187 ง. (ลงวันที่ 28 ธันวาคม 2552).
5. ประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ เรื่อง กำหนดชื่อ ประเภท ชนิด ลักษณะ คุณสมบัติ และส่วนประกอบของวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์ที่ห้ามใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารสัตว์ พ.ศ. 2556. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 189 ง. (ลงวันที่ 25 ธันวาคม 2556).
6. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 2275 (พ.ศ. 2540) ออกตามความในพระราชบัญญัติมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม พ.ศ. 2511 เรื่อง กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ข้อกำหนดการควบคุมการใช้ยาสำหรับสัตว์. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 114 ตอนที่ 76 ง. (ลงวันที่ 23 กันยายน 2540).
7. Juhel-Gaugain M, Abjean JP. Screening of quinolone residues in pig muscle by planar chromatography. J Chromatographia 1998; 47: 101-4.
8. National Antimicrobial Resistance Surveillance Center of Thailand (NARST). [online]. 2013; [cited 2014 Feb 20]. Available from: URL: <http://narst.dmsc.moph.go.th/ars/box/anti2013.pdf>.
9. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance [online]. 2014; [cited 2015 Jul 07]. Available from: URL: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf).
10. ธงชัย เฉลิมชัยกิจ, มณฑล เลิศวรปรีชา และจิโรจ ศศิประยจันทร์. รูปแบบการต่อต้านยาต้านจุลชีพของเชื้อซัลโมเนลลาในไก่บ้านและไก่ฟาร์ม. ว สัตวแพทยสาร 2548; 56(1): 33-44.
11. Rao RN, Nagaraju V. Separation and determination of synthetic impurities of difloxacin by reversed-phase high-performance liquid chromatography. J Pharm Biomed Anal 2004; 36(4): 729-35.
12. Naeem M, Khan K, Rafiq S. Determination of residues of quinolones in poultry products by high pressure liquid chromatography. J Appl Sci 2006; 6(2): 373-9.
13. Stoilova N, Petkova M. Developing and validation of method for detection of quinolone residues in poultry meat. Trakia J Sci 2010; 8(1): 64-9.
14. Zhao S, Jiang H, Li X, Mi T, Li C, Shen J. Simultaneous determination of trace levels of 10 quinolones in swine, chicken and shrimp muscle tissues using HPLC with programmable fluorescence detection. J Agric Food Chem 2007; 55(10): 3829-34.
15. Zhao SJ, Jiang HY, Ding SY, Li XL, Wang GQ, Li C, et al. A reliable LC method with fluorescence detection for quantification of (fluoro)quinolone residues in chicken muscle. J Chromatographia 2007; 65(9): 539-44.

16. van Vyncht G, Janosi A, Bordin G, Toussaint B, Maghuin-Rogister G, De Pauw E, et al. Multiresidue determination of (fluoro) quinolone antibiotics in swine kidney using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2002; 952: 121-9.
17. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 303 (พ.ศ. 2550) เรื่อง อาหารที่มียาสัตว์ตกค้าง. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 124 ตอนพิเศษ 108 ง. (ลงวันที่ 4 กันยายน 2550).
18. ประกาศกรมปศุสัตว์ เรื่อง กำหนดมาตรฐานสารตกค้างสำหรับสินค้าปศุสัตว์. (ลงวันที่ 12 กรกฎาคม 2549).
19. Barbosa J, Barron D, Hermo MP, Navalón A, Ballesteros O. Determination and characterization of quinolones in foodstuffs of animal origin by CE-UV, LC-UV, LC-FL, LC-MS and LC-MS/MS. *Ovid Univ Ann Chem* 2009; 20(2): 165-79.
20. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2549.
21. ISO 13528:2015 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Geneva: International Organization for Standardization; 2015.
22. Hassouan MK, Ballesteros O, Taoufik J, Vilchez JL, Cabrera-Aguilera M, Navalón A. Multiresidue determination of quinolone antibacterials in eggs of laying hens by liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B* 2007; 852: 625-30.
23. Wright DH, Herman VK, Konstantinides FN, Rotchafer JC. Determination of quinolone antibiotics in growth media by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B* 1998; 709: 97-104.
24. Hassouan MK, Ballesteros O, Zafra A, Vilchez JL, Navalón A. Multiresidue method for simultaneous determination of quinolone antibacterials in pig kidney samples by liquid chromatography with fluorescence detection. *J Chromatogr B* 2007; 859(2): 282-8.
25. Su S, Chang M, Chang C, Chang P, Chou S. Simultaneous determination of quinolones in livestock and marine products by high performance liquid chromatography. *J Food Drug Anal* 2003; 11(2): 114-27.
26. Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009 on pharmacologically active substances and their classification regarding maximum residue limits in foodstuffs of animal origin. *Off J Eur Union* 2010; L15: 1-72.
27. Veterinary drug maximum residue limits in the food of animal origin. *Bulletin of Ministry of Agriculture of the People's Republic of China* 2002; 235: 12.
28. ไจพร พุ่มคำ. อาหาร (ไม่)ปลอดภัย ผลจากการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์. *ว อาหารและยา* 2555; 19(3): 8-11.
29. กรมประมง. ยาด้านจุลชีพ [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 7 ก.ค. 2558]; [12 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.fisheries.go.th/quality/ยาด้านจุลชีพ.pdf>.
30. สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. สารปฏิชีวนะตกค้าง: เอนโรฟลอกซาซิน (Enrofloxacin) [ออนไลน์]. [สืบค้น 7 ก.ค. 2558]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/enrofloxacin\\_2.pdf](http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/enrofloxacin_2.pdf).
31. USFDA. Withdrawal of enrofloxacin for poultry [online]. 2005; [cited 2015 Jul 07]. Available from: URL <http://www.fda.gov/AnimalVeterinary/SafetyHealth/RecallsWithdrawals/ucm042004.htm>.

# Development and Validation of Analysis Method for Determination of Quinolone Drug Residues in Meat by HPLC-FLD

**Jirapa Unahalekhaka and Ladda Kaewklapanyacharoen**

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

**ABSTRACT** Quinolone antibacterials are employed and allowed for treatment of infectious diseases in food-producing animals. Drug residues in edible tissues are resulted from improperly using. High levels of residues in food could cause side effects and drug resistances in human. Method for determination of 6 quinolones such as danofloxacin, difloxacin, enrofloxacin, sarafloxacin, flumiquine and oxolinic acid by HPLC-FLD technique was developed and validated. These analytes were extracted with 0.3% metaphosphoric acid and acetonitrile at ratio 1:10 v/v, fat was removed by liquid-liquid extraction technique with hexane saturated with acetonitrile and then cleaned up by solid phase extraction with HLB C-18 cartridges. Afterwards, qualitative and quantitative analysis of these compounds was conducted by HPLC-FLD. As a result of method validation, limit of detection (LOD) and limit of quantitation (LOQ) were 5 and 10 µg/kg respectively. The linearity of working range was 10-100 µg/kg with coefficient of determination ( $R^2$ ) more than 0.95. The accuracy expressed as mean of %recovery and the precision as HORRAT at concentration level 10, 50 and 100 µg/kg were 65.1-97.8% and 0.3-0.9 respectively. The matrix effect was tested by paired t-test and found that there was non-significant difference at level of confidence 95% ( $\mu = 0.05$ ). Participation in proficiency testing program by interlaboratory comparison showed that  $|Z|$  less than 2. The characteristics of this method were fit for intended use in testing laboratory for requirement of the notification of Ministry of Public Health (Vol.303) B.E.2550. Moreover, the survey of quinolone drug residues in 60 samples of chicken, pork and beef from 11 markets in Bangkok and Nonthaburi province was performed. It showed that 1 chicken sample was found oxolinic acid 29.59 µg/kg, and 2 samples were found enrofloxacin 16.1 and 16.9 µg/kg.

**Key words:** Quinolone, HPLC-FLD, edible animal tissues

# ข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของโกฐน้ำเต้า

กันยารัตน์ ชลสิทธิ์ สรินยา จุลศรีไกรวัล และศุภกร จันทร์จอม  
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่, กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอมือง เชียงใหม่ 50180

**บทคัดย่อ** โกฐน้ำเต้า เป็นเหง้าและรากแห้งของพืชชนิดใดชนิดหนึ่งใน 3 ชนิด ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rheum officinal* Baill., *R.palmatum* L. และ *R.tanguticum* (Maxim.Ex Regel) Maxim.ex Balf. ในวงศ์ Polygonaceae หรือเหง้าและรากแห้งของพืช 2 หรือ 3 ชนิดข้างต้นปนกัน ตำราสรรพคุณยาไทย ระบุโกฐน้ำเต้ามีสรรพคุณเป็นยาระบายชนิด “รู้เปิดรู้ปิด” และมีฤทธิ์ฝาดสมาน แต่ยังไม่มีการกำหนดในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2556 คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินโครงการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโกฐน้ำเต้า โดยเก็บตัวอย่างจากสาธารณสุขประชาชนจีนและร้านขายยาสมุนไพรในประเทศไทย จำนวน 19 ตัวอย่าง พบว่า โกฐน้ำเต้ามีองค์ประกอบทางเคมีเป็นสารกลุ่ม anthraquinones และ tannins เมื่อตรวจสอบโดยใช้วิธี thin-layer chromatography พบสารสำคัญอย่างน้อย 3 ชนิด คือ chrysophanol, emodin และ rhein ผลการศึกษาคุณภาพของตัวอย่างดังกล่าว พบว่า ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอล ความชื้น เถ้ารวม เถ้าที่ไม่ละลายในกรด และ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein คิดเป็นร้อยละ  $31.71 \pm 4.06$ ,  $21.85 \pm 7.50$ ,  $8.18 \pm 1.13$ ,  $11.85 \pm 4.35$ ,  $0.76 \pm 0.38$  และ  $1.66 \pm 1.07$  ตามลำดับ นำผลที่ได้มาจัดทำข้อกำหนดคุณภาพทางเคมีของโกฐน้ำเต้าได้ดังนี้ ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ไม่น้อยกว่าร้อยละ 27, 14 และ 0.6 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกินร้อยละ 10, 16 และ 1 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพ และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของโกฐน้ำเต้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยต่อไป

## บทนำ

โถงน้ำเต้าเป็นเหง้าและรากแห้งของพืชชนิดใดชนิดหนึ่งใน 3 ชนิด ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rheum officinale* Baill., *R. palmatum* L. และ *R. tanguticum* (Maxim. Ex Regel) Maxim.ex Balf. ในวงศ์ Polygonaceae หรือ เหง้าและรากแห้งของพืช 2 หรือ 3 ชนิดข้างต้นปนกัน เป็นพืชล้มลุกอายุหลายปีสูง 1.5- 2 เมตร ราก เหง้า และลำต้น อ้วนสั้น ลำต้นกลวง เปลือกเป็นร่องตามยาว มีขนสีขาว ใบเป็นใบเดี่ยว เรียงเวียน ใบรูปค่อนข้างกลม หรือรูปไข่ ขอบหยักเป็นแฉกแบบนิ้วมือ ช่อดอกแบบช่อแยกแขนง ดอกสีเขียวถึงสีขาวอมเหลือง หรือสีแดงอมม่วง หรือสีแดงอ่อน<sup>(1, 8)</sup> (ภาพที่ 1) เครื่องยาโถงน้ำเต้ามีชื่อละตินว่า Radix et Rhizoma Rhei ชื่อจีนกลางว่า ต้าหวง (Dahuang 大黄) ชื่อจีนแต้จิ๋วว่า ตั่วอึ้ง และชื่อสามัญว่า Rhubarb<sup>(1, 4)</sup> มีลักษณะเป็นก้อนรูปกึ่งทรงกระบอก รูปกรวย รูปไข่ หรือเป็นชิ้นที่มีรูปร่างไม่แน่นอน ยาว 3-10 เซนติเมตร ผิวนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง หรือสีน้ำตาลแกมแดง (ภาพที่ 2) มีกลิ่นเฉพาะ รสขม ฝาดเล็กน้อย<sup>(1, 3, 4)</sup>



*R. officinale* Baill.



*R. palmatum* L.



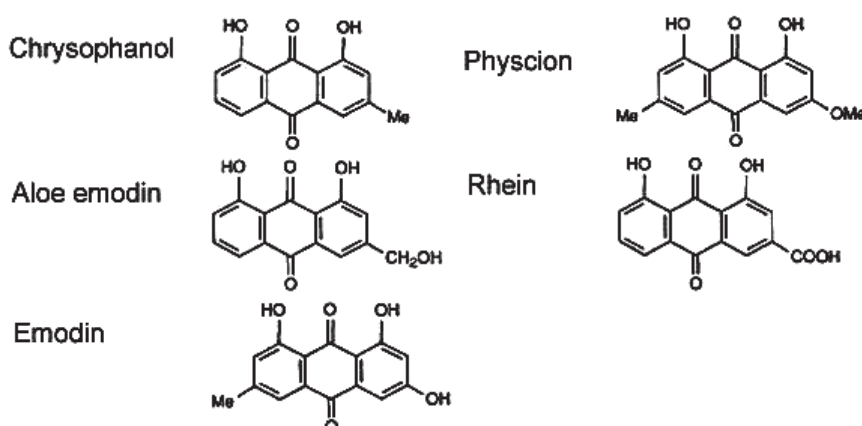
*R. tanguticum* (Maxim. ex Regel) Maxim.ex Balf.

ภาพที่ 1 ต้นโถงน้ำเต้าทั้ง 3 ชนิด<sup>(6-8)</sup>



ภาพที่ 2 โถงน้ำเต้าที่เป็นเครื่องยา

องค์ประกอบทางเคมีของโถงน้ำเต้ามีสารสำคัญกลุ่ม anthraquinones ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสาร hydroxyanthracene แบ่งเป็น 3 กลุ่มย่อย คือ กลุ่มย่อย free anthraquinones เช่น chrysophanol, emodin, rhein, alo-emodin, physcion กลุ่มย่อย anthraquinone glycosides เช่น rheinoside A-D, chrysophanein, glucoemodin, palmatin และกลุ่มย่อย bianthrone เช่น sennoside A-F, rheidin A-C นอกจากนั้นในโถงน้ำเต้ายังมีสารกลุ่ม tannins ด้วย<sup>(3, 4, 9, 10)</sup>



ภาพที่ 3 ตัวอย่างสูตรโครงสร้างสารสำคัญที่พบมากในสมุนไพรโกฐน้ำเต้า

จากข้อมูลการศึกษาวิจัยพรีคลินิกพบว่า สารสำคัญในโกฐน้ำเต้า โดยเฉพาะ sennosides A-F และ rheinosides A-D ออกฤทธิ์กระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ใหญ่ ช่วยเร่งการขับกากอาหาร และเพิ่มการซึมผ่านของของเหลวผ่านเยื่อเมือกลำไส้ใหญ่ ทำให้มีปริมาณน้ำในลำไส้ใหญ่มากขึ้น จึงแสดงฤทธิ์เป็นยาถ่าย<sup>(11, 12)</sup> โดยมีฤทธิ์ฝาดสมานร่วมด้วยอันเนื่องมาจากฤทธิ์ของ tannins<sup>(9)</sup> ซึ่งสอดคล้องกับตำราสรรพคุณยาไทยว่าโกฐน้ำเต้ามีสรรพคุณขับลมลงสู่คูทวาร ทำให้อุจจาระปัสสาวะเดินสะดวก เป็นยาระบายชนิด “รู้เปิดรู้ปิด”<sup>(3, 4)</sup>

ในประเทศไทย โกฐน้ำเต้าถูกใช้ในตำราแพทย์แผนไทยหลายตำรับด้วยกัน โดยถูกจัดอยู่ใน “พิภดโกฐพิเศษ” ซึ่งประกอบไปด้วยโกฐ 3 ชนิด ร่วมกับโกฐกะลั่นและโกฐกักรา<sup>(3, 4)</sup> ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณ พ.ศ. 2556 มีการนำโกฐน้ำเต้ามาใช้เป็นตัวยาดตรงในกลุ่มยาถ่ายหรือยาระบาย และเป็นตัวยาช่วยในอีกหลายตำรับ เช่น ยาตรีหอม ยาหอมอินทจักร ยาธรณีสันตะฆาต เป็นต้น<sup>(13)</sup> แต่ยังไม่มียาที่กำหนดมาตรฐานของโกฐน้ำเต้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) คณะผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโกฐน้ำเต้า ภายใต้โครงการวิจัยการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่นเพื่อประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพ และใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของโกฐน้ำเต้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย

## วัสดุและวิธีการ

### ตัวอย่างสมุนไพร

โกฐน้ำเต้าที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 19 ตัวอย่าง เก็บจากแหล่งธรรมชาติและแหล่งปลูกในหลายมณฑลของสาธารณรัฐประชาชนจีน และซื้อจากร้านขายยาสมุนไพรในภาคกลางของประเทศไทย ในช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 ผ่านการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเภสัชเวทเปรียบเทียบกับตัวอย่างจริง (authentic) ว่าเป็นโกฐน้ำเต้า ซึ่งครอบคลุมพืชที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ 3 ชนิด คือ *Rheum officinal* Baill. หรือ *R. palmatum* L. หรือ *R. tanguticum* (Maxim. Ex Regel) Maxim.ex Balf. นำตัวอย่างที่ได้มาอบที่อุณหภูมิไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง บดให้ละเอียด และร่อนผ่านร่อนขนาด 80 Mesh

### เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ AND รุ่น HM-200
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 5 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น XP205

- ตู้บรอน ยี่ห้อ Shellab รุ่น 1350 FX
- เตาเผาอุณหภูมิสูง ยี่ห้อ Thermolyne รุ่น 6000
- เตาไฟฟ้า ยี่ห้อ LMS รุ่น HTS-1003
- เตาบุนวม ยี่ห้อ Isopad TM รุ่น LG 2/ER
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิยี่ห้อ Memmert รุ่น W760
- เครื่องเขย่า ยี่ห้อ IKA®-WERKE รุ่น HS 501 digital
- เครื่องระเหยสุญญากาศยี่ห้อ Buchi ประกอบด้วยอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ รุ่น B-490, เครื่อง Rotavapor รุ่น R-205, เครื่อง Aspirator รุ่น V-500 และเครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน รุ่น B-740
- เครื่องทำน้ำเย็นหมุนเวียน ยี่ห้อ Thermo NESLAB รุ่น RTE 170
- เครื่องหยดตัวอย่างอัตโนมัติ ยี่ห้อ CAMAG รุ่น Automatic TLC sampler III
- เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบความเร็วสูง ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 32
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ยี่ห้อ Agilent รุ่น 8453
- ตู้แสง UV ยี่ห้อ Chromato-VUE รุ่น C-70G
- แผ่นอะลูมิเนียมเคลือบซิลิกาเจล (Silica Gel 60 F<sub>254</sub>) ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร ความหนา 0.25 มิลลิเมตร ของบริษัท Merck

#### สารมาตรฐานและสารเคมี

- Rhein ความบริสุทธิ์ร้อยละ 92.7 ของบริษัท Chroma Dex (ใช้สำหรับการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมี ด้วยวิธี thin-layer chromatography)
- Rhein ความบริสุทธิ์ร้อยละ 97.4 ของบริษัท Aldrich (ใช้สำหรับการตรวจสอบความใช้ได้ของ วิธีทดสอบ)
- Emodin ความบริสุทธิ์ร้อยละ 96.1 ของบริษัท SIGMA
- Chrysophanol ความบริสุทธิ์ร้อยละ 99.5 ของบริษัท Fluka

สารเคมีอื่น ๆ ใช้ชนิดสำหรับการวิเคราะห์ เป็น analytical grade ได้แก่ ethanol, methanol, potassium hydroxide, hydrogen peroxide, glacial acetic acid, hydrochloric acid, diethyl ether, petroleum ether, anhydrous formic acid, anhydrous sodium sulfate, ferric chloride, magnesium acetate, benzene, sodium hydrogen carbonate

#### วิธีการทดสอบ

##### 1. การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี<sup>(14)</sup>

(1) Modified Borntrager Test: ชั่งตัวอย่าง 0.2 กรัม บรรจุในขวดแก้วกันกลม เติมน้ำ 0.5 Npotassium hydroxide 15 มิลลิลิตร และ 3% hydrogen peroxide 1 มิลลิลิตร นำไปต้มบนหม้ออังไอน้ำเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็น กรอง ทำให้เป็นกรดด้วย glacial acetic acid (ทดสอบด้วยกระดาษลิตมัส) ถ่ายสารละลายที่เป็นกรดลงในกรวยแยก สกัดด้วย benzene ประมาณ 10 มิลลิลิตร ถ่ายชั้น benzene ลงในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตร เติมน้ำ ammonia TS 5 มิลลิลิตร เขย่าเบา ๆ สังเกตผลที่เกิดขึ้น

(2) Iron (III) Chloride Test: ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม บรรจุในขวดแก้วกันกลม เติมน้ำ 30 มิลลิลิตร ต้มบนอ่างน้ำร้อน reflux ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้ 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมน้ำ Ferric chloride 1% 2-3 หยด สังเกตผลที่เกิดขึ้น

## 2. การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี **thin-layer chromatography (TLC)**<sup>(15-16)</sup>

(1) การเตรียมสภาวะของระบบ TLC ที่ใช้ในการแยกสาร

ผสม petroleum ether: ethyl acetate: anhydrous formic acid ในอัตราส่วน 75:25:1 ใส่ในถัง TLC เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง ก่อนใช้เพื่อให้บรรยากาศในถังอิ่มตัวด้วยน้ำยาแยก

(2) การเตรียม spraying reagent: 10% potassium hydroxide ละลาย potassium hydroxide 10 กรัม ใน methanol 100 มิลลิลิตร

(3) การเตรียมสารละลายมาตรฐาน แยกละลายสารมาตรฐาน chrysophanol, emodin และ rhein ชนิดละ 5 มิลลิกรัม ใน diethyl ether 5 มิลลิลิตร

(4) การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 0.100 กรัม บรรจุในขวดแก้วกันกลม เติมน้ำ 30 มิลลิลิตร และ hydrochloric acid 1 มิลลิลิตร reflux นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาสกัดด้วย diethyl ether 25 มิลลิลิตร นำชั้นของ diethyl ether มากรองผ่าน anhydrous sodium sulfate และระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ละลายสารสกัดที่ได้จากการระเหยด้วย diethyl ether 0.5 มิลลิลิตร

(5) การทดสอบ แยกหยดสารละลายตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร และสารละลายมาตรฐาน chrysophanol 10 ไมโครลิตร emodin 5 ไมโครลิตร และ rhein 30 ไมโครลิตร ให้เป็นแถบกว้าง 0.7 เซนติเมตร บนแผ่น TLC ในแนวระดับเดียวกัน ให้ห่างจากขอบล่างประมาณ 2 เซนติเมตร และให้มีระยะระหว่างหยดของสารละลายแต่ละชนิด ไม่น้อยกว่า 1 เซนติเมตร ผึ่งให้แห้ง นำไปใส่ในถัง TLC ที่เตรียมไว้ จนน้ำยาเคลื่อนถึงขีดที่กำหนด นำแผ่น TLC ออกมาผึ่งไว้จนแห้ง แล้วนำไปตรวจสอบโดยการส่องภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 254 และ 366 นาโนเมตร และการพ่นด้วย 10% potassium hydroxide

## 3. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ

การหาปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (water soluble extractive) สารสกัดด้วยเอทานอล (ethanol soluble extractive) ความชื้น (moisture) เถ้ารวม (total ash) และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (acid-insoluble ash) ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย<sup>(17, 18)</sup>

## 4. การหาปริมาณสารสำคัญ

การหาปริมาณ hydroxyanthracene derivatives ทำตามวิธีที่กำหนดใน monograph ของ British Pharmacopoeia<sup>(15)</sup> ในหัวข้อการหาปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ซึ่งผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (method verification) ในหัวข้อความเที่ยง (precision) ความเป็นเส้นตรง (linearity)<sup>(19, 20)</sup>

วิธีการทดสอบ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่าง 100 มิลลิกรัม ใส่ลงในขวดแก้วกันกลมขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 30.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นสกัดโดยวิธี reflux บนอ่างอังไอน้ำนาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเติม sodium hydrogen carbonate จำนวน 50 มิลลิกรัม ชั่งน้ำหนักอีกครั้ง ปรับน้ำหนักให้เท่ากับน้ำหนักที่ได้จากการชั่งครั้งแรกโดยการเติมน้ำ ปั่นแยกส่วนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายใสขึ้นบนเหนือตะกอนจำนวน 10.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดแก้วกันกลมขนาด 100 มิลลิลิตร เติมน้ำ 10.5% ferric chloride จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน reflux ในอ่างอังไอน้ำเป็นเวลา 20 นาที ได้สารละลายมีลักษณะขุ่น เติมน้ำ hydrochloric acid จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไป reflux ในอ่างอังไอน้ำต่ออีก 20 นาที โดยเขย่าขวดเป็นระยะๆ จนตะกอนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นถึงอุณหภูมิห้อง นำสารละลายในขวดแก้วทั้งหมดถ่ายลงในกรวยแยกขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วสกัดด้วย ether จำนวน 25 มิลลิลิตร

3 ครั้ง ล้างด้วยน้ำ 15 มิลลิลิตร 2 ครั้ง กรองชั้น ether ผ่านสำลีใส่ลงในขวดปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย ether นำสารละลาย ether ดังกล่าวจำนวน 10.0 มิลลิลิตร มาระเหยแห้งบนอ่างน้ำร้อน ละลายส่วนที่เหลือจากการระเหยด้วย 10.0 มิลลิลิตร ของ 0.5% magnesium acetate ใน methanol แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยใช้ methanol เป็นสารละลายเปรียบเทียบ (blank)

การคำนวณ

ค่าร้อยละของปริมาณ hydroxyanthracene derivatives ซึ่งคำนวณเป็น rhein จากน้ำหนักตัวอย่างที่ปราศจากความชื้น คำนวณได้จากสูตร

$$A \times 0.64/m$$

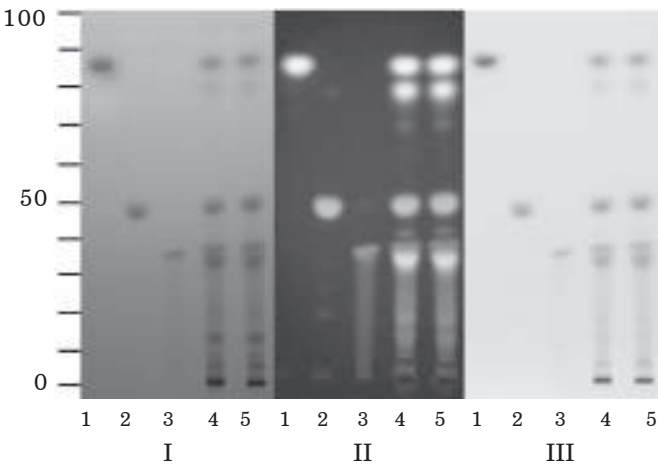
เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงอัลตราไวโอเล็ตที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร  
m = น้ำหนักผงสมุนไพรที่ปราศจากความชื้น หน่วยเป็นกรัม

ผล

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสีของโกลูโน้เต้า จำนวน 19 ตัวอย่าง พบว่า ทุกตัวอย่างให้ผลบวกกับ Modified Borntrager Test และ Ferric chloride Test (ตารางที่ 1) เมื่อพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธี thin-layer chromatography พบว่า โกลูโน้เต้าทุกตัวอย่างมีแถบหลัก 3 แถบ ที่มีสีและตำแหน่ง ตรงกับสารมาตรฐาน 3 ชนิด คือ chrysophanol, emodin และ rhein ที่  $R_f$  34-38, 43-49 และ 80-86 ตามลำดับ และอาจมีองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ อีกประมาณ 5 - 7 ชนิด (ภาพที่ 4 และตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยปฏิกิริยาการเกิดสี

| วิธีทดสอบ                                                                   | ผลการทดสอบ                |
|-----------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Modified Borntrager Test<br>(ตรวจสอบสารประเภท Anthraquinones)               | (+) ได้สีแดงในชั้นของต่าง |
| Iron (III) Chloride Test<br>(ตรวจสอบสารประเภท Phenolic compounds & Tannins) | (+) ได้สารละลายสีเขียว    |



- 1 = สารมาตรฐาน Chrysophanol
- 2 = สารมาตรฐาน Emodin
- 3 = สารมาตรฐาน Rhein
- 4-5 = ตัวอย่างโกลูโน้เต้า
- I = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร
- II = ตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต ที่ความยาวคลื่น 366 นาโนเมตร
- III = ตรวจสอบด้วยน้ำยาฟ่น 10% potassium hydroxide ใน methanol

ภาพที่ 4 โครมาโทแกรมชนิดผิบบางของโกลูโน้เต้า

ตารางที่ 2 ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วยวิธีโครมาโทกราฟีผิวบาง

| แถบสาร | ค่า $hR_f$ | การตรวจสอบ |                   |                 |
|--------|------------|------------|-------------------|-----------------|
|        |            | UV254 nm   | UV366 nm.         | พ่นด้วย 10% KOH |
| 1      | 6-9        | เข้ม       | ม่วง (เรืองแสง)   | น้ำตาล          |
| 2      | 9-14       | จาง        | ฟ้า (เรืองแสง)    | -               |
| 3      | 30-34      | เข้ม       | -                 | -               |
| 4      | 30-34      | เข้ม       | เหลือง (เรืองแสง) | แดง             |
| 5*     | 34-38      | เข้ม       | เหลือง (เรืองแสง) | แดง             |
| 6      | 39-40      | -          | เทา (เรืองแสง)    | -               |
| 7**    | 43-49      | เข้ม       | เหลือง (เรืองแสง) | แดง             |
| 8      | 65-68      | -          | ฟ้า (เรืองแสง)    | -               |
| 9      | 74-79      | จาง        | เหลือง (เรืองแสง) | แดง             |
| 10***  | 80-86      | เข้ม       | เหลือง (เรืองแสง) | ม่วง            |

\* rhein    \*\*emodin    \*\*\*chrysophanol

จากการตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ รวมทั้งการหาปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ของโกลูน่าเต้า จำนวน 19 ตัวอย่าง ได้ผลการทดสอบ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโกลูน่าเต้า

| ตัวอย่าง         | ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ<br>(% w/w) | ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล<br>(% w/w) | ปริมาณความชื้น<br>(% w/w) | ปริมาณเถ้ารวม<br>(% w/w) | ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด<br>(% w/w) | ปริมาณ hydroxyanthracene derivatives<br>คำนวณเป็น rhein<br>(% w/w) |
|------------------|---------------------------------|-------------------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| PMA 01           | 32.88                           | 11.57                               | 9.03                      | 5.33                     | 0.43                                  | 2.84                                                               |
| PMA 02           | 35.47                           | 19.00                               | 8.73                      | 7.75                     | 0.35                                  | 2.90                                                               |
| PMA 03           | 32.02                           | 22.96                               | 8.23                      | 10.63                    | 0.31                                  | 4.50                                                               |
| PMA 04           | 34.10                           | 11.84                               | 8.81                      | 8.69                     | 1.20                                  | 1.94                                                               |
| PMA 05           | 29.48                           | 7.59                                | 10.06                     | 7.85                     | 0.28                                  | 2.19                                                               |
| PMA 06           | 34.06                           | 22.60                               | 8.05                      | 12.81                    | 0.83                                  | 0.88                                                               |
| PMA 07           | 31.50                           | 11.62                               | 9.60                      | 7.32                     | 0.64                                  | 2.51                                                               |
| PMA 08           | 29.76                           | 20.38                               | 9.35                      | 9.46                     | 1.71                                  | 2.52                                                               |
| PMA 09           | 28.90                           | 20.57                               | 9.76                      | 6.34                     | 0.95                                  | 2.52                                                               |
| PMA 10           | 35.84                           | 23.60                               | 9.26                      | 13.04                    | 0.60                                  | 0.69                                                               |
| PMA 11           | 31.25                           | 19.10                               | 7.06                      | 15.35                    | 1.23                                  | 0.76                                                               |
| PMA 12           | 32.38                           | 17.92                               | 7.59                      | 13.84                    | 0.76                                  | 0.66                                                               |
| PMA 13           | 36.31                           | 29.94                               | 7.29                      | 12.84                    | 0.86                                  | 0.84                                                               |
| PMA 14           | 35.40                           | 27.26                               | 6.97                      | 12.52                    | 0.67                                  | 0.87                                                               |
| PMA 15           | 39.51                           | 25.35                               | 6.93                      | 11.78                    | 0.68                                  | 1.01                                                               |
| PMA 16           | 24.79                           | 33.77                               | 6.13                      | 21.71                    | 0.57                                  | 1.09                                                               |
| PMA 17           | 27.35                           | 31.90                               | 7.70                      | 11.74                    | 0.49                                  | 0.99                                                               |
| PMA 18           | 24.99                           | 30.27                               | 7.32                      | 16.97                    | 0.59                                  | 0.99                                                               |
| PMA 19           | 26.47                           | 27.96                               | 7.46                      | 19.20                    | 1.37                                  | 0.78                                                               |
| $\bar{X} \pm SD$ | 31.71 $\pm$ 4.06                | 21.85 $\pm$ 7.50                    | 8.18 $\pm$ 1.13           | 11.85 $\pm$ 4.35         | 0.76 $\pm$ 0.38                       | 1.66 $\pm$ 1.07                                                    |
| Min-Max          | 24.79-39.51                     | 7.59-33.77                          | 6.13-10.06                | 5.33-21.71               | 0.28-1.71                             | 0.66-4.50                                                          |

วิจารณ์

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาจำนวน 19 ตัวอย่าง ผ่านการตรวจพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเภสัชเวท ว่าเป็นโสมน้ำเต้า คือ เป็นเหง้าและรากแห้งของพืชชนิดใดชนิดหนึ่งใน 3 ชนิด ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Rheum officinal* Baill., *R.palmatum* L. และ *R.tanguticum* (Maxim. Ex Regel) Maxim.ex Balf. ในวงศ์ Polygonaceae หรือ เหง้าและรากแห้งของพืช 2 หรือ 3 ชนิดข้างต้นปนกัน

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางเคมีด้วย Modified Borntrager Test และ Ferric chloride Test ได้ผลบวกในทุกตัวอย่างแสดงว่า โสมน้ำเต้า มีส่วนประกอบเป็นสารกลุ่ม anthraquinones และ tannins เมื่อทดสอบด้วยวิธี thin-layer chromatography พบสาร rhein, emodin และ chrysophanol อยู่ในโสมน้ำเต้าทุกตัวอย่าง แต่อาจมีความแตกต่างของแถบสีอื่นๆ ได้ใน TLC Chromatogram

จากผลการตรวจคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโสมน้ำเต้าสามารถจัดทำข้อกำหนดทางเคมี เพื่อควบคุมคุณภาพของโสมน้ำเต้าโดยหัวข้อปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด จะถูกกำหนดเกณฑ์สูงสุดไม่เกินค่าเฉลี่ยบวกค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนหัวข้อปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล และปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein จะถูกกำหนดเกณฑ์ต่ำสุด ไม่น้อยกว่าค่าเฉลี่ยลบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพของโสมน้ำเต้า

| หัวข้อ<br>(%w/w)                                        | ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน<br>มาตรฐาน<br>( $\bar{X} \pm SD$ , n= 19) | เกณฑ์สูงสุด<br>ไม่เกิน<br>$\bar{X} + SD$ | เกณฑ์ต่ำสุด<br>ไม่น้อยกว่า<br>$\bar{X} - SD$ |
|---------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------|
| ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ                                    | 31.71 ± 4.06                                                       | –                                        | 27                                           |
| ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล                                | 21.85 ± 7.50                                                       | –                                        | 14                                           |
| ปริมาณความชื้น                                          | 8.18 ± 1.13                                                        | 10                                       | –                                            |
| ปริมาณเถ้ารวม                                           | 11.85 ± 4.35                                                       | 16                                       | –                                            |
| ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด                              | 0.76 ± 0.38                                                        | 1                                        | –                                            |
| ปริมาณ hydroxyanthracene derivatives<br>คำนวณเป็น rhein | 1.66 ± 1.07                                                        | –                                        | 0.6                                          |

จะเห็นว่าปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ซึ่งมีเกณฑ์กำหนดไม่น้อยกว่าร้อยละ 27 โดยน้ำหนักนั้นใกล้เคียงกับค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับสาธารณสุขประชาชนจีน<sup>(1)</sup> คือ ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก ส่วนปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก ค่อนข้างแตกต่างจากเกณฑ์ของเภสัชตำรับญี่ปุ่น<sup>(21)</sup> และองค์การอนามัยโลก<sup>(9)</sup> ที่กำหนดไว้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้แตกต่างกัน คือ เภสัชตำรับญี่ปุ่นและองค์การอนามัยโลกใช้เอทานอลเจือจาง (ประมาณ 50%) ส่วนงานวิจัยครั้งนี้ใช้เอทานอล 95%

สำหรับปริมาณความชื้นมีเกณฑ์กำหนดไม่เกินร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ซึ่งน้อยกว่าค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับสาธารณสุขประชาชนจีน<sup>(1)</sup> ญี่ปุ่น<sup>(21)</sup> อังกฤษ<sup>(15)</sup> และองค์การอนามัยโลก<sup>(9)</sup> ที่ร้อยละ 15, 13, 12 และ 12 โดยน้ำหนักตามลำดับ อาจเป็นเพราะตัวอย่างโสมน้ำเต้าในงานวิจัยครั้งนี้ ส่วนใหญ่ได้มาจากสาธารณสุขประชาชนจีน ซึ่งจะถูกทำให้แห้งออกบางส่วนในขั้นตอนการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวโดยการกองสุมหลังการนิ่งเพื่อให้เหง้าออก ช่วยให้เนื้อสมุนไพรนุ่ม เปลี่ยนสี และแห้งสนิทยิ่งขึ้น<sup>(22)</sup>

ปริมาณเถ้ารวมมีเกณฑ์กำหนดไม่เกินร้อยละ 16 โดยน้ำหนัก ซึ่งมากกว่าค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับสารานุกรมรัฐประชาชนจีน<sup>(1)</sup> ญี่ปุ่น<sup>(21)</sup> อังกฤษ<sup>(15)</sup> และองค์การอนามัยโลก<sup>(9)</sup> คือ ร้อยละ 10, 13, 12 และ 12 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ อาจเป็นไปได้ที่ตัวอย่างบางส่วนได้จากการเพาะปลูกที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีในการบำรุงรักษา และอาจทำให้เกิดสารเจือปนอื่นในเนื้อเยื่อพืชได้มากกว่าแหล่งธรรมชาติ ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณเถ้ารวมสูงขึ้นได้ ทั้งนี้จะเห็นได้จากผลการวิจัยที่แสดงค่าปริมาณเถ้ารวมมีค่าสูงสุดคือ ร้อยละ 21.71 ค่าต่ำสุดคือ ร้อยละ 5.33 อาจเป็นผลมาจากแหล่งที่มาของตัวอย่างแตกต่างกันมาก

สำหรับปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด มีเกณฑ์กำหนดไม่เกินร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับสารานุกรมรัฐประชาชนจีน<sup>(1)</sup> คือ ร้อยละ 0.8 โดยน้ำหนักแต่ในเภสัชตำรับอังกฤษ<sup>(15)</sup> และองค์การอนามัยโลก<sup>(9)</sup> ได้กำหนดไว้สูงกว่าคือ ร้อยละ 2 โดยน้ำหนัก

การหาปริมาณสารสำคัญในโถงน้ำเต้าสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีของ BP ซึ่งกำหนดให้หาปริมาณ hydroxyanthracene derivatives ที่มีอยู่หลายชนิด แต่ให้คำนวณเป็น rhein โดยใช้ตัวแปรเพียง 2 ค่า คือ ค่าการดูดกลืนแสงและน้ำหนักผงสมุนไพรที่ปราศจากความชื้น แต่ทั้งนี้ต้องทำตามวิธีทุกขั้นตอน เนื่องจากมีการกำหนดค่าคงที่สำหรับการคำนวณไว้ด้วย ผลการศึกษาได้กำหนดปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ไว้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนัก ซึ่งน้อยกว่าค่าที่กำหนดไว้ในเภสัชตำรับอังกฤษ<sup>(15)</sup> และองค์การอนามัยโลก<sup>(9)</sup> คือ ร้อยละ 2.2 โดยน้ำหนักเนื่องจากตัวอย่างโถงน้ำเต้าในงานวิจัยครั้งนี้ส่วนใหญ่ได้มาจากสารานุกรมรัฐประชาชนจีน อาจมีการแปรรูปเบื้องต้นไปจนถึงการแปรรูปโดยวิธีเฉพาะที่เรียกว่าการเผ้าจี้<sup>(22)</sup> ด้วยวิธีการและสารปรุงแต่งที่แตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่ เช่น โถงน้ำเต้าผัดเหล้า โถงน้ำเต้าผัดน้ำส้ม โถงน้ำเต้านึ่งเหล้า ก่อนนำไปตากให้แห้ง ซึ่งการเผ้าจี้แต่ละวิธีนั้นอาจทำให้สารสำคัญกลุ่ม anthraquinones มีปริมาณที่แตกต่างกันมาก<sup>(1, 22)</sup> จะเห็นได้จากผลการศึกษาครั้งนี้ ปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein สูงสุดและต่ำสุด มีความแตกต่างค่อนข้างสูงคือ ร้อยละ 4.50 และ 0.66 โดยน้ำหนักตามลำดับ

การศึกษาปริมาณสารสำคัญในโถงน้ำเต้า นอกจากจะศึกษาปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein แล้ว ยังสามารถศึกษาสารสำคัญชนิดอื่นๆ ด้วยวิธีการอื่นๆ ได้ เช่น เภสัชตำรับสารานุกรมรัฐประชาชนจีน<sup>(1)</sup> กำหนดปริมาณสารสำคัญของโถงน้ำเต้าเป็นค่ารวมของสาร 5 ชนิด คือ rhein, emodin, chrysophanol, aloe-emodin และ physcion ที่ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ทดสอบโดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) ส่วนเภสัชตำรับญี่ปุ่น<sup>(21)</sup> กำหนดสาร senosides A ร้อยละ 0.25 ทดสอบโดยใช้ HPLC งานวิจัยครั้งนี้เลือกใช้วิธีทดสอบตามวิธีของ BP โดยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) ซึ่งเป็นเครื่องมือที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อนและมีการใช้อย่างแพร่หลาย ไม่จำเป็นต้องใช้สารมาตรฐานเพื่อให้ผู้เกี่ยวข้องสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรโถงน้ำเต้าได้กว้างขวางยิ่งขึ้น

## สรุป

โถงน้ำเต้ามีสารประกอบกลุ่ม anthraquinones เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมีสารสำคัญอย่างน้อย 3 ชนิด คือ chrysophanol, emodin และ rhein และมีข้อกำหนดทางเคมีและกายภาพดังนี้

- ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ไม่น้อยกว่าร้อยละ 27 โดยน้ำหนัก
- ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ไม่น้อยกว่าร้อยละ 14 โดยน้ำหนัก
- ปริมาณความชื้น ไม่เกินร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก
- ปริมาณเถ้ารวม ไม่เกินร้อยละ 16 โดยน้ำหนัก
- ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด ไม่เกินร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก
- ปริมาณ hydroxyanthracene derivatives คำนวณเป็น rhein ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนัก

ข้อกำหนดที่ได้นี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพวัตถุดิบ และเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของโสมน้ำเต้าในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย (Thai Herbal Pharmacopoeia) ต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งภายใต้โครงการการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่นของสำนักจัดการความรู้และเทคโนโลยีวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร่วมกับศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทั่วประเทศ 14 แห่ง ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ เกษัชกรหญิงปราณี ขวลิตร่าง หัวหน้าโครงการและเจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบโครงการย่อยจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง ที่ได้ร่วมกันผลักดันแก้ไขปัญหาล่วงหน้าและให้การสนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

### เอกสารอ้างอิง

1. The State Pharmacopoeia Commission of P.R. China. Pharmacopoeia of the People's Republic of China Vol. I. Beijing: People's Medical Publishing House; 2005.
2. Rheum spp. In: Tang W, Eisenbrand G. Chinese drugs of plant origin: chemistry, pharmacology and use in traditional and modern medicine. Berlin, Germany: Springer-Verlag; 1992. p. 855-75.
3. ชัยนต์ พิเชียรสุนทร และวิเชียร จีรวงศ์. คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 5 คณาเภสัช. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อมรินทร์; 2547. หน้า 106-9.
4. ราชบัณฑิตยสถาน. อนุกรมวิธานพืช อักษร ก ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: อรุณการพิมพ์; 2546. หน้า 410-1.
5. Li A, Bao B, Grabovskaya-Borodina AE, Hong S, McNeil J, Mosyakin SL, et al. Polygonaceae. In: Wu ZY, Raven PH, Hong DY, editors. Flora of China Vol. 5. Beijing: Science Press; 2003. p.227-350.
6. Image of polygonaceae rheum officinale. [online]. 2005; [cited 2015 Aug 20]; [1 screen]. Available from: URL: [http://www.fossilflowers.org/imgs/kcn2/r/Polygonaceae\\_Rheum\\_officinale\\_13620.html](http://www.fossilflowers.org/imgs/kcn2/r/Polygonaceae_Rheum_officinale_13620.html).
7. Danger garden. Bloomday for May 2014. The Rheum palmatum bloom. [online]. 2014; [cited 2015 Aug 20]; [1 screen]. Available from: URL: <http://www.thedangergarden.com/2014/05/bloomday-for-may-2014.html>.
8. Henriette's Herbal Homepage. Photo: Rheum tanguticum 2. [online]. 2005; [cited 2015 August 20]; [1 screen]. Available from: URL: <http://www.henriettes-herb.com/galleries/photos/r/rh/rheum-tanguticum-2.html>.
9. WHO monograph on selected medicinal plants Vol. 1. Geneva: World Health Organization; 1999. p. 231-40.
10. สุจิตา ไชยราช. ข้อมูลทั่วไปของพืชที่เป็นส่วนประกอบ. ใน: ปราณี ขวลิตร่าง และอังคณา หิรัญสาส์, คณะบรรณาธิการ. ยาธรรมชาติสันตะฆาต: คุณภาพวัตถุดิบและความปลอดภัยของตำรับ. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2555. หน้า 56-7.
11. Leng-Peschlow E. Dual effect of orally administered sennosides on large intestine transit and fluid absorption in the rat. J Pharm Pharmacol 1986; 38(8): 606-10.
12. de Witte P. Metabolism and pharmacokinetics of anthranoids. Pharmacology 1993; 47(Suppl 1): 86-97.

13. สำนักยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ยาสามัญประจำบ้านแผนโบราณ พ.ศ. 2556. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 10 ส.ค. 2558]; [22 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://drug.fda.moph.go.th/zone\\_law/law043.asp](http://drug.fda.moph.go.th/zone_law/law043.asp).
14. วารุณี จิรวินนาพงศ์, สุพรรณ ภัทรพรชัยวัฒน์, ภูริทัต รัตนสิริ และนิธิตา พลโครต. เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่องการควบคุมคุณภาพและการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานทางเคมีของสมุนไพร. วันที่ 30 เมษายน - 4 พฤษภาคม 2555. นนทบุรี: สถาบันวิจัยสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2555.
15. British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2012. London: The Stationary Office; 2012.
16. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์. หลักการและเทคนิคพื้นฐานของวิธีทีแอลซี. ใน : นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสธนะพันธุ์ และประไพ วงศ์สินคงม้น, บรรณาธิการ. ทีแอลซี: วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย. นนทบุรี : มหาวิทยาลัยมหิดล ร่วมกับกรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก; 2551. หน้า 22-86.
17. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. I. 2<sup>nd</sup> ed. Appendices 4.15 Loss on drying. Bangkok: Prachachon; 1998. p. 123-4.
18. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. II. 2<sup>nd</sup> ed. Appendices 7.6 Acid-insoluble ash, 7.7 Total ash and 7.12 Extractives. Bangkok: Prachachon; 2000. p. 108, 141.
19. Eurachem Guides. The fitness for purpose of analytical methods (2014). [online]. 2014; [cited 2014 Jul 10]; [1 screen]. Available from: URL: <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides/mv>.
20. Sakulpanich A, Gritsanapan W. Determination of anthraquinone glycoside content in Cassia fistula leaf extracts for alternative source of laxative drug. Int J Biomed Pharma Sci 2009; 3(1): 42-45.
21. Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. JP 16th edition texts by section. Crude drugs rhubarb. [online]. 2011; [cited 2014 Jun 25]; [2 screen]. Available from: URL: <http://www.pmda.go.jp/english/rs-sb-std/standards-development/jp/0003.html>.
22. เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, บรรณาธิการ. ศาสตร์ยาสมุนไพรจีน. กรุงเทพฯ : กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก; 2554. หน้า 17, 21, 35.

# Chemical and Physical Specifications of Kot Namtao

**Kanyarat Chonlasit Sarinya Julsrigival and Suppakorn Janjom**

*Regional Medical Sciences Center 1 Chiang Mai, Department of Medical sciences, Ministry of Public Health, Chiang Mai 50180, Thailand.*

**ABSTRACT** Kot Namtao or Rhubarb is the dried rhizome and root of the genus *Rheum* comprising 3 species i.e. *Rheum officinal* Baill., *R.palmatum* L. and *R.tanguticum* (Maxim. ex Regel) Maxim.ex Balf., family Polygonaceae. Kot Namtao have been used as laxative with astringent effect in Thai traditional medicine but standard specification in Thai Herbal Pharmacopoeia is not yet designated. Thus, in 2013, the physico-chemical properties of 19 samples of Kot Namtao collected from China as well as herbal drug stores in Thailand, were investigated. Results indicated that anthraquinones (contain at least 3 active substances: chrysophanol, emodin, rhein) and tannins were found in all samples. The physico-chemical properties in terms of contents of water-soluble extractives, ethanol-soluble extractives, moisture, total ash, acid-insoluble ash, and hydroxyanthracene derivatives as calculated in rhein, were  $31.71 \pm 4.06$ ,  $21.85 \pm 7.50$ ,  $8.18 \pm 1.13$ ,  $11.85 \pm 4.35$ ,  $0.76 \pm 0.38$  and  $1.66 \pm 1.07\%$  w/w, respectively. The expected values of water-soluble extractives, ethanol-soluble extractives and hydroxyanthracene derivatives calculated in rhein should not less than 27, 14 and 0.6% w/w, respectively, while the limits for moisture, total ash and acid-insoluble ash were should not be more than 10, 16 and 1% w/w, respectively. The results obtained from the studies will be the base-line information for the quality control of Kot Namtao which lead to further establishment of the standard specifications of Kot Namtao in Thai Herbal Pharmacopoeia.

**Key words :** Kot Namtao, physico-chemical properties, specification

## คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแก่นแฉ่ง

สิรดา ปงเมืองมูล เจษฎา กาศโอสถ วิสิฐศักดิ์ วุฒิอดิเรก และสังคม วิทยนันท์  
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ อำเภอเมือง นครสวรรค์ 60000

**บทคัดย่อ** แฉ่ง (*Maerua siamensis* (Kurz) Pax) อยู่ในวงศ์ Capparaceae มีสรรพคุณเป็นยาขับปัสสาวะ แก้ไข้ รักษา/ป้องกันฟันผุ และบำรุงกำลัง ประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดมาตรฐานเพื่อใช้ควบคุมคุณภาพ ดังนั้นจึงทำการศึกษาคุณภาพแก่นแฉ่ง ภายใต้โครงการ “การพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่น” เพื่อจัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐานในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย โดยเก็บตัวอย่างแก่นแฉ่งจากแหล่งธรรมชาติและซื้อจากร้านขายเครื่องยาสมุนไพรทั่วประเทศจำนวน 12 ตัวอย่าง ในการตรวจเอกลักษณ์ทางเคมีเบื้องต้น พบสารกลุ่มสเตียรอยด์ ฟลาโวนอยด์ กรดอะมิโน ซาโปนิน และคูมาริน และเมื่อทำการทดสอบหาลายพิมพ์ ที่แอลซี พบลักษณะโครมาโทแกรมเฉพาะ และผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพตามวิธีในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย เล่มที่ 1 และ 2 พบปริมาณความชื้น สารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอล เอ็กตรัม และเถ้าที่ไม่ละลายในกรด มีค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเท่ากับ  $6.58 \pm 1.25$ ,  $10.77 \pm 2.31$ ,  $3.78 \pm 1.26$ ,  $3.14 \pm 0.56$  และ  $0.092 \pm 0.035$  ตามลำดับ ซึ่งข้อมูลที่ได้นี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการจัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐาน สำหรับควบคุมคุณภาพสมุนไพรแก่นแฉ่งของประเทศไทยต่อไป

## บทนำ

สมุนไพรเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่สำคัญของประเทศ ประวัติการใช้สมุนไพรในการรักษาโรค เป็นภูมิปัญญาดั้งเดิมที่มีการสั่งสมและสืบทอดกันมา จนถึงปัจจุบันกระแสความนิยมยังคงมีอยู่ จนมีการนำสมุนไพรมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพร กระทรวงสาธารณสุขก็มีนโยบายส่งเสริมให้โรงพยาบาลทั่วไปและโรงพยาบาลชุมชนมีการใช้ยาสมุนไพรไม่น้อยกว่าร้อยละ 5 และ 10 ของมูลค่าการใช้ยาในโรงพยาบาลตามลำดับ เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการนำเข้ายาแผนปัจจุบันจากต่างประเทศ<sup>(1)</sup> ปัจจุบันมีโรงพยาบาลหลายแห่งที่ผลิตยาสมุนไพรขึ้นเองเพื่อใช้ภายในโรงพยาบาล ขณะเดียวกันก็มีการแปรรูปสมุนไพรเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ในท้องถิ่น

การที่จะให้ความนิยมสมุนไพรเป็นไปอย่างยั่งยืน ไม่เพียงแต่สมุนไพรจะต้องมีความปลอดภัยเป็นประการแรกเท่านั้น สิ่งสำคัญคือ สมุนไพรจะต้องมีคุณภาพที่สม่ำเสมอ เพื่อให้ผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นว่าสมุนไพรนั้นมีประสิทธิภาพและยีนดีที่จะเลือกใช้ผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรในการรักษา หรือเสริมสร้างสุขภาพ<sup>(2, 3)</sup>

มาตรฐานที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรของประเทศไทย คือตำรามาตรฐานยาสมุนไพร (Thai Herbal Pharmacopoeia) ซึ่งได้รวบรวมข้อกำหนด วิธีทดสอบ และข้อมูลอื่น ๆ ในการควบคุมคุณภาพมาตรฐานยาสมุนไพรแต่ละชนิด สมุนไพรที่มีการกำหนดมาตรฐานและบรรจุอยู่ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรมีจำนวนจำกัด<sup>(4-9)</sup> ในขณะที่สมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่นต่าง ๆ ของประเทศนอกเหนือจากที่บรรจุในตำราดังกล่าวยังมีอีกเป็นจำนวนมาก เพื่อสนองนโยบายกระทรวงสาธารณสุขในการส่งเสริมให้โรงพยาบาลในสังกัดทั่วประเทศใช้ยาสมุนไพรในการรักษาผู้ป่วยเพิ่มขึ้น ร้อยละ 5 ต่อปีเป็นผลสัมฤทธิ์ จำเป็นต้องเพิ่มรายการยาสมุนไพรให้มากขึ้นเพียงพอต่อความต้องการใช้ของแพทย์ และสร้างความมั่นใจในคุณภาพของสมุนไพรให้แก่แพทย์และผู้บริโภค

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล็งเห็นความสำคัญของการส่งเสริมการใช้สมุนไพรอย่างมีคุณค่าและยั่งยืน โดยสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่น จำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพแต่ยังขาดข้อกำหนดมาตรฐาน ดังนั้น จึงจำเป็นต้องเร่งดำเนินการศึกษาเพื่อให้ได้แนวทางในการควบคุมคุณภาพสมุนไพร เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพคงที่ สม่ำเสมอ จึงได้ดำเนินโครงการ “การพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่น” ขึ้น โดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ รับผิดชอบศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสมุนไพรแก่นแฉะ เพื่อให้ได้ข้อมูลเอกลักษณ์ทางเคมี (chemical characteristics) ได้แก่ การตรวจสอบเบื้องต้น (preliminary test) ว่ามีสารกลุ่มใดในสมุนไพรแก่นแฉะบ้าง และการตรวจสอบเพื่อยืนยันผล โดยใช้วิธีโครมาโทกราฟีชนิดผิวนบาง (thin-layer chromatography; TLC) เพื่อหา TLC fingerprints และคุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด<sup>(10)</sup> ของสมุนไพรแก่นแฉะ เสนอต่อคณะกรรมการจัดทำตำราของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ใช้เป็นแนวทางในการจัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐานสำหรับควบคุมคุณภาพของแก่นแฉะในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทยต่อไป

แฉะ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Maerua siamensis* (Kurz) Pax อยู่ในวงศ์ Capparaceae ลักษณะเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง สูง 3-10 เมตร ใบเป็นประกอบแบบนิ้วมือ มีใบย่อย 3-5 ใบ ดอกแบบช่อแบบกระจุกหรือดอกเดี่ยว และผลรูปทรงรีหรือกลม ขนาด 2-3 เซนติเมตร บิดเบี้ยวเล็กน้อย สมุนไพรแฉะมีส่วนที่ใช้ทำยาหลายส่วน โดยรากและเปลือกมีสรรพคุณบำรุงกำลัง แก้ปัสสาวะพิการ ขับปัสสาวะ แก้กระษัย แก้ปวดเมื่อย ต้นมีสรรพคุณใช้รักษาและป้องกันพิษ และสรรพคุณอื่น ๆ เหมือนรากและเปลือก ใบและยอดมีสรรพคุณแก้ไข้ บำรุงกำลัง แก้หน้ามืด ตาฟาง ส่วนแก่นมีสรรพคุณแก้ไข้ ตัวร้อน<sup>(11)</sup> (ภาพที่ 1 และภาพที่ 2)



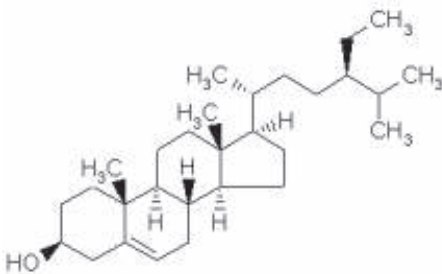
ภาพที่ 1 ส่วนของลำต้น ใบของแฉ่ง<sup>(11)</sup>



ภาพที่ 2 ส่วนของแก่นแฉ่ง

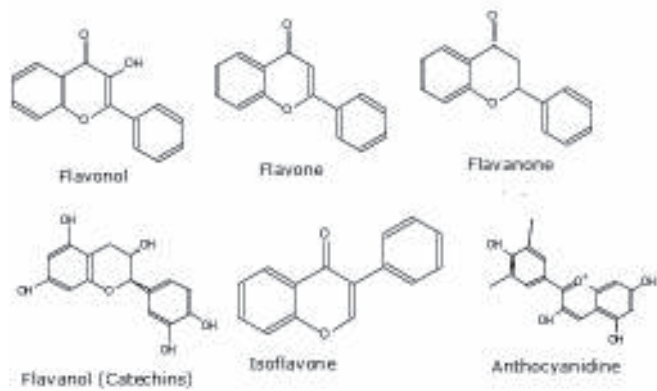
จากผลการศึกษาที่ผ่านมาสามารถแยกสารใหม่ในกลุ่ม indole alkaloids ได้ 2 ชนิด คือ 7-hydroxy-6-methoxycyclobassinone และ 7-hydroxycyclobassinone กับสารที่เคยมีรายงานแล้วอีก 3 ชนิด คือ  $\beta$ -sitosterol, vanillin และ lupeol จากรากแฉ่ง ซึ่งพบว่า 7-hydroxy-6-methoxy cyclobassinone มีความเป็นพิษระดับสูง (ค่า  $IC_{50}$  = 1.51 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ในขณะที่สาร 7-hydroxycyclobassinone มีความเป็นพิษในระดับปานกลาง (ค่า  $IC_{50}$  = 8.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ต่อเซลล์มะเร็งปอดของมนุษย์ชนิด NCI-H187 นอกจากนี้ สาร 7-hydroxy-6-methoxycyclobassinone ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อวัณโรค (*Mycobacterium tuberculosis*) โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อได้คือ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรอีกด้วย<sup>(12)</sup> และยังมีการศึกษาพบสารกลุ่ม terpenoids ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และ stigmasterol ในสารสกัด dichloromethane ของลำต้นแฉ่ง<sup>(13)</sup>

สารสำคัญที่พบในสมุนไพรแฉ่ง เช่น สารกลุ่ม steroids เป็นสารที่ช่วยลดระดับ cholesterol และ triglyceride ลดการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยสาร  $\beta$ -sitosterol มีประโยชน์ใช้กับผู้ป่วยโรคหัวใจและมี cholesterol สูง<sup>(14)</sup> (ภาพที่ 3)



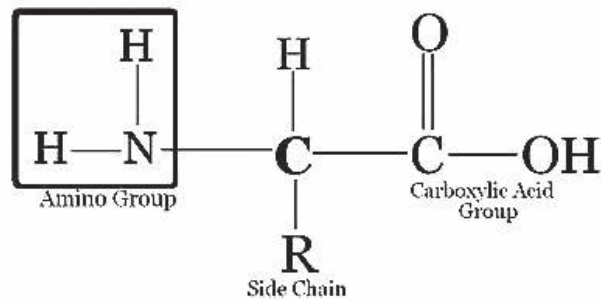
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของ  $\beta$ -sitosterol

สารกลุ่ม flavonoids<sup>(15)</sup> ซึ่งมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น รักษาโรคเส้นเลือดฝอยเปราะ บางชนิดมีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน บางชนิดต้านเชื้อรา ต้านอักเสบ และต้านเซลล์มะเร็ง (ภาพที่ 4)



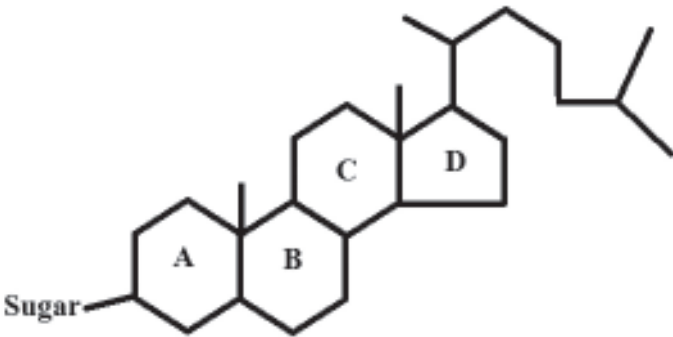
ภาพที่ 4 โครงสร้างทางเคมีของสารกลุ่ม flavonoids

สารกลุ่ม amino acids<sup>(15)</sup> จัดเป็นสารประกอบปฐมภูมิที่พบในพืช ช่วยในการสร้างกลูโคส และให้พลังงานแก่ร่างกาย โดยทั่วไปในพืชอาจอยู่ในรูปอิสระ หรือเป็นส่วนหนึ่งของโปรตีน (ภาพที่ 5)



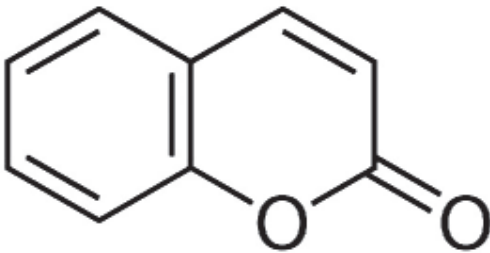
ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของ amino acids

สารกลุ่ม saponins<sup>(15)</sup> เป็นสารที่มีคุณสมบัติทำให้เกิดฟองเมื่อละลายในน้ำ ใช้เป็นสารชะล้างแทนสบู่ ใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเพศ บางชนิดมีฤทธิ์แก้ไอ บางชนิดมีฤทธิ์บำรุงสมอง ส่วน aglycone ของ saponin เป็นสารประกอบจำพวก steroids หรือ triterpenoids (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของ steroidal saponin

สารกลุ่ม coumarins<sup>(15)</sup> จัดเป็น lactone glycosides สารกลุ่มนี้มักจะเรืองแสงภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตได้สีต่าง ๆ มีฤทธิ์ป้องกันการแข็งตัวของเลือด รักษาโรคหอบหืด ลดภาวะการบวมน้ำเหลือง (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของ coumarins

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างสมุนไพร

1. สมุนไพรแก่นแฉ่งอ้างอิง (Authentic Samples) เก็บจากแหล่งธรรมชาติผ่านการตรวจสอบชื่อที่ถูกต้องตามหลักพฤกษอนุกรมวิธานโดยนักพฤกษศาสตร์ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Maerua siamensis* (Kurz) Pax อยู่ในวงศ์ Capparaceae จำนวน 3 ตัวอย่าง ได้แก่ รหัส PMH 01- PMH 03
2. สมุนไพรแก่นแฉ่งจากท้องตลาด ซื้อจากร้านจำหน่ายเครื่องยาสมุนไพรในประเทศไทย ในจังหวัดนครปฐม นครสวรรค์ อุทัยธานี สงขลา พิชณุโลก สุราษฎร์ธานี นครราชสีมา นครราชสีมา และกรุงเทพมหานคร ในช่วงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2556 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2558 รวม 9 ตัวอย่าง ได้แก่ รหัส PMH 04- PMH 12 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รายละเอียดแหล่งที่มาของสมุนไพรแก่นแฉ่งที่ซื้อจากร้านขายยา

| รหัส   | แหล่ง                        |
|--------|------------------------------|
| PMH 04 | ร้านค้าในจังหวัดนครปฐม       |
| PMH 05 | ร้านค้าในจังหวัดนครสวรรค์    |
| PMH 06 | ร้านค้าในจังหวัดอุทัยธานี    |
| PMH 07 | ร้านค้าในจังหวัดสงขลา        |
| PMH 08 | ร้านค้าในจังหวัดพิษณุโลก     |
| PMH 09 | ร้านค้าในจังหวัดสุราษฎร์ธานี |
| PMH 10 | ร้านค้าในจังหวัดนครราชสีมา   |
| PMH 11 | ร้านค้าในจังหวัดนครราชสีมา   |
| PMH 12 | มหาวิทยาลัยมหิดล             |

เตรียมโดยนำตัวอย่างแก่นแฉ่งไปอบฆ่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส บดเป็นผงละเอียด ผ่านร่อนเบอร์ 80 บรรจุในภาชนะปิดสนิท ปิดฉลากระบุชื่อและรหัสของตัวอย่างสมุนไพร จัดเก็บตัวอย่างในขวดแก้วสีชาปิดสนิท

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ความละเอียด 0.0001 กรัม ผลิตภัณฑ์ของ Sartorius รุ่น CP224S
2. เตาเผาอุณหภูมิสูง ผลิตภัณฑ์ของ Thermolyne รุ่น F 6010

3. เตอบรร้อน ผลิตภัณฑ์ของ MMM-Medcenter รุ่น Venticell 111
  4. เครื่องระเหยสุญญากาศ ผลิตภัณฑ์ของ Heidolph รุ่น Hei-Vap Precision
  5. อ่างน้ำร้อนแบบควบคุมอุณหภูมิ ผลิตภัณฑ์ของ Memmert รุ่น WB45
  6. เครื่องกรองน้ำบริสุทธิ์ ผลิตภัณฑ์ของ ELGA รุ่น ULTRA ANALYTIC
  7. เครื่องเขย่าแบบกลับไปกลับมา ผลิตภัณฑ์ของ Yamato รุ่น SA31
  8. เครื่องถ่ายภาพ ผลิตภัณฑ์ของ Camag รุ่น Reprostar 3
  9. อ่างน้ำเย็นหมุนเวียน ผลิตภัณฑ์ของ EYELA รุ่น CA-111
  10. ตู้เย็น
  11. ตู้ดูดควัน
  12. เตไฟฟ้าบุวม
  13. เตไฟฟ้าพร้อมที่กวนแม่เหล็ก
  14. ชุดตูมัตถุภายใต้แสง UV
  15. เครื่องเป่าลม
  16. นาฬิกาจับเวลา
  17. ชุด Reflux (Reflux apparatus)
  18. แผ่น ที่ แอล ซี ชนิดเคลือบบนอะลูมิเนียม (Aluminium TLC Plate) ขนาด 20 × 20 เซนติเมตร
  19. หลอดคาปิลลารี (Capillary Tube) ปริมาตร 1 ไมโครลิตร
  20. ชุดสำหรับสเปรย์ แผ่น ที่ แอล ซี
  21. โถแก้วดูดความชื้น (Vacuum Desiccators)
  22. ถ้วยกระเบื้อง (HCT 101/45 DIN)
  23. ขวดซังสาร
  24. กระดาษลิตมัส วัดความเป็นกรด-ด่าง
  25. กระดาษกรอง เบอร์ 4 และกระดาษกรองไร้เถ้า เบอร์ 41 ผลิตภัณฑ์ของ Whatman
  26. อุปกรณ์เครื่องแก้วอื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น กระบอกตวง หลอดทดลอง กระชกนาฬิกา
- ปิเปต ขวดวัดปริมาตร เป็นต้น

### สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน :  $\beta$ -Sitosterol ผลิตภัณฑ์ Sigma Aldrich รุ่นการผลิต BCBM5698V

สารเคมี : สารเคมีที่ใช้เป็น Analytical grade ได้แก่ ethanol (Carlo Erba), methanol (Carlo Erba), chloroform (Carlo Erba), sodium hydroxide (Carlo Erba), acetic anhydride (THOMAS BAKER; INDIA), glacial acetic acid (QReC), conc. sulfuric acid (QReC), hydrochloric acid (Carlo Erba), n-hexane (Carlo Erba), dichloromethane (Fisher Scientific), methanol (Fisher Scientific), p-anisaldehyde (Sigma Aldrich), magnesium ribbon (Ajax Finechem), ninhydrin (Fluka)

การเตรียมสารละลายเคมี<sup>(15)</sup> น้ำที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเป็นน้ำที่ผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองน้ำบริสุทธิ์

- น้ำยาคัดฟั่น anisaldehyde-sulfuric acid; ละลาย p-anisaldehyde 0.5 มิลลิลิตร ใน glacial acetic acid 10 มิลลิลิตร เติมน้ำ methanol 85 มิลลิลิตร ก่อนจะใช้ให้เติมน้ำ conc. sulfuric acid 5 มิลลิลิตร

- ninhydrin TS; ชั่ง ninhydrin 0.15 กรัม ละลายใน 50 มิลลิลิตร n-butanol และเติม 1.5 มิลลิลิตร acetic acid
- acetic acid (33% of Glacial acetic acid); เจือจาง 33 มิลลิลิตร glacial acetic acid ด้วยน้ำและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ
- hydrochloric acid, dilute (10% w/v); เจือจาง 226 มิลลิลิตร hydrochloric acid ด้วยน้ำปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ
- 20% sodium hydroxide; ชั่ง sodium hydroxide 10 กรัม ละลายและปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ
- 95% ethanol; ผสม abs.ethanol 950 มิลลิลิตร กับน้ำ 50 มิลลิลิตร
- 70% ethanol; ผสม abs.ethanol 350 มิลลิลิตร กับน้ำ 150 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical characteristics)

1.1 การตรวจสอบเบื้องต้น (Preliminary test)<sup>(10, 16)</sup>

ชั่งตัวอย่างสมุนไพร 5 กรัม เติม chloroform ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ต้มบนอ่างน้ำร้อนด้วยวิธี reflux ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที กรองสารละลายที่กรองได้ (filtrate) เป็นสารสกัดในคลอโรฟอร์ม (chloroform extract) ส่วนกากนำมาสกัดต่อด้วย 95% ethanol ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ต้มบนอ่างน้ำร้อนด้วยวิธี reflux ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที กรองสารละลายที่กรองได้เป็นสารสกัดในแอลกอฮอล์ (ethanol extract) ส่วนกากนำมาสกัดต่อด้วยน้ำ ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ต้มบนอ่างน้ำร้อนด้วยวิธี reflux ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที กรองสารละลายที่กรองได้เป็นสารสกัดน้ำ (water extract) แบ่งสารสกัดที่ได้ใส่หลอดทดลองหลอดละ 2 มิลลิลิตร เพื่อทำการทดสอบ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 รายการทดสอบของสารสกัดหยาบในตัวทำละลาย 3 ชนิด

| ชนิดสารสกัด         | รายการทดสอบ                                    |
|---------------------|------------------------------------------------|
| สารสกัดในคลอโรฟอร์ม | steroids & terpenoids                          |
| สารสกัดในแอลกอฮอล์  | steroids & terpenoids, flavonoids, amino acids |
| สารสกัดน้ำ          | flavonoids, amino acids, saponins              |

การทดสอบ

- 1.1 สารกลุ่ม steroids & terpenoids (Liebermann Burchard test) นำสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ระเหยจนแห้งบนอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เติม acetic anhydride ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (และ acetic acid ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร) เขย่าให้เข้ากัน เฝ้ารอดค่อยๆ เติม conc. sulfuric acid ลงข้างๆ หลอด ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- 1.2 สารกลุ่ม flavonoids (Shinoda test) นำสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติม ethanol ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร เติม conc. hydrochloric acid ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร และ magnesium ribbon ขนาด กว้าง 0.5 เซนติเมตร ยาว 1 เซนติเมตร จำนวน 2 ชิ้น
- 1.3 สารกลุ่ม amino acids นำสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย ninhydrin TS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน อุ่นบนอ่างน้ำร้อน

1.4 สารกลุ่ม saponins (Froth test) นำสารสกัด ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองปิดฝา เขย่าอย่างแรง ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที สังเกตการเกิดฟอง

1.5 สารกลุ่ม coumarins (Convert into fluorescing alkali salt of o-hydroxycinnamic acid) ซึ่งตัวอย่างสมุนไพร 2 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง ทำให้ชุ่มด้วยน้ำกลั่น นำกระดาษกรองที่ชุบ 20% sodium hydroxide และปล่อยทิ้งไว้จนแห้งแล้ว มาปิดปากหลอด แฉะหลอดในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที นำกระดาษกรองไปส่องภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตร สังเกตการเรืองแสง

## 1.2 การตรวจสอบเพื่อยืนยันผล (Confirmatory test) ด้วยวิธี TLC เพื่อหา TLC fingerprints

- สารละลายมาตรฐาน  $\beta$ -sitosterol ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ซึ่งสารมาตรฐาน  $\beta$ -sitosterol 12.5 มิลลิกรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย chloroform ในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

- สารละลายตัวอย่าง

ตัวอย่างแก่นแฉะ 2.5 กรัม เติม chloroform 50 มิลลิลิตร ต้มบนอ่างน้ำร้อนด้วยวิธี Reflux ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ระเหยตัวทำละลายให้แห้งโดยใช้ rotary evaporator แล้วละลายสารสกัดที่ได้ใน chloroform 2.5 มิลลิลิตร

- Developing solvent

สารละลายผสม n-hexane: dichloromethane: methanol อัตราส่วน 35:60:5

- การเตรียมสารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐานลงบน TLC plate

แยก streak สารละลายตัวอย่าง และสารละลายมาตรฐาน  $\beta$ -sitosterol ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ชนิดละ 10 ไมโครลิตร ลงบน TLC plate ขนาด  $20 \times 20$  เซนติเมตร ให้ได้แถบยาว 1 เซนติเมตร สูง 1 มิลลิเมตร โดยใช้ capillary tube ขนาด 1 ไมโครลิตร นำแผ่น TLC ใส่ใน tank ที่ developing solvent อิ่มตัวแล้ว เมื่อน้ำยาเคลื่อนที่ได้ระยะทาง 17 เซนติเมตร จากจุดเริ่มต้น นำแผ่น TLC ออกจาก tank ปล่อยให้แห้งในตู้ดูดควัน นำไปตรวจสอบ

- การตรวจสอบ

ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 และ UV 365 นาโนเมตร จากนั้นฉีดพ่นด้วยสารละลาย anisaldehyde-sulfuric acid ให้ความร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำกลับมาส่องภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตรอีกครั้ง

## 2. การศึกษาข้อกำหนดทางเคมีกายภาพ

2.1 การทดสอบหาปริมาณความชื้น : ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย<sup>(4)</sup> โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 5 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.2 การทดสอบหาปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ : ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย<sup>(5)</sup> โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 5 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.3 การทดสอบหาปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล : ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย<sup>(5)</sup> โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 5 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน)

2.4 การทดสอบหาปริมาณเถ้ารวมและปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด : ทำตามวิธีที่กำหนดไว้ในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย<sup>(5)</sup> โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 2 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน)

ซึ่งจะหาค่าเฉลี่ยเลขคณิต (Arithmetic mean;  $\bar{X}$ ) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; SD) ของข้อมูลจากทั้ง 12 ตัวอย่างในแต่ละการทดสอบ

ผล

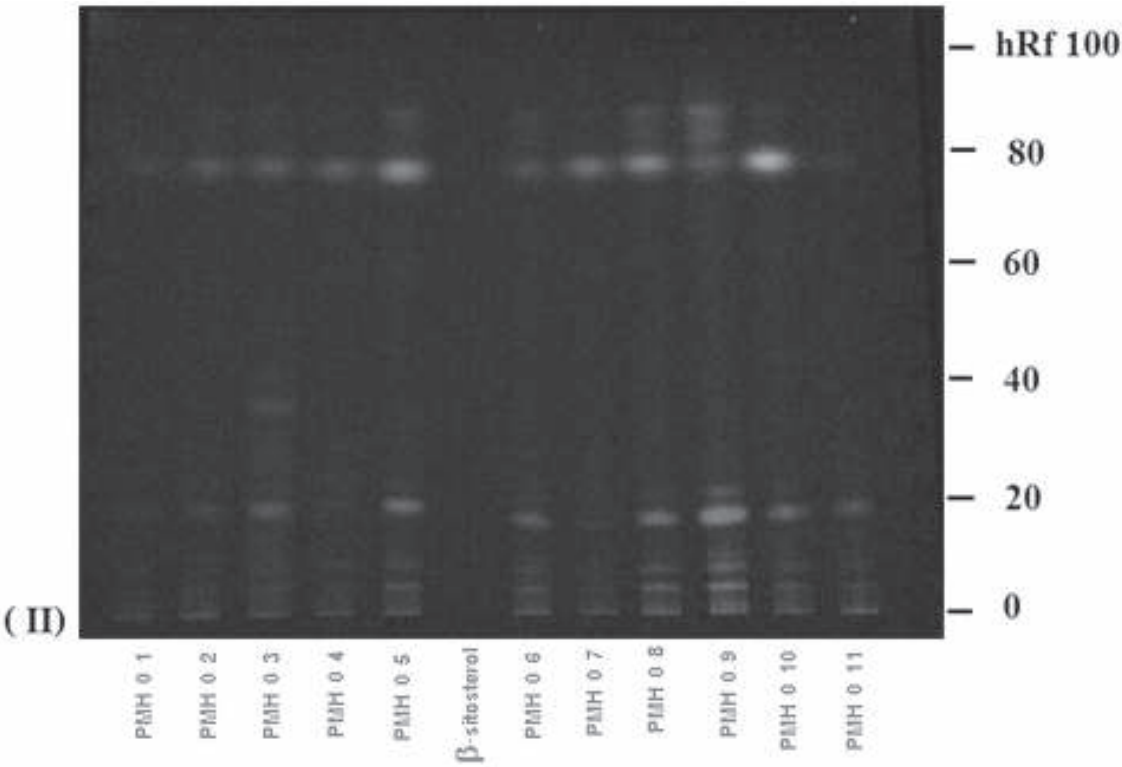
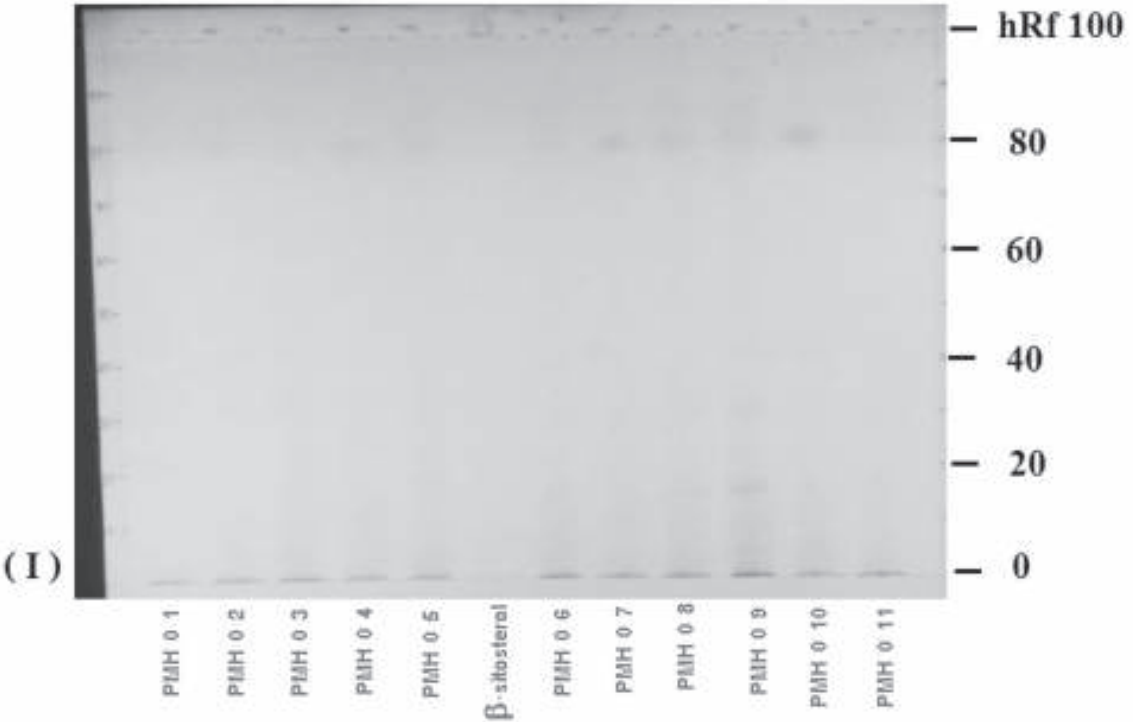
1. การศึกษาเอกลักษณ์ทางเคมี (Chemical characteristics)

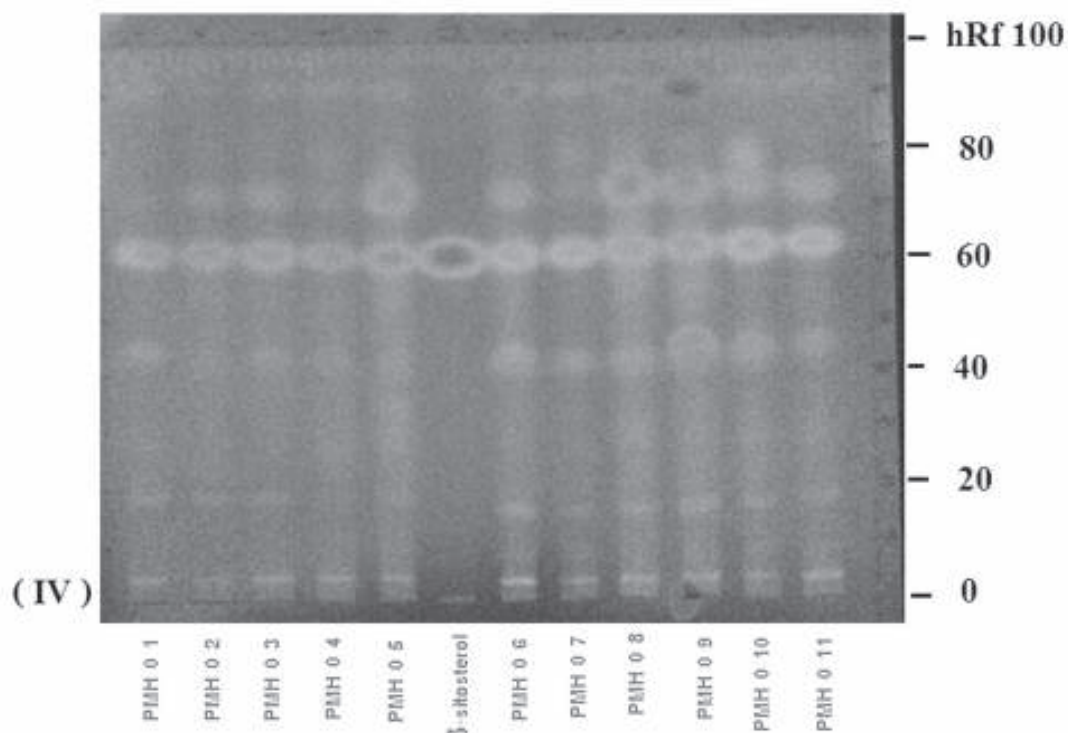
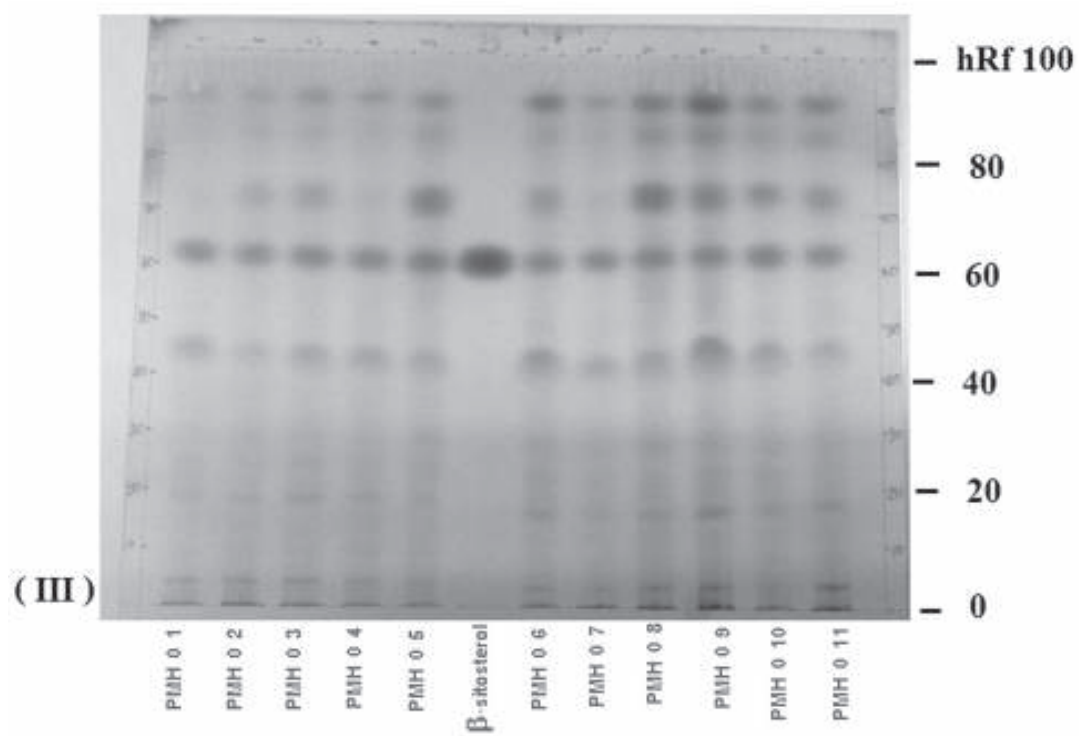
1.1 จากการตรวจสอบเบื้องต้น (Preliminary test) พบสารเคมี 5 กลุ่ม คือ steroids และ terpenoids, flavonoids, amino acids, saponins และ coumarins (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบเอกลักษณ์เบื้องต้นของสมุนไพรแก่นแฉ่ง

| กลุ่มสาร              | ผล                                                                                                                          |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| steroids & terpenoids | เกิดวงแหวนสีน้ำตาล บริเวณรอยต่อระหว่างสารละลาย และสารละลายชั้นบนเป็น สีเขียว ในสารสกัดคลอโรฟอร์ม แสดงว่าพบสารกลุ่ม steroids |
| flavonoids            | สารละลายเปลี่ยนเป็นสีแดง-ชมพูในสารสกัดคลอโรฟอร์ม แสดงว่าพบสารกลุ่ม flavonoids                                               |
| amino acids           | สารละลายมีสีม่วงในสารสกัดเอทานอล แสดงว่าพบสารกลุ่ม amino acids                                                              |
| saponins              | พบฟองสูงกว่า 1 เซนติเมตร นานเกิน 30 นาที ในสารสกัดน้ำ แสดงว่าพบสารกลุ่ม saponins                                            |
| coumarins             | พบสารเรืองแสงสีเขียวอมฟ้า บนกระดาษกรอง แสดงว่าพบสารกลุ่ม coumarins                                                          |

1.2 จากการตรวจสอบเพื่อยืนยันผล (Confirmatory test) ด้วยวิธี TLC เพื่อหา TLC fingerprints โดยเมื่อนำสารสกัดคลอโรฟอร์มของแก่นแฉ่งและสารเทียบคือ สารละลายมาตรฐาน  $\beta$ -sitosterol ความเข้มข้น 1.25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร streak ลงบน TLC plate ชนิด silica gel 60 F254 ใช้ developing solvent คือ n-hexane: dichloromethane: methanol อัตราส่วน 35:60:5 ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 นาโนเมตร พบลักษณะ chromatogram ดังภาพที่ 8 (I) และเมื่อนำไปตรวจสอบภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตร พบลักษณะ chromatogram ดังภาพที่ 8 (II) จากนั้นนำมาฉีดพ่นด้วยสารละลาย anisaldehyde-sulfuric acid ให้ความร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที พบลักษณะของ chromatogram ดังภาพที่ 8 (III) และเมื่อนำกลับไปตรวจสอบภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตรอีกครั้ง พบลักษณะ chromatogram ดังภาพที่ 8 (IV) พบว่าตัวอย่างแก่นแฉ่งจากแต่ละแหล่งมีองค์ประกอบบางอย่างที่แตกต่างกัน แต่องค์ประกอบที่ทุกตัวอย่างเหมือนกัน คือ spot ของสารที่บ่งแสงที่มีค่า  $R_f$  อยู่ในช่วง 78-80 ดังภาพที่ 8 (I) และ spot ของสารเรืองแสงสีแดง และสารเรืองแสงสีฟ้า ที่มีค่า  $R_f$  อยู่ในช่วง 18-20 และ 78-80 ตามลำดับ ดังภาพที่ 8 (II) spot ของสารสีน้ำตาล สีม่วง น้ำตาล สีน้ำเงินเขียว สีม่วงเข้ม และสีน้ำเงินเทา ที่มีค่า  $R_f$  อยู่ในช่วง 2-4, 18-20, 43-48, 62-66 และ 90-92 ตามลำดับ ดังภาพที่ 8 (III) และ spot ของสารสีขาว สีชมพูน้ำตาล สีชมพู สีน้ำตาลขาว สีชมพูม่วง และสีน้ำตาล ที่มีค่า  $R_f$  อยู่ในช่วง 2-4, 18-20, 43-48, 62-66, 71-77 และ 90-92 ดังภาพที่ 8 (IV) ซึ่ง spot ของสารที่มีค่า  $R_f$  อยู่ในช่วง 62-66 ก็คือสาร  $\beta$ -sitosterol เนื่องจากมีลักษณะสี และค่า  $R_f$  ของ spot ตรงกับสารเทียบ  $\beta$ -sitosterol (ภาพที่ 8 (III)-8 (IV)) และ (ตารางที่ 4)





ภาพที่ 8 TLC chromatogram ของสารสกัดคลอโรฟอร์มของแก่นแฉะ

ตารางที่ 4 ค่า hRf ขององค์ประกอบต่างๆ จาก TLC chromatogram ของสารสกัดคลอโรฟอร์มของแก่นแฉะ โดยใช้ developing solvent คือ n-hexane: dichloromethane: methanol (35:60:5)

| จุด ค่า hRf            |       | การตรวจสอบ |                   |                |                 |
|------------------------|-------|------------|-------------------|----------------|-----------------|
|                        |       | A          | B                 | C              | D               |
| 1                      | 0-1   | -          | เรืองแสงสีฟ้า-แดง | สีน้ำตาล       | สีน้ำตาล        |
| 2                      | 2-4   | -          | เรืองแสงสีแดง     | สีม่วงน้ำตาล   | สีขาว           |
| 3                      | 8-10  | -          | เรืองแสงสีแดง     | -              | -               |
| 4                      | 18-20 | -          | เรืองแสงสีแดง     | สีม่วงน้ำตาล   | สีชมพูน้ำตาล    |
| 5                      | 25-28 | -          | เรืองแสงสีน้ำเงิน | -              | -               |
| 6                      | 28-32 | -          | -                 | สีม่วงเทา      | -               |
| 7                      | 35-38 | -          | เรืองแสงสีน้ำเงิน | -              | -               |
| 8                      | 43-48 | -          | -                 | สีน้ำเงินเขียว | สีชมพู          |
| 9                      | 62-66 | -          | -                 | สีม่วงเข้ม     | สีน้ำตาลขาว     |
| ( $\beta$ -sitosterol) |       |            |                   |                |                 |
| 10                     | 71-77 | -          | -                 | สีม่วงน้ำเงิน  | สีชมพูม่วง      |
| 11                     | 78-80 | ทึบแสง     | เรืองแสงสีฟ้า     | -              | เรืองแสงสีเขียว |
| 12                     | 82-83 | -          | เรืองแสงสีแดง     | -              | -               |
| 13                     | 85-87 | -          | -                 | สีน้ำเงินเทา   | -               |
| 14                     | 88-89 | -          | เรืองแสงสีแดง     | -              | -               |
| 15                     | 90-92 | -          | เรืองแสงสีแดง     | สีน้ำเงินเทา   | สีน้ำตาล        |

- การตรวจสอบ A    ตรวจสอบภายใต้แสง UV 254 นาโนเมตร
- B    ตรวจสอบภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตร
- C    ฉีดพ่นด้วยสารละลาย anisaldehyde-sulfuric acid ให้ความร้อนที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที
- D    นำกลับมาตรวจสอบภายใต้แสง UV 365 นาโนเมตร

2. การศึกษาข้อกำหนดทางเคมีกายภาพ

จากการทดสอบตัวอย่างแก่นแฉะ 12 ตัวอย่าง พบว่าปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอล แอ้วรวม และค่าที่ไม่ละลายในกรด คิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w) ในช่วง 4.86-8.66, 6.39-14.81, 2.26-4.19 และ 0.055-0.185 และมีค่าเฉลี่ยคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก (%w/w) เท่ากับ  $6.58 \pm 1.25$ ,  $10.77 \pm 2.31$ ,  $3.78 \pm 1.26$ ,  $3.14 \pm 0.56$  และ  $0.092 \pm 0.035$  ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่มีคุณภาพดีที่สุดในแต่ละการทดสอบ ได้แก่ ตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นต่ำสุดคือตัวอย่าง PMH 03 ซึ่งเป็น authentic sample ตัวอย่างที่มีปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอลสูงสุดคือตัวอย่าง PMH 06 ซึ่งซื้อจากร้านจำหน่ายเครื่องยาสมุนไพร ในจังหวัดอุทัยธานี ส่วนตัวอย่างที่มีปริมาณแอ้วรวมต่ำที่สุดคือตัวอย่าง PMH 02 ซึ่งเป็น authentic sample และตัวอย่างที่มีปริมาณค่าที่ไม่ละลายในกรดต่ำสุดคือ ตัวอย่าง PMH 08 ซึ่งซื้อจากร้านจำหน่ายเครื่องยาสมุนไพร ในจังหวัดพิษณุโลก (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการศึกษาปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด

| ตัวอย่าง  | ความชื้น<br>(% w/w)<br>(mean ± SD) | สารสกัดด้วยน้ำ<br>(% w/w)<br>(mean ± SD) | สารสกัดด้วยเอทานอล<br>(% w/w)<br>(mean ± SD) | เถ้ารวม<br>(% w/w)<br>(mean ± SD) | เถ้าที่ไม่ละลาย<br>ในกรด(%w/w)<br>(mean ± SD) |
|-----------|------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------------------|
| PMH 01    | 8.12 ± 0.02                        | 10.63 ± 0.04                             | 4.60 ± 0.05                                  | 2.62 ± 0.01                       | 0.085 ± 0.00                                  |
| PMH 02    | 7.20 ± 0.16                        | 8.68 ± 0.03                              | 3.37 ± 0.15                                  | 2.26 ± 0.03                       | 0.130 ± 0.00                                  |
| PMH 03    | 4.86 ± 0.04                        | 11.83 ± 0.03                             | 5.14 ± 0.04                                  | 2.57 ± 0.01                       | 0.085 ± 0.00                                  |
| PMH 04    | 6.61 ± 0.00                        | 9.77 ± 0.07                              | 3.20 ± 0.11                                  | 3.37 ± 0.01                       | 0.090 ± 0.00                                  |
| PMH 05    | 5.73 ± 0.01                        | 6.39 ± 0.17                              | 1.85 ± 0.01                                  | 3.00 ± 0.04                       | 0.080 ± 0.00                                  |
| PMH 06    | 5.85 ± 0.02                        | 14.81 ± 0.08                             | 5.82 ± 0.10                                  | 3.75 ± 0.04                       | 0.065 ± 0.00                                  |
| PMH 07    | 7.04 ± 0.00                        | 9.20 ± 0.00                              | 2.48 ± 0.05                                  | 3.41 ± 0.00                       | 0.080 ± 0.00                                  |
| PMH 08    | 5.39 ± 0.08                        | 10.69 ± 0.09                             | 3.05 ± 0.07                                  | 3.06 ± 0.00                       | 0.055 ± 0.00                                  |
| PMH 09    | 5.81 ± 0.08                        | 13.62 ± 0.00                             | 4.78 ± 0.02                                  | 4.19 ± 0.13                       | 0.095 ± 0.00                                  |
| PMH 10    | 8.66 ± 0.00                        | 10.93 ± 0.06                             | 2.87 ± 0.05                                  | 3.06 ± 0.09                       | 0.070 ± 0.00                                  |
| PMH 11    | 8.20 ± 0.06                        | 12.98 ± 0.11                             | 5.15 ± 0.06                                  | 2.75 ± 0.06                       | 0.080 ± 0.00                                  |
| PMH 12    | 5.54 ± 0.02                        | 9.74 ± 0.04                              | 3.03 ± 0.08                                  | 3.67 ± 0.01                       | 0.185 ± 0.00                                  |
| Mean ± SD | 6.58 ± 1.25                        | 10.77 ± 2.31                             | 3.78 ± 1.26                                  | 3.14 ± 0.56                       | 0.092 ± 0.035                                 |

ซึ่งจากข้อมูลปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล ปริมาณเถ้ารวม และปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรดที่ได้ หากนำไปกำหนดเป็นเกณฑ์มาตรฐานตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ปริมาณความชื้น ปริมาณเถ้ารวม ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด จะใช้ค่าเฉลี่ยบวกด้วย 10% เนื่องจากเกณฑ์กำหนดระบุว่าต้องมีปริมาณ “ไม่เกิน” ส่วนปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ และปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล จะใช้ค่าเฉลี่ยลบด้วย 10% เนื่องจากเกณฑ์กำหนดระบุว่า ต้องมีปริมาณ “ไม่น้อยกว่า”<sup>(17)</sup> (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ผลการประเมินข้อกำหนดทางเคมีกายภาพของสมุนไพรแก่นาง

| รายการ                             | ไม่เกิน | ไม่น้อยกว่า |
|------------------------------------|---------|-------------|
| ปริมาณความชื้น (% w/w)             | 8       |             |
| ปริมาณเถ้ารวม (% w/w)              | 4       |             |
| ปริมาณเถ้าที่ไม่ละลายในกรด (% w/w) | 1       |             |
| ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ (% w/w)       |         | 10          |
| ปริมาณสารสกัดด้วยเอทานอล (% w/w)   |         | 3           |

## วิจารณ์

ผลจากการศึกษาในครั้งนี้ ข้อมูลเอกลักษณ์ทางเคมี จากการตรวจสอบเบื้องต้นแสดงให้เห็นว่าสมุนไพรแก่นแฉะทั้ง 12 ตัวอย่าง มีสารกลุ่ม flavonoids, amino acids, saponins และ coumarins ซึ่งยังไม่เคยมีรายงานการตรวจพบ และพบสารกลุ่ม steroids ซึ่งสอดคล้องกับผลที่เคยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ พบ  $\beta$ -sitosterol ในรากแฉะ<sup>(12)</sup> และพบ stigmasterol ในสารสกัด dichloromethane ของลำต้นแฉะ<sup>(13)</sup> แม้จะมีข้อมูลการตรวจพบ สารกลุ่ม steroids มาแล้ว แต่เป็นเพียงการศึกษาในตัวอย่างจากแหล่งเดียว โดยมุ่งหวังที่จะศึกษาชนิดของสาร และนำสารชนิดนั้น ๆ ไปศึกษาในด้านอื่น เช่น การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ แต่ไม่ได้มุ่งหวังที่จะนำข้อมูลมาใช้เป็นแนวทางในการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานแต่อย่างใด

ด้านการศึกษาข้อมูลเอกลักษณ์ทางเคมี เพื่อยืนยันผล ด้วยวิธี TLC โดยใช้  $\beta$ -sitosterol เป็นสารเทียบพบลักษณะ chromatogram เฉพาะของสารสกัดคลอโรฟอร์มของสมุนไพรแก่นแฉะอย่างชัดเจน เนื่องจากสารละลาย anisaldehyde-sulfuric acid ที่เลือกใช้ฉีดพ่นเพื่อตรวจสอบนั้น เหมาะสำหรับสารกลุ่ม steroids, prostaglandins, carbohydrates, phenol, glycosides, sapogenins และน้ำมันหอมระเหย จะให้สีม่วงแดง สีแดงอิฐ สีน้ำเงิน เมื่อตรวจสอบภายใต้แสงธรรมชาติ และเรืองแสงสีต่าง ๆ เมื่อตรวจสอบภายใต้แสงอัลตราไวโอเลตความยาวคลื่น 365 นาโนเมตร<sup>(15)</sup>

การศึกษาคูสมบัติทางเคมีกายภาพของสมุนไพรโดยการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอล เอ้ารวม และเอ้าที่ไม่ละลายในกรด เป็นการประเมินคุณภาพตามหลักสากล โดยการทดสอบหาปริมาณความชื้นของสมุนไพร ซึ่งปริมาณความชื้นไม่ควรเกิน 10% ยกเว้นสมุนไพรบางชนิดจะมีการกำหนดไว้ตามความเหมาะสม ซึ่งจากการศึกษาพบปริมาณความชื้นของสมุนไพรแก่นแฉะอยู่ในช่วง 4.86 – 8.66% หากสมุนไพรมีความชื้นสูงจะเป็นผลให้สมุนไพรมีคุณภาพต่ำและเสื่อมคุณภาพเร็ว การตรวจหาปริมาณสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ที่เหมาะสม เป็นการตรวจหาสารสำคัญเพื่อควบคุมคุณภาพของสมุนไพร วิธีหนึ่งใช้ในกรณีที่หาวิธีเฉพาะไม่ได้ โดยทั่วไปการใช้สมุนไพรตามภูมิปัญญาดั้งเดิม มักใช้ต้มเอาน้ำดื่มหรือดองเหล้ารับประทาน ดังนั้นในการศึกษานี้จึงตรวจหาปริมาณสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอล ส่วนการทดสอบความบริสุทธิ์ของสมุนไพรว่ามีสารเจือปนอยู่มากน้อยเพียงใด ทำโดยการหาปริมาณเอ้า ซึ่งเป็นสิ่งที่คงเหลืออยู่หลังจากการเผาไหม้อย่างสมบูรณ์ เอ้าของพืชมีลักษณะเฉพาะ สามารถละลายได้ดีในกรดเกลือสิ่งที่ไม่ละลายในกรดเกลือคือ ทราหหรือหิน โดยปริมาณเอ้ารวมเป็นปริมาณเอ้าที่เกิดจากเนื้อเยื่อของสมุนไพร (physiological ash) และอาจเกิดจากสิ่งเจือปนต่าง ๆ (non physiological ash) เช่น ดิน ทราห เป็นต้น โดยทั่วไปปริมาณเอ้ารวมจะมีค่าอยู่ระหว่าง 1 – 20% และเอ้าที่ไม่ละลายในกรดจะมีค่าอยู่ระหว่าง 1 – 10% ยกเว้นสมุนไพรบางชนิดจะมีการกำหนดไว้ตามความเหมาะสม ซึ่งจากการศึกษาพบปริมาณเอ้า และเอ้าไม่ละลายในกรด อยู่ในช่วง 2.26 – 4.19 และ 0.055 – 0.185% ตามลำดับ

การศึกษาคูสมบัติทางเคมี เพื่อยืนยันผล ด้วยวิธี TLC อาจมีการศึกษากับสารเทียบในกลุ่ม flavonoids, amino acids, saponins และ coumarins ด้วย นอกจากนี้อาจยืนยันผลด้วยวิธีอื่น ๆ ที่สะดวกและทันสมัยกว่า เช่น วิธี High Performance Liquid Chromatography และอาจศึกษาวิธีการหาปริมาณสารสำคัญซึ่งจะทำให้ข้อมูลคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสมุนไพรแก่นแฉะมีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อนึ่งการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของวัตถุดิบสมุนไพรตามตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ยังต้องมีข้อมูลการตรวจสอบเอกลักษณ์ทางเภสัชเวท (Pharmacognostic characteristic) ร่วมด้วย ซึ่งปัจจุบันพบว่านักวิจัยที่ทำงานด้านเภสัชเวทยังมีจำนวนน้อย หากต้องการให้การจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานของวัตถุดิบสมุนไพรในประเทศไทยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรพิจารณาให้มีการพัฒนาศักยภาพนักวิจัยด้านเภสัชเวทด้วย

สรุป

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ได้ทราบข้อมูลคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของสมุนไพรแก่นจากแหล่งปลูกในจังหวัดต่าง ๆ ของประเทศ ว่ามีกลุ่มสารชนิดใดอยู่บ้าง และได้ลักษณะ TLC fingerprints ที่เป็นลักษณะเฉพาะของสมุนไพรแก่นจาก นอกจากนี้ยังได้ข้อมูลปริมาณความชื้น ปริมาณสารสกัดด้วยน้ำ สารสกัดด้วยเอทานอล เอ็กตรัม และเอ็กที่ไม่ละลายในกรด ซึ่งหากเสนอข้อมูลทั้งหมดโดยละเอียดต่อคณะกรรมการจัดทำตำรายา ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะกรรมการฯ สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการจัดทำเป็นข้อกำหนดมาตรฐาน สำหรับการควบคุมคุณภาพของสมุนไพรแก่นจากในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย ต่อไปได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสถาบันวิจัยสมุนไพร และศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ที่ 9 นครราชสีมา ที่ได้อนุเคราะห์ จัดเตรียมตัวอย่างสมุนไพรแก่นจากบดละเอียดให้ท่าน ผู้ทรงคุณวุฒิปราชญ์ ขวลิขิตารัง สำนักจัดการความรู้ และเทคโนโลยีวิทยาศาสตร์การแพทย์ นายสังคม วิทยานันท์ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณะ ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข ดร.กรวิภา จารุพันธ์ เกษัชกรชำนาญการพิเศษ สำนักยาและวัตถุเสพติด รวมทั้งเครือข่ายนักวิจัยภายใต้โครงการ “การพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่น” ทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ ช่วยให้โครงการวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. แผนพัฒนาสุขภาพแห่งชาติในช่วงแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 พ.ศ. 2550-2554. [ออนไลน์]. 2550; [สืบค้น 18 พ.ย. 2558]; [88 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://bps.ops.moph.go.th/Plan/plan10-50.pdf>
2. คณะอนุกรรมการพัฒนายาแผนยาหลักแห่งชาติ. คู่มือการผลิตและประกันคุณภาพเภสัชตำรับโรงพยาบาลจากสมุนไพรในบัญชียาหลักแห่งชาติ พุทธศักราช 2555. นนทบุรี: สำนักยา สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข; 2556.
3. นันทนา สิทธิชัย. มาตรฐานของสมุนไพรในตำรามาตรฐานยาสมุนไพรไทย. ว สมุนไพร [ออนไลน์]. 2547; [สืบค้น 18 พ.ย. 2558]; 11(1): [12 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://www.medplant.mahidol.ac.th/publish/journal/ebooks/j11\(1\)21-32.pdf](http://www.medplant.mahidol.ac.th/publish/journal/ebooks/j11(1)21-32.pdf)
4. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. I. 2<sup>nd</sup> ed. Appendices 4.15 Loss on drying. Bangkok: Prachachon; 1998. p. 123-4.
5. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. II. 2<sup>nd</sup> ed. Appendices 7.6 Acid-insoluble ash, 7.7 Total ash and 7.12 Extractives. Bangkok: Prachachon; 2000. p. 108, 141, 142.
6. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia. Supplement 2004. Bangkok: Prachachon; 2004.
7. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia Vol. III. Bangkok: Prachachon; 2009.
8. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia. Supplement 2011. Bangkok: Prachachon; 2011.
9. Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. Thai herbal pharmacopoeia. Vol. IV. Bangkok: Prachachon; 2014.

10. จิราณุ มิ่งเมือง. แนวทางการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์จากสมุนไพร. ในการเสวนาเรื่อง การพัฒนาผู้ผลิตและผลิตภัณฑ์สมุนไพรระดับชุมชนสู่สากล. สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 18 พ.ย. 2558]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://www.agriman.doe.go.th/home/news2/Samonpai/06\\_ji.pdf](http://www.agriman.doe.go.th/home/news2/Samonpai/06_ji.pdf)
11. อุดม แก้วสุวรรณ, สมร มณีเนตร, ประสงค์ สระเพิ่มพูน, ณรงค์ ทองดี และสุดใจ วรเลข. แฉะพันธุ์ไม้ถิ่นหายในสยาม: กำลังถูกลืม. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 2 มิ.ย. 2558]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch53/group04/udom/udom.html>
12. นวรัตน์ จิตเจน. การศึกษาทางพฤกษเคมีของรากแฉะ. [วิทยานิพนธ์เภสัชศาสตรมหาบัณฑิต]. สาขาเภสัชพฤกษศาสตร์, คณะเภสัชศาสตร์. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2553.
13. สารต้านอนุมูลอิสระจากพืชสมุนไพร. [งานวิจัย]. ชลบุรี: คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา; 2547.
14. Beta-sitosterol overview information. [online]. 2015; [cited 2015 Aug 26 ]; [1 screen]. Available from: URL: <http://www.webmd.com/vitamins-supplements/ingredientmono-939-beta-sitosterol.aspx?activeingredientid=939&activeingredientname=beta-sitosterol>
15. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, อุทัย โสณะพันธุ์ และประไพ วงศ์สินคงม่น. ทีแอลซี: วิธีอย่างง่ายในการวิเคราะห์คุณภาพเครื่องยาไทย. นนทบุรี: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข; 2551.
16. วารุณี จิรวัดนาพงศ์, สุพรรณ ภัทพรชัยวัฒน์, ภูริทัต รัตนสิริ และนิธิตา พลโคตร. การอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง การควบคุมคุณภาพและการจัดทำข้อกำหนดมาตรฐานทางเคมีของสมุนไพร ภายใต้โครงการถ่ายทอดองค์ความรู้ด้านการจัดทำมาตรฐานของสมุนไพร ในโครงการพัฒนาศักยภาพของสมุนไพรที่มีการใช้ในท้องถิ่น. นนทบุรี: สถาบันวิจัยสมุนไพร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2555.
17. เย็นจิตร เตชะดำรงสิน, ดร.ณ เพ็ชรพลาย. การศึกษาลักษณะทางเคมีและกายภาพของรากแฝกหอมในท้องตลาด. [ออนไลน์]. 2548. [สืบค้น 26 ส.ค. 2558]; [17 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://budgetitc.dmssc.moph.go.th/research/pdf/200552.pdf>

Physicochemical Properties of

*Maerua siamensis* (Kurz) Pax Heartwood

Sirada Pongmuangmul   Jedsada Katosod   Wisitsak Wuttiadirek  
and Sangkom Vittayanan

*Regional Medical Sciences Center 3 Nakhonsawan, Department of Medical Sciences, Amphoe Muang,  
Nakhonsawan 60000, Thailand.*

**ABSTRACT**   *Maerua siamensis* (Kurz) Pax is classified as a kind of medicinal plant belonging to the family Capparaceae. It is used as a diuretic, antipyretic, prevent/treatment of decayed teeth and nourishment. There is no standard requirement for quality control in Thailand. Thus, the study of physicochemical properties of *Maerua* heartwood was conducted under the research project “Development of Medicinal Plants used in Local Areas”. Twelve *Maerua* heartwood samples were collected from natural sources and medicinal plant stores in various parts of Thailand. Preliminary test indicated that steroids, flavonoids, amino acids, saponins and coumarins were found. The specific chromatogram were detected as TLC fingerprints. Physicochemical properties including moisture content, water extractive content, ethanol extractive content, total ash and acid-insoluble ash content were undertaken following the procedure designated in Thai Herbal Pharmacopoeia (THP) vol. I and II. The results were  $6.58 \pm 1.25$ ,  $10.77 \pm 2.31$ ,  $3.78 \pm 1.26$ ,  $3.14 \pm 0.56$  and  $0.092 \pm 0.035$  % w/w respectively. These data shall be used as the information for setting the standard requirements of *Maerua* heartwood in THP that useful for quality control of *Maerua* heartwood raw material and products in Thailand.

**Key words:** *Maerua siamensis* (Kurz) Pax, physicochemical properties, Thai Herbal Pharmacopoeia

# การช่วยเหลือผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง ในพื้นที่ประสบมหาอุทกภัย ปี 2554 - 2555

ปิยมาศ แจ่มศรี    ลดาพรรณ แสงคล้าย    และกรรณิกา จิตติยศรา

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**บทคัดย่อ** เหตุการณ์น้ำท่วมอย่างรุนแรงในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2554-2555 ก่อผลกระทบทำให้เกิดภาวะขาดแคลนน้ำดื่ม ประชาชนจึงเลือกบริโภคน้ำดื่มบรรจุขวด ผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในพื้นที่ประสบภัยน้ำท่วมก็มีปัญหา การปนเปื้อนสารเคมีและจุลินทรีย์ก่อโรคในแหล่งน้ำดิบ จนทำให้เกิดปัญหาด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อช่วยเหลือ ผู้ประกอบการที่ได้รับผลกระทบให้สามารถผลิตน้ำดื่มและน้ำแข็งที่สะอาดได้อย่างรวดเร็ว และเพื่อเฝ้าระวังป้องกันโรคที่อาจมา กับน้ำดื่มและน้ำแข็ง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้จัดทำโครงการช่วยเหลือผู้ประกอบการดังกล่าวในพื้นที่ประสบ ภัยน้ำท่วม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 โดยร่วมกับเจ้าหน้าที่ของสำนักงานคณะกรรมการอาหาร และยา (อย.) สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด (สสจ.) และสำนักงานเขตกรุงเทพมหานคร (กทม.) การดำเนินโครงการแบ่งเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เพื่อชี้แจงรายละเอียดของโครงการและให้ความรู้ เกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing practice, GMP) แก่ผู้ร่วมโครงการ ช่วงที่ 2 เจ้าหน้าที่ สาธารณสุขในพื้นที่ (อย. สสจ. และ กทม.) เก็บตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง จากผู้ผลิตครั้งที่ 1 และนำส่งตรวจวิเคราะห์ ที่ห้องปฏิบัติการของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร หรือศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ในพื้นที่ รายการตรวจวิเคราะห์ อ้างอิงตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิทและน้ำแข็ง ช่วงที่ 3 เจ้าหน้าที่สาธารณสุขในพื้นที่ ให้คำแนะนำในการปรับปรุงแก้ไขกระบวนการผลิตแก่ผู้ผลิตที่มีผลวิเคราะห์ไม่ผ่านมาตรฐานครั้งแรก และเก็บตัวอย่างน้ำบริโภค และน้ำแข็งซ้ำหลังการปรับปรุงแล้ว จากข้อมูลผลวิเคราะห์ตัวอย่างครั้งที่ 1 จำนวนทั้งหมด 589 ตัวอย่าง พบน้ำดื่มบรรจุขวด 510 ตัวอย่าง ไม่ผ่านมาตรฐาน 101 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 19.8 และน้ำแข็ง 79 ตัวอย่าง ไม่ผ่านมาตรฐาน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 34.2 และหลังการปรับปรุงคุณภาพ ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง พบว่ายังมีน้ำดื่มบรรจุขวดจำนวน 60 ตัวอย่าง ไม่ผ่านมาตรฐาน 19 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.7) และน้ำแข็ง 17 ตัวอย่างไม่ผ่านมาตรฐาน 9 ตัวอย่าง (ร้อยละ 52.9) อย่างไรก็ตาม มีจำนวนตัวอย่างผ่านมาตรฐานเพิ่มขึ้นจากผลวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ร้อยละ 15.4 จากการดำเนินโครงการ ผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่ม บรรจุขวดและน้ำแข็งสามารถดำเนินธุรกิจได้อย่างต่อเนื่องในช่วงหลังน้ำลด จึงอาจกล่าวได้ว่า โครงการนี้มีส่วนช่วยผู้ประกอบการ ที่ได้รับผลกระทบจากอุทกภัยให้กลับฟื้นตัวได้อย่างรวดเร็ว และยังเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้มือน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง ที่สะอาดและปลอดภัยอีกด้วย

## บทนำ

ในปี พ.ศ. 2554-2555 เริ่มตั้งแต่ปลายเดือนกรกฎาคม 2554 และสิ้นสุดประมาณกลางเดือนมกราคม พ.ศ. 2555 ประเทศไทยประสบวิกฤตภัยพิบัติน้ำท่วมอย่างรุนแรง ส่งผลกระทบการดำรงชีวิตของประชาชนที่อาศัยอยู่บริเวณลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาและลุ่มแม่น้ำโขง มีราษฎรได้รับผลกระทบกว่า 12.8 ล้านคน ธนาคารโลกประเมินมูลค่าความเสียหายจากมหาอุทกภัยครั้งนี้สูงถึง 1.44 ล้านล้านบาท และจัดให้เป็นภัยพิบัติที่สร้างความเสียหายมากที่สุดเป็นอันดับสี่ของโลก<sup>(1)</sup> รัฐบาลต้องสูญเสียทรัพยากรจำนวนมากเมื่อเกิดเหตุการณ์วิกฤตหรือเกิดภัยพิบัติแต่ละครั้ง ระบบสาธารณสุขและบ้านเรือนของประชาชนในพื้นที่ส่วนใหญ่จะได้รับความเสียหาย อาหารและน้ำเกิดขาดแคลน ทำให้วิถีการดำรงชีวิตเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ยากลำบากมากขึ้น การเกิดภัยพิบัติเป็นเวลานานและถ้ารัฐบาลมีระบบการบริหารจัดการไม่ดีพอ จะทำให้มีโอกาสเกิดโรคภัยต่างๆ จากการบริโภคน้ำดื่มและน้ำแข็งที่อาจมีการปนเปื้อนสารเคมีและจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เพราะเป็นช่วงที่น้ำดื่ม น้ำใช้ขาดแคลน น้ำบริโภคบรรจุขวดเป็นสิ่งทดแทนน้ำดื่มที่นิยมกันมากในช่วงเกิดอุทกภัย แต่มีผู้ประกอบการผลิตน้ำบริโภคบรรจุขวดและน้ำแข็งในบริเวณพื้นที่ประสบภัยน้ำท่วมได้รับผลกระทบอย่างมาก จนเกิดปัญหาด้านคุณภาพของการผลิต เนื่องจากน้ำดิบมีการปนเปื้อนมีผลทำให้ผู้บริโภคเกิดอันตรายจากสารเคมีปนเปื้อนและจากจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารได้หน่วยงานภาครัฐได้พยายามช่วยเหลือให้ผู้ประกอบการธุรกิจต่างๆ สามารถดำเนินธุรกิจได้อย่างต่อเนื่องหรือกลับมาฟื้นตัวสามารถผลิตน้ำบริโภคบรรจุขวดและน้ำแข็งที่สะอาดปลอดภัยต่อการบริโภคได้เร็วขึ้น กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์จึงได้จัดทำโครงการ “ช่วยเหลือผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในพื้นที่ประสบภัยน้ำท่วม” ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2554 ถึงเดือนกันยายน 2555 เพื่อช่วยเหลือผู้ประกอบการที่ได้รับผลกระทบจากน้ำท่วมสถานที่ผลิตหรือบริเวณโดยรอบ การดำเนินโครงการแบ่งออกเป็น 3 ช่วง คือช่วงที่ 1 จัดอบรมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การช่วยเหลือผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในพื้นที่ประสบภัยน้ำท่วม ประจำปีงบประมาณ 2555” ช่วงที่ 2 ตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งครั้งที่ 1 และช่วงที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานเจ้าหน้าที่สาธารณสุขในพื้นที่จะหาคำแนะนำเพื่อนำไปใช้ปรับปรุงแก้ไขกระบวนการผลิต และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ซ้ำ จุดประสงค์ของการจัดอบรมเพื่อชี้แจงรายละเอียดของโครงการ และให้ความรู้เกี่ยวกับหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต (Good Manufacturing practice, GMP)<sup>(2)</sup> แก่ผู้ประกอบการ โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักคุณภาพและความปลอดภัยร่วมกับศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (ศวก.) ที่ 2 พิษณุโลก ศวก.ที่ 3 นครสวรรค์ ศวก.ที่ 6 ชลบุรี และ ศวก.ที่ 5 สมุทรสงคราม รับผิดชอบเรื่องการจัดอบรม และการตรวจวิเคราะห์ทั้ง 2 ครั้ง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง น้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท และน้ำแข็ง เจ้าหน้าที่ของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด (สสจ.) และสำนักงานเขตกรุงเทพมหานคร (กทม.) รับผิดชอบการเก็บตัวอย่างและให้คำแนะนำเรื่องกระบวนการผลิต ซึ่งเป็นการทำงานแบบบูรณาการ ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากการสนับสนุนในโครงการนี้ทำให้ผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งทราบถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ว่าได้รับผลกระทบของการเกิดภัยพิบัติน้ำท่วมหรือไม่ หากพบว่าผลิตภัณฑ์ไม่ได้มาตรฐานต้องดำเนินการปรับปรุงก่อนดำเนินการผลิต ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านมาตรฐานผู้ประกอบการสามารถดำเนินธุรกิจได้อย่างต่อเนื่องในช่วงเกิดภัยพิบัติน้ำท่วม หรือช่วงหลังน้ำลด นอกจากนี้ ผลวิเคราะห์ที่ผ่านมาตรฐานจะทำให้ประชาชนมีความมั่นใจในการบริโภคน้ำดื่ม และน้ำแข็งที่สะอาด ปลอดภัย ทั้งยังเป็นการเฝ้าระวังและป้องกันการเกิดโรคทางเดินอาหารด้วย

## วัสดุและวิธีการ

กิจกรรมในการดำเนินงานมี 3 ขั้นตอน คือ

### 1. การจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ

ได้จัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง “การช่วยเหลือผู้ประกอบการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในพื้นที่ประสบภัยน้ำท่วม ประจำปีงบประมาณ 2555” จำนวน 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ในวันที่ 2 ธันวาคม 2554 ณ จังหวัดนครสวรรค์ และครั้งที่ 2 ในวันที่ 25 มกราคม 2555 จัดที่กรุงเทพมหานคร ผู้เข้าร่วมการอบรมประกอบด้วย ผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งรวม 15 จังหวัด คือ จังหวัดพิจิตร นครสวรรค์ อุทัยธานี ชัยนาท สิงห์บุรี ลพบุรี นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สระบุรี ปราจีนบุรี นครนายก นครปฐม สมุทรสาคร และกรุงเทพมหานคร และเจ้าหน้าที่สาธารณสุขจังหวัด (สสจ.) สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) และสำนักงานเขตกรุงเทพมหานคร ในพื้นที่รับผิดชอบเพื่อรับฟังการชี้แจงรายละเอียดของโครงการฯ และฟังการบรรยายเรื่องเทคนิคการใช้ชุดทดสอบโคลิฟอร์มในน้ำและน้ำแข็งและชุดทดสอบความกระด้างของน้ำ รวมทั้งเรื่องหลักเกณฑ์วิธีการที่ดีในการผลิตน้ำบรรจุขวดและน้ำแข็ง (GMP) เพื่อให้ผู้ประกอบการได้นำชุดทดสอบไปใช้ตรวจผลิตภัณฑ์ด้วยตนเอง และนำความรู้เกี่ยวกับ GMP ไปใช้เฝ้าระวังคุณภาพเบื้องต้นในการผลิตนอกจากนี้ ได้สำรวจข้อมูลผลกระทบจากภาวะน้ำท่วมต่อกระบวนการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งในหัวข้อสถานประกอบการถูกน้ำท่วมหรือไม่ สามารถผลิตและจำหน่ายได้หรือไม่ รวมทั้งแหล่งน้ำดิบที่ใช้ในการผลิตและกระบวนการที่ใช้ปรับคุณภาพน้ำโดยให้ผู้ประกอบการที่เข้าร่วมอบรมจำนวน 163 คน กรอกข้อมูลในแบบสำรวจในวันอบรม และได้ส่งแบบสำรวจให้เจ้าหน้าที่สาธารณสุขจังหวัดส่งต่อไปยังผู้ประกอบการที่ไม่ได้เข้าร่วมอบรมแต่มีความประสงค์เข้าร่วมโครงการด้วย

### 2. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งครั้งที่ 1

2.1 ผู้ดำเนินโครงการประชุมประสานแผนการเก็บตัวอย่างร่วมกับเจ้าหน้าที่จาก อย. สสจ. และ กทม. ซึ่งเป็นผู้ดำเนินการเก็บตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งจากสถานประกอบการในพื้นที่ประสบอุทกภัยจำนวนทั้งหมด 18 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดที่มีผู้ประกอบการเข้ารับการอบรม 15 จังหวัด และเพิ่มอีก 3 จังหวัดคือ พิษณุโลก อ่างทอง และสุพรรณบุรี รวมทั้งสิ้น 589 ตัวอย่าง ตัวอย่างถูกนำส่งไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพที่ห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์

2.2 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ดำเนินการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งตรวจวิเคราะห์ทั้งด้านฟิสิกส์ เคมี และจุลินทรีย์ ตามเกณฑ์มาตรฐานดังนี้

- น้ำดื่มบรรจุขวด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) เรื่อง มาตรฐานน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท<sup>(3)</sup> และฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2534) เรื่องน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ 2)<sup>(4)</sup>
- น้ำแข็ง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ. 2527) เรื่องน้ำแข็ง<sup>(5)</sup> และฉบับที่ 137 (พ.ศ. 2534) เรื่องน้ำแข็ง (ฉบับที่ 2)<sup>(6)</sup>

### วิธีวิเคราะห์

ด้านฟิสิกส์และเคมี 9 รายการ

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 4500-H<sup>+</sup>B
- ความขุ่น ตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความขุ่น ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 2130 B
- ความกระด้างทั้งหมด (TH) หมายถึงผลรวมของแคลเซียมและแมกนีเซียม คำนวณเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Titration ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 2340 C

- ปริมาณสารทั้งหมด (TS) เป็นผลรวมของสารแขวนลอยและสารที่ละลายน้ำทั้งหมดมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Gravimetric ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 2540 B
  - คลอไรด์ (Cl) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Ion Chromatography (IC) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 4110 B
  - ไนเตรต (NO<sub>3</sub>) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Ion Chromatography (IC) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 4110 B
  - ฟลูออไรด์ (F) ตรวจวัดด้วยเครื่อง Ion Chromatography (IC) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 4110 B
  - เหล็ก (Fe) ใช้เทคนิค Atomic Absorption Spectrophotometer (Flame) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 3111 B
  - ตะกั่ว (Pb) ใช้เทคนิค Atomic Absorption Spectrophotometer (Graphite) ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 3113 B
- ด้านจุลินทรีย์ 5 รายการ
- โคลิฟอร์ม (Coliforms) ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี เอ็ม พี เอ็น (MPN) โดยใช้ตาราง MPN ที่กำหนดหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 หลอด แต่ละหลอดใส่ตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร รายงานผลเป็นค่า MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 9221 A-C
  - อี. โคไล (*E. coli*) ตรวจหาด้วยวิธีต่อเนื่องจากการตรวจโคลิฟอร์ม ตามเอกสารอ้างอิง APHA, 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 9221 A-C, E, G, 9225 C-D รายงานผลว่าพบหรือไม่พบต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร
  - จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค หรือเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ตรวจวิเคราะห์แบบเชิงคุณภาพด้วยวิธี Membrane filtration รายงานผลว่าพบหรือไม่พบ ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ได้แก่
    - สแตปฟีโลคอคคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus* หรือ *S. aureus*) ตามเอกสารอ้างอิง APHA 2012<sup>(7)</sup> ข้อ 9213 B และ BAM 2001, Chapter 12<sup>(8)</sup>
    - แซลโมเนลลา (*Salmonella* spp.) ตามเอกสาร ISO 19250:2010<sup>(9)</sup>
    - คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์ (*Clostridium perfringens* หรือ *C. perfringens*) ตามเอกสารอ้างอิง EA UK, 2010<sup>(10)</sup>

2.3 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รายงานผลตรวจวิเคราะห์น้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งให้ อย. สสจ. และ กทม. เพื่อแจ้งผลให้ผู้ประกอบการทราบต่อไป ถ้าผลผ่านมาตรฐานผู้ประกอบการสามารถดำเนินการผลิตต่อไปได้ แต่ถ้าผลไม่ผ่านเจ้าหน้าที่สาธารณสุขในพื้นที่จะให้คำแนะนำด้าน GMP เพื่อให้ผู้ประกอบการปรับปรุง/แก้ไขกระบวนการผลิต

### 3. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งครั้งที่ 2 (หลังจากผู้ประกอบการปรับปรุง/แก้ไขกระบวนการผลิต)

3.1 เจ้าหน้าที่ของ อย. สสจ. และ กทม. เก็บตัวอย่างซ้ำเฉพาะที่ไม่ผ่านมาตรฐานในครั้งที่ 1 จากสถานที่ผลิตส่งตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 77 ตัวอย่าง จาก 14 จังหวัด โดยมี 6 จังหวัด คือ นครนายก อ่างทอง พิจิตร สมุทรสาคร สุพรรณบุรี และพิษณุโลก ที่ส่งตัวอย่างเท่ากับจำนวนที่ไม่ผ่านมาตรฐานในครั้งแรก ส่วนอีก 8 จังหวัด ส่งตัวอย่างน้อยกว่าจำนวนที่ไม่ผ่านมาตรฐานในครั้งแรก และมี 4 จังหวัดไม่ได้ส่งตัวอย่าง

3.2 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ดำเนินการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งตามเกณฑ์มาตรฐานเช่นเดียวกับ ข้อ 2.2 และรายงานผลให้ อย. สสจ. และ กทม. เพื่อแจ้งผลให้ผู้ประกอบการทราบต่อไป

ผล

1. การจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ และผลสำรวจข้อมูลผลกระทบจากอุทกภัย

มีผู้ประกอบการเข้าร่วมอบรมรวมทั้งสิ้น 163 คนจาก 15 จังหวัดใน 18 จังหวัดที่ได้รับผลกระทบจากสถานการณ์อุทกภัยผู้เข้าร่วมอบรมมาจากสถานที่ผลิต 139 แห่ง ประกอบด้วย ผู้ผลิตน้ำดื่มบรรจุขวด 128 แห่ง ผู้ผลิตน้ำแข็ง 10 แห่ง และผู้ผลิตทั้งน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง 1 แห่ง ผู้ประกอบการที่เข้าร่วมอบรมได้ตอบแบบสำรวจข้อมูลผลกระทบจากอุทกภัย จำนวน 112 ฉบับ คิดเป็น 68.7% ของจำนวนแบบสำรวจที่แจกในวันอบรม และได้รับแบบสำรวจเพิ่มเติมผ่านเจ้าหน้าที่ สสจ. จากผู้ประกอบการที่ไม่ได้เข้าอบรมแต่เข้าร่วมโครงการจำนวน 181 ฉบับ รวมได้รับแบบสำรวจทั้งสิ้น 293 ฉบับ จาก 18 จังหวัด ข้อมูลจากแบบสำรวจพบ เป็นผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวด 262 แห่ง ผลิตน้ำแข็ง 27 แห่ง และผลิตทั้งน้ำดื่มฯ และน้ำแข็ง 3 แห่ง และไม่ระบุข้อมูล 1 แห่ง มีสถานประกอบการที่อยู่ในแหล่งน้ำท่วม 189 แห่ง ได้รับผลกระทบจนไม่สามารถผลิตและจำหน่ายได้มีจำนวน 111 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 58.7 ในขณะที่สถานประกอบการที่ไม่ถูกน้ำท่วม 104 แห่ง ผลิตและจำหน่ายไม่ได้ 7 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 6.7 และถึงแม้จะผลิตได้แต่จำหน่ายไม่ได้มี 28 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 26.9 (ตารางที่ 1) และพบว่าแหล่งน้ำที่ใช้ในการผลิตจำแนกเป็นน้ำประปาร้อยละ 61.2 น้ำบาดาลร้อยละ 25.8 น้ำบ่อร้อยละ 6.3 น้ำคลองหรือน้ำแม่น้ำร้อยละ 2.7 และจากแหล่งอื่นๆ ร้อยละ 4

ตารางที่ 1 ผลกระทบจากอุทกภัยต่อการผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ของผู้ประกอบการ

| สภาวะของสถานที่ผลิต   | ผลกระทบต่อการผลิตและจำหน่าย |               | จำนวนแห่ง (%) |
|-----------------------|-----------------------------|---------------|---------------|
|                       | การผลิต                     | การจำหน่าย    |               |
| น้ำท่วมสถานที่ผลิต    | ผลิตไม่ได้                  | จำหน่ายไม่ได้ | 111 (58.7%)   |
|                       | ผลิตได้                     | จำหน่ายได้*   | 78 (41.3%)    |
| รวม                   |                             |               | 189           |
| น้ำไม่ท่วมสถานที่ผลิต | ผลิตไม่ได้                  | จำหน่ายไม่ได้ | 7 (6.7%)      |
|                       | ผลิตได้                     | จำหน่ายไม่ได้ | 28 (26.9%)    |
|                       | ผลิตได้                     | จำหน่ายได้*   | 69 (66.4%)    |
| รวม                   |                             |               | 104           |

\*จำหน่ายได้แต่มีปัญหา เช่น การขนส่ง แหล่งน้ำดิบขาดแคลน ฯลฯ

2. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งครั้งที่ 1

ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวด และน้ำแข็ง จำนวน 589 ตัวอย่าง เป็นน้ำดื่มบรรจุขวด 510 ตัวอย่าง พบไม่ได้มาตรฐาน 101 ตัวอย่าง คิดเป็น 19.8% สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐานเรียงตามลำดับสูงสุดคือ Coliform, pH, E. coli, TH, F, TS และ S. aureus น้ำแข็ง 79 ตัวอย่าง พบไม่ได้มาตรฐาน 27 ตัวอย่าง คิดเป็น 34.2% สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐานเรียงตามลำดับสูงสุดคือ pH, Coliform, E.coli และ S. aureus (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง ครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2

| ชนิดตัวอย่าง    | ครั้งที่ 1                        |                                   |                                     |                                    | ครั้งที่ 2                        |                                     | รวมจำนวน<br>ตัวอย่าง<br>ที่ผ่านมาตรฐาน |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------------|
|                 | จำนวน<br>ตัวอย่างที่<br>วิเคราะห์ | ตัวอย่าง<br>ที่ไม่ผ่าน<br>มาตรฐาน | จำนวน<br>ตัวอย่าง<br>ที่ผ่านมาตรฐาน | จำนวน<br>ตัวอย่างที่<br>วิเคราะห์* | ตัวอย่าง<br>ที่ไม่ผ่าน<br>มาตรฐาน | จำนวน<br>ตัวอย่างที่ผ่าน<br>มาตรฐาน |                                        |
| น้ำดื่มบรรจุขวด | 510                               | 101<br>(19.8%)                    | 409<br>(80.2%)                      | 60                                 | 19<br>(31.7%)                     | 41<br>(68.3%)                       | 450<br>(88.2%)                         |
| น้ำแข็ง         | 79                                | 27<br>(34.2%)                     | 52<br>(65.8%)                       | 17                                 | 9<br>(52.9%)                      | 8<br>(47.1%)                        | 60<br>(75.9%)                          |
| รวม             | 589                               | 128<br>(21.7%)                    | 461<br>(78.3%)                      | 77                                 | 28<br>(36.4%)                     | 49<br>(63.6%)                       | 510<br>(86.6%)                         |

\*เป็นตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐานครั้งแรกและส่งซ้ำครั้งที่ 2 หลังการปรับปรุงคุณภาพ

ตารางที่ 3 สาเหตุที่ไม่ผ่านมาตรฐานของน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง

| ชนิดตัวอย่าง | ผลการตรวจ<br>วิเคราะห์ | จำนวน<br>ตัวอย่าง<br>ทั้งหมด | จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่าน* |    |    |   |           |               |                 |
|--------------|------------------------|------------------------------|--------------------------|----|----|---|-----------|---------------|-----------------|
|              |                        |                              | pH                       | TH | TS | F | Coliforms | <i>E.coli</i> | <i>S.aureus</i> |
| น้ำดื่ม      | ครั้งที่ 1             | 510                          | 40                       | 7  | 2  | 3 | 57        | 8             | 1               |
| บรรจุขวด     | ครั้งที่ 2             | 60                           | 9                        | 1  | 0  | 0 | 10        | 1             | 0               |
| น้ำแข็ง      | ครั้งที่ 1             | 79                           | 17                       | 0  | 0  | 0 | 10        | 4             | 2               |
|              | ครั้งที่ 2             | 17                           | 7                        | 0  | 0  | 0 | 4         | 1             | 0               |

\*แต่ละตัวอย่างอาจมีผลวิเคราะห์ที่ไม่ผ่านมาตรฐานมากกว่า 1 รายการ

3. การตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งครั้งที่ 2 (หลังจากผู้ประกอบการปรับปรุง/แก้ไขกระบวนการผลิต)

ผลการตรวจวิเคราะห์น้ำดื่มบรรจุขวด และน้ำแข็ง จำนวน 77 ตัวอย่าง เป็นน้ำดื่มบรรจุขวด 60 ตัวอย่าง พบไม่ได้มาตรฐาน 19 ตัวอย่าง คิดเป็น 31.7% สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐานเรียงตามลำดับสูงสุดคือ Coliform, pH, TH และ E. coli น้ำแข็ง 17 ตัวอย่าง พบไม่ได้มาตรฐาน 9 ตัวอย่าง คิดเป็น 52.9% สาเหตุที่ไม่ได้มาตรฐานเรียงตามลำดับสูงสุดคือ pH, Coliform และ E. coli เมื่อตรวจครบ 2 ครั้ง พบตัวอย่างผ่านมาตรฐาน 510 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86.6 แบ่งเป็น น้ำดื่มบรรจุขวด 450 ตัวอย่าง และน้ำแข็ง 60 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 88.2 และ 75.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ 3)

พบว่า ทุกจังหวัดมีตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐานลดลงจังหวัดที่มีผลวิเคราะห์ผ่านมาตรฐานทุกตัวอย่างที่ส่งวิเคราะห์ครั้งที่สองมี 6 จังหวัด คือ นครนายก อ่างทอง พิจิตร สระบุรี พระนครศรีอยุธยา และนนทบุรี ขณะที่ 4 จังหวัด ยังคงมีผลวิเคราะห์ไม่ได้มาตรฐานเกินร้อยละ 50 ได้แก่ จังหวัดปราจีนบุรี พิจิตร โขงเจียม นครสวรรค์ และนครปฐม คิดเป็นร้อยละ 52.9, 66.7, 66.7 และ 69.2 ตามลำดับ จากผลดังกล่าวทำให้จังหวัดที่มีผลวิเคราะห์ผ่านมาตรฐานทุกตัวอย่างเมื่อตรวจครบสองครั้งมี 3 จังหวัดคือ นครนายก อ่างทอง และพิจิตร (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ผลการตรวจวิเคราะห์รายจังหวัด

| จังหวัด         | ครั้งที่ 1      |                                    | ครั้งที่ 2       |                                 |                                    |
|-----------------|-----------------|------------------------------------|------------------|---------------------------------|------------------------------------|
|                 | ตัวอย่างทั้งหมด | จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐาน (%) | ตัวอย่างทั้งหมด* | จำนวนตัวอย่างที่ผ่านมาตรฐาน (%) | จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐาน (%) |
| นครนายก         | 2               | 2 (100)                            | 2                | 2 (100)                         | 0                                  |
| อ่างทอง         | 31              | 4 (12.9)                           | 4                | 4 (100)                         | 0                                  |
| พิจิตร          | 10              | 1 (10.0)                           | 1                | 1 (100)                         | 0                                  |
| สระบุรี         | 11              | 2 (18.2)                           | 1                | 1 (100)                         | 0                                  |
| พระนครศรีอยุธยา | 82              | 11 (13.4)                          | 2                | 2 (100)                         | 0                                  |
| นนทบุรี         | 45              | 9 (20.0)                           | 3                | 3 (100)                         | 0                                  |
| กรุงเทพฯ        | 76              | 13 (17.1)                          | 6                | 5 (83.3)                        | 1 (16.7)                           |
| ปทุมธานี        | 100             | 11 (11.0)                          | 10               | 8 (80.0)                        | 2 (20.0)                           |
| สมุทรสาคร       | 25              | 10 (40.0)                          | 10               | 8 (80.0)                        | 2 (20.0)                           |
| สุพรรณบุรี      | 4               | 2 (50.0)                           | 2                | 1 (50.0)                        | 1 (50.0)                           |
| ปราจีนบุรี      | 56              | 19 (33.9)                          | 17               | 8 (47.1)                        | 9 (52.9)                           |
| พิษณุโลก        | 3               | 3 (100)                            | 3                | 1 (33.3)                        | 2 (66.7)                           |
| นครสวรรค์       | 16              | 12 (75.0)                          | 3                | 1 (31.3)                        | 2 (66.7)                           |
| นครปฐม          | 94              | 17 (18.1)                          | 13               | 4 (30.8)                        | 9 (69.2)                           |
| ชัยนาท          | 12              | 3 (25.0)                           | -                |                                 |                                    |
| สิงห์บุรี       | 8               | 3 (37.5)                           | -                |                                 |                                    |
| อุทัยธานี       | 8               | 3 (37.5)                           | -                |                                 |                                    |
| ลพบุรี          | 6               | 3 (50.0)                           | -                |                                 |                                    |
| รวมทั้งหมด      | 589             | 128 (21.7)                         | 77               | 49 (63.6)                       | 28 (36.4)                          |

\* จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐานครั้งแรก และส่งซ้ำครั้งที่ 2 หลังการปรับปรุงคุณภาพ  
- ไม่ได้ส่งตรวจซ้ำ

วิจารณ์

จากข้อมูลแบบสำรวจผลกระทบจากมหาอุทกภัย ในปี 2554-2555 ผู้ประกอบการนำดีมีบรรจุขวดและน้ำแข็งที่มีสถานที่ผลิตตั้งอยู่บริเวณแนวลุ่มแม่น้ำเจ้าพระยาได้รับผลกระทบทางตรงคือน้ำท่วมสถานที่ผลิตจนไม่สามารถผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่มีจำนวนมากถึงร้อยละ 58.7 ส่วนสถานที่ผลิตที่น้ำไม่ท่วม แต่ไม่สามารถผลิตและจำหน่ายมีจำนวนน้อยกว่าคือ ร้อยละ 6.7 สำหรับผลกระทบทางอ้อมคือ ไม่สามารถจำหน่ายได้เพราะมีปัญหาเรื่องการขนส่งเนื่องจากน้ำท่วมถนน คนงานไม่สามารถเดินทางมาทำงานได้ หรือลูกค้าปิดกิจการเพราะอยู่ในพื้นที่ที่น้ำท่วม นอกจากนี้ยังมีปัญหาการขาดแคลนแหล่งน้ำดิบและภาชนะบรรจุ ผลกระทบนี้สอดคล้องกับรายงานของสำนักงานสถิติแห่งชาติ<sup>(11)</sup> เรื่อง ผลกระทบจากอุทกภัยต่อสถานประกอบการอุตสาหกรรมการผลิต (โครงการสำมะโนธุรกิจและอุตสาหกรรม พ.ศ. 2555) ที่เก็บรวบรวมข้อมูลจากสถานประกอบการอุตสาหกรรมการผลิตทั่วประเทศ ที่มีคนงานตั้งแต่ 11 คนขึ้นไป ซึ่งพบว่าร้อยละ 41.1 ของสถานที่ผลิตผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มได้รับผลกระทบจากสถานการณ์น้ำท่วมในปี 2554-2555 ในจำนวนนี้ได้รับผลกระทบทางตรง ร้อยละ 11.8 และได้รับผลกระทบทางอ้อมร้อยละ 29.3

จากผลการตรวจวิเคราะห์พบสาเหตุที่ไม่ผ่านมาตรฐานเกิดจากการปนเปื้อนของปริมาณฟลูออไรด์ และปริมาณสารทั้งหมด ฟลูออไรด์ในน้ำบริโภคบรรจุขวด มีค่ามาตรฐานไม่เกิน 0.7 มิลลิกรัมต่อลิตร การรับฟลูออไรด์

จำนวนมากส่งผลให้เด็กมีความเสี่ยงฟันตกกระ และอาจมีผลต่อกระดูก ที่ผ่านมาจะพบปัญหาฟันตกกระในเขตภาคเหนือตอนบน เช่น เชียงใหม่ ลำปาง ลำพูน และทางตะวันตกของประเทศ เช่น กาญจนบุรี เพชรบุรี แต่ปัจจุบันมีรายงานพบฟันตกกระรุนแรงในหลายพื้นที่ในเขตภาคกลางและภาคใต้ เช่น สุพรรณบุรี นครปฐม และสงขลา เป็นต้น ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากแหล่งน้ำดิบที่ใช้ในการผลิต เพราะฟลูออไรด์พบได้ตามแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะน้ำบาดาล<sup>(12)</sup> ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลจากแบบสำรวจพบว่าผู้ประกอบการใช้น้ำบาดาลเป็นแหล่งน้ำดิบ ร้อยละ 25.8 และผลการวิเคราะห์ที่ตรวจพบปริมาณฟลูออไรด์เกินค่ามาตรฐาน พบเป็นน้ำดื่มบรรจุขวดที่ผลิตในจังหวัดปราจีนบุรี สุพรรณบุรี และนครปฐม ปริมาณสารทั้งหมดเป็นตัวบ่งบอกปริมาณรวมของสารต่างๆ ในน้ำที่ทำให้ทราบว่ามีน้ำนั้นบริสุทธิ์หรือมีการปนเปื้อนจากสารต่างๆ มากน้อยเพียงใด นอกจากนี้ สาเหตุสำคัญที่ทำให้ น้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งไม่ผ่านมาตรฐานคือ pH หรือที่เรียกว่าความเป็นกรดและด่าง เป็นค่าที่แสดงปริมาณหรือความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนในน้ำ ไม่ได้บอกถึงความเป็นพิษต่อร่างกายแต่บอกให้ทราบถึงประเภทสิ่งเจือปนในน้ำในรูปของสารที่ให้อนุมูลกรดหรือต่างได้ อย่างไรก็ตามค่าความเป็นกรด-ด่างนี้เป็นดัชนีที่มีประโยชน์ในการวัดคุณภาพน้ำ ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตในน้ำ และบอกถึงคุณสมบัติในการกักตัวของน้ำ<sup>(13)</sup>

ทางด้านจุลินทรีย์พบเชื้อ Coliforms และ *E. coli* โดยทั่วไป สามารถตรวจพบ Coliforms และ *E. coli* ได้ในสิ่งแวดล้อมและแหล่งน้ำธรรมชาติรวมทั้งแหล่งโสโครกและน้ำทิ้ง ซึ่งบางสายพันธุ์จัดเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารปกติ Coliforms เป็นแบคทีเรียบ่งชี้สัญลักษณ์ความสะอาด (Indicator organism)<sup>(14)</sup> ส่วนการตรวจพบ *E. coli* แสดงถึงความสกปรกของแหล่งน้ำที่อาจมีการปนเปื้อนสิ่งปนเปื้อนในกระบวนการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งซึ่งการตรวจพบ Coliforms และ *E. coli* ไม่ได้แสดงว่าจะต้องตรวจพบจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่เป็นการบอกถึงความเสี่ยงที่มีโอกาสพบจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดังนั้นผู้ผลิตต้องควบคุมคุณภาพด้านสัญลักษณ์ไม่ให้มีการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* โดยปฏิบัติตามข้อกำหนด GMP ซึ่งเป็นข้อกำหนดพื้นฐานที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต รวมทั้งการควบคุมกระบวนการผลิต และการตรวจสอบสัญลักษณ์ความสะอาดของสถานที่ตั้ง อาคารผลิต เครื่องมือเครื่องจักรและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต รวมทั้งผู้ปฏิบัติงาน เมื่อเจ้าหน้าที่สาธารณสุข (อย. สสจ. และ กทม.) ได้แนะนำเรื่อง GMP ให้ผู้ประกอบการดำเนินการแก้ไข/ปรับปรุงกระบวนการผลิต และเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ซ้ำ พบว่า น้ำดื่มบรรจุขวด และน้ำแข็ง มีคุณภาพดีขึ้นคือ มีผลวิเคราะห์ผ่านมาตรฐานร้อยละ 68.3 และ 47.1 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเจ้าหน้าที่สาธารณสุขในพื้นที่ยังคงเฝ้าระวังโดยตรวจเยี่ยมสถานประกอบการ และเก็บตัวอย่างส่งตรวจวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการอย่างสม่ำเสมอ เพื่อให้ประชาชนมั่นใจได้ว่าน้ำดื่มบรรจุขวด และน้ำแข็งมีคุณภาพและความปลอดภัย

## สรุป

การช่วยเหลือผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งโดยหน่วยงานของภาครัฐแบบบูรณาการระหว่างหน่วยงานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา สำนักงานสาธารณสุขจังหวัด และสำนักงานเขตกรุงเทพมหานคร ที่สนับสนุนการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ และการให้คำแนะนำด้าน GMP ผลจากการเก็บตัวอย่างตรวจวิเคราะห์ครั้งที่ 1 ผ่านมาตรฐาน 461 ตัวอย่างจากทั้งหมด 589 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 78.3 เป็นน้ำดื่มบรรจุขวด 409 ตัวอย่าง และน้ำแข็ง 52 ตัวอย่าง ผลที่ไม่ผ่านมาตรฐานผู้ประกอบการจะได้รับคำแนะนำกระบวนการผลิตตามข้อกำหนด GMP และเก็บตัวอย่างตรวจซ้ำ ผลการตรวจซ้ำผ่านมาตรฐานเพิ่มขึ้น 49 ตัวอย่าง เป็นน้ำดื่มบรรจุขวด 41 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10 และน้ำแข็งผ่าน 8 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 15.4 ทำให้เมื่อเสร็จสิ้นโครงการน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งมีผลการตรวจวิเคราะห์ที่ผ่านมาตรฐานรวมทั้งสิ้น 510 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 86.6 ผลลัพธ์ที่ได้มาตรฐานนอกจากจะทำให้ผู้ประกอบการสามารถดำเนินธุรกิจได้อย่างต่อเนื่องในช่วงหลังน้ำลดแล้วยังเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคให้มีน้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็งที่สะอาดและปลอดภัยอีกด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสาวทิพวรรณ นิ่งน้อย ที่ปรึกษาสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่กรุณาสับสนุนและให้คำปรึกษา ขอขอบคุณนางกัญญา พุกสุ่น และพนักงานกระทรวงสาธารณสุข ฝ่ายน้ำและสารกัมมันตรังสี นางสาวกรรณา ตีรสมิทธิ์ นายบัณฑูร พานิชกุล และพนักงานกระทรวงสาธารณสุข ฝ่ายน้ำและเครื่องดื่ม สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารที่ได้ช่วยเหลือในการตรวจวิเคราะห์ จนคณะผู้วิจัยสามารถดำเนินโครงการจนลุล่วงและสำเร็จด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

1. วิกีพีเดีย สารานุกรมเสรี. อุทกภัยในประเทศไทย พ.ศ. 2554. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 7 ก.ย. 2557]; [35 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://th.wikipedia.org/wiki/อุทกภัยในประเทศไทย\\_พ.ศ.\\_2554](http://th.wikipedia.org/wiki/อุทกภัยในประเทศไทย_พ.ศ._2554)
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 220 (พ.ศ. 2544). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 118 ตอนพิเศษ 70 ง. (ลงวันที่ 26 กรกฎาคม 2544).
3. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 98 ตอนที่ 157 (ลงวันที่ 24 กันยายน 2524).
4. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 135 (พ.ศ. 2534). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 108 ตอนที่ 61 (ลงวันที่ 2 เมษายน 2534).
5. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 78 (พ.ศ. 2527). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 101 ตอนที่ 23 (ลงวันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2527).
6. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 137 (พ.ศ. 2534). ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 108 ตอนที่ 94 (ลงวันที่ 28 พฤษภาคม 2534).
7. Rice EW, Baird RB, Eaton AD, Clesceri LS, editors. Standard method for the examination of water and wastewater. 22<sup>th</sup> ed. Washington, DC: American Public Health Association; 2012.
8. Bacteriological Analytical Manual Chapter 12 Staphylococcus aureus. [online]. 2001; [cited 2014 Dec 15]; [5 screens]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>
9. ISO 19250:2010. Water quality detection of Salmonella spp. Geneva: International Organization for Standardization; 2010
10. Environment Agency. The Microbiology of drinking water (2010) – Part 6 – Methods for the isolation and enumeration of sulphite-reducing clostridia and Clostridium perfringens by membrane filtration. [online]. 2010; [cited 2014 Dec 15]; [32 screens]. Available from: URL: [https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/316777/MoDW-6-230-apr15.pdf](https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/316777/MoDW-6-230-apr15.pdf)
11. สำนักงานสถิติแห่งชาติ. สรุปข้อมูลผลกระทบจากอุทกภัยต่อสถานประกอบการอุตสาหกรรมการผลิต (จากโครงการสำมะโนธุรกิจและอุตสาหกรรม พ.ศ. 2555). [ออนไลน์]. 2555; [สืบค้น 5 ม.ค. 2558]; [7 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://service.nso.go.th/nso/nsopublish/census/files/industry\\_flood.pdf](http://service.nso.go.th/nso/nsopublish/census/files/industry_flood.pdf)
12. ฟลูออรีน. [ออนไลน์]. 2558; [สืบค้น 19 มิ.ย. 2558]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://student.mahidol.ac.th/~u4904035/fdaily.html>
13. บทที่ 3 อุณหภูมิและความเป็นกรดและด่าง. ใน: ไพฑูรย์ หมายมั่นสมสุข. การวิเคราะห์น้ำและน้ำเสียเบื้องต้น. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 5 ส.ค. 2558]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www2.diw.go.th>
14. Department of Health. Coliform bacteria in drinking water supplies. [online]. 2011; [cited 2014 Dec 15]; [2 screens]. Available from: URL: [https://www.health.ny.gov/environmental/water/drinking/coliform\\_bacteria.htm](https://www.health.ny.gov/environmental/water/drinking/coliform_bacteria.htm)

# Relief of Producers of Bottled Drinking Water and Ice in Huge Flood Areas in 2011–2012

**Piyamas Jamsri   Ladapan Saengklai   and Kanika Jittiyossara**

*Bureau of Quality and Safety of Food, Department of medical Sciences, Tiwanond Road. Nontaburi 11000 Thailand.*

**ABSTRACT**    The severe flood in Thailand during 2011–2012 had an effect on shortage of drinking water, as a result, most people preferred the bottled drinking water. Also, the producers of bottled drinking water and ice in flood areas had problem on the contamination of chemicals and pathogens in water source that affected the quality of products. Accordingly, with purpose of hurried relief of business owners and protection of consumers, the Department of Medical Sciences (DMSc), in cooperation with Thai Food and Drug Administration (FDA), Provincial Health Office (PHO) and Bangkok Metropolitan Administration (BMA) launched a project to relieve producers of bottled drinking water and ice in huge flood areas during November 2011 – September 2012. The project was divided into three phases. In phase 1, the DMSc organized a workshop for providing details of the project and knowledge of the Good Manufacturing Practice (GMP) to the cooperators. In phase 2, the samples of bottled drinking water and ice from the flood-impacted producers were collected by health authorities (FDA, PHO and BMA) and were sent to laboratories of the DMSc for analysis according to the Notification of Ministry of Public Health for bottled drinking water and ice. In phase 3, the analytical reports were submitted to the health authorities for considering provision of guidance of quality improvement to the producers with non-complying results. Subsequently, their products were sampled and analyzed. For the first analysis, total of 589 samples were tested and the results revealed that from 510 samples of bottled drinking water, 101 samples or 19.8% failed to meet the standard whereas from 79 samples of ice, 27 samples or 34.2% failed. For the analysis after quality improvement, 19 samples or 31.7% of 60 samples of bottled drinking water failed to meet the standard whereas from 17 samples of ice, 9 samples or 52.9% failed. However, in the second analysis the results showed that the number of samples met the criteria increased from the first analysis at 15.4%. In conclusion, this cooperating project enabled the flood-impacted producers to rapidly recover from flood crisis and to run their business continuously and effectively. Furthermore, the consumers were protected from the health risk.

**Key words:** Water and ice, Flood, Water quality

## การศึกษาสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้ม

ทองสุข ปายะนันท์ จิตผกา สันต์ตรบ วิชาดา จงมีวาสนา รัตติยากร ศรีโคตร และวีรฤติ วิทยนันท์  
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**บทคัดย่อ** ส้มเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง มีจำหน่ายทั่วไปจึงทำให้เป็นที่นิยมของผู้บริโภค แต่ส้มเป็นพืชไร่ที่ในระหว่างการเพาะปลูกจำเป็นต้องใช้สารเคมีในการป้องกันและกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้การเปิดเขตการค้าเสรีส่งผลให้มีส้มจากต่างประเทศเข้ามาจำหน่ายในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ในช่วงตุลาคม 2555 - กันยายน 2557 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้ทำการสำรวจปริมาณการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมต และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ในผลส้ม รวม 203 ตัวอย่าง จำแนกเป็นส้มที่ปลูกภายในประเทศจากแหล่งจำหน่ายในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 20 ตัวอย่าง กับส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งส่วนใหญ่มาจากเมียนมาร์และจีน จำนวน 183 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี Gas chromatography และ Liquid chromatography ผลการวิเคราะห์ตรวจพบการตกค้างในผลส้มที่ปลูกในประเทศไทยทุกตัวอย่าง โดยชนิดของสารที่ตรวจพบมี 9 ชนิด ชนิดสารที่ตรวจพบความถี่สูงสุด ได้แก่ ethion และ carbofuran ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง  $< 0.05 - 0.49$  และ  $< 0.01 - 0.12$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนผลส้มนำเข้าตรวจพบการตกค้างร้อยละ 71 (130 ตัวอย่าง) ชนิดสารที่ตรวจพบมี 14 ชนิด สารที่มีความถี่ของการตรวจพบสูง ได้แก่ chlorpyrifos, ethion, cypermethrin และ tetradifon ปริมาณที่พบอยู่ระหว่าง  $< 0.05 - 0.25$ ,  $< 0.05 - 3.06$ ,  $< 0.05 - 2.16$  และ  $< 0.05 - 0.72$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ อย่างไรก็ตามส้มเป็นผลไม้ที่รับประทานเฉพาะเนื้อ แต่ผลการตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเป็นการตรวจทั้งเปลือกแต่เพื่อคลายกังวลและเพิ่มความมั่นใจในการบริโภค ควรล้างก่อนการปอกเปลือกเสมอ

บทนำ

ส้ม เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางอาหารสูง อุดมด้วยเบต้าแคโรทีน วิตามินซี วิตามินบี แคลเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และยังมีใยอาหารที่ช่วยระบบขับถ่าย ซึ่งส้มแต่ละชนิดจะให้คุณค่าทางสารอาหารไม่ต่างกันมากนัก<sup>(1)</sup> ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงทำให้มีผู้นิยมบริโภคกันเป็นจำนวนมากและมีผลผลิตให้รับประทานได้เกือบตลอดทั้งปี ทั้งนี้เพราะส้มเป็นไม้ผลพุ่มขนาดเล็กปลูกกันทั่วไปในภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคเหนือของประเทศ<sup>(2)</sup> แต่เนื่องจากส้มเป็นพืชที่มีโรคและแมลงเข้าทำลาย หรือทำความเสียหายได้ทุกระยะการเจริญเติบโต เช่น ระยะการออกดอก ระยะติดผลและเก็บเกี่ยวผล โรคและแมลงศัตรูสำหรับส้ม ได้แก่ โรครากเน่าและโคนเน่า โรคใบเปื้อนน้ำหมาก โรคผลร่วง เป็นต้น ส่วนแมลงที่สำคัญ ได้แก่ หนอนขนอบ หนอนแก้ว เพลี้ยไฟ เป็นต้น ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหาย ทำให้เกษตรกรจำเป็นต้องใช้สารเคมีเพื่อป้องกันโรคและแมลงศัตรูดังกล่าวเป็นจำนวนมาก เพื่อให้เกิดความเสียหายน้อยที่สุด ตลอดทั้งเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงตรงกับความต้องการของตลาดที่เพิ่มมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากข้อมูลการนำเข้าส้มเขียวหวานในช่วงปี พ.ศ. 2555 - 2556 มีมูลค่าประมาณสามร้อยล้านบาท<sup>(3)</sup> ซึ่งผลของการใช้สารเคมีดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้เกิดปัญหาสารเคมีตกค้างในผลผลิต<sup>(4)</sup> ส่งผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคตลอดจนส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นหน่วยงานภาครัฐจึงได้มีมาตรการเพื่อควบคุมและจำกัดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืช โดยกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำให้ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในการปลูกส้ม เช่น อีโทออน (ethion), คาร์บาริล (carbaryl)<sup>(5)</sup> เป็นต้น ส่วนกระทรวงสาธารณสุขมีการกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่มีได้ในอาหารเนื่องมาจากการใช้ (Maximum Residue Limit, MRL) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2554 โดยกำหนดค่า MRL ของสารเคมีไว้สำหรับส้ม 15 ชนิด<sup>(6)</sup> ได้แก่ คาร์บาริล (carbaryl), คาร์โบซัลแฟน (carbosulfan), ไซเปอร์เมทริน (cypermethrin), ไดคลอร์วอส (dichlorvos), ไดไทโอคาร์บาเมตส์ (dithiocarbamates), ไดเมโทเอต (dimethoate), พาราควอต (paraquat), โพรฟีนโนฟอส (profenofos), ฟอสฟาโลน (phosalone), มาลาไทยน (malathion), เมทาแลกซิล (metalaxyl), เมทิดาไทยน (methidathion), เมโทมิล (methomyl), แอบาเมกทิน (abamectin), เอโทออน (ethion) และกำหนดปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดที่ปนเปื้อนจากสาเหตุที่ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้ (Extraneous Maximum Residue Limit, EMRL) 5 ชนิด ได้แก่ แอลดรินและดีลดริน (aldrin and dieldrin), คลอร์ดเน (chlordane), ดีดีที (DDT), เอนดริน (endrin), เฮปตาคลอร์ (heptachlor) สำหรับผลไม้ ดังนั้นเพื่อให้ทราบสถานการณ์การตกค้าง ติดตามการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดศัตรูพืชในส้ม จึงได้ศึกษาปริมาณการตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในผลส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศในช่วงตุลาคม 2555 - กันยายน 2557 และปริมาณการตกค้างในผลส้มที่ปลูกในประเทศในช่วงกันยายน 2557 ทั้งนี้ข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานให้กับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องในการกำหนดมาตรการแก้ไขปัญหาสารพิษตกค้างเพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภค

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี: acetronitrile, methanol, n-hexane และ methylene chloride เป็น HPLC grade ethyl acetate, glacial acetic acid, sodium hydroxide, sodium tetraborate decahydrate, sodium acetate, sodium sulfate, sodium dihydrogen phosphate anhydrous, disodium hydrogen phosphate anhydrous และ magnesium sulfate anhydrous เป็น AR grade, mixture of 150 mg MgSO<sub>4</sub>; 50 mg Primary Secondary Amine sorbent (PSA); 50 mg Graphite Carbon Black (GCB), extrelut NT 20 refill pack (Merck, cat. No. 1.15093.0001), Florisil (PR) 60-100 mesh

สารมาตรฐาน : สารมาตรฐานกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 20 ชนิด ได้แก่ aldrin,  $\alpha$  - BHC,  $\alpha$  - chlordane,  $\gamma$  - chlordane, oxy - chlordane, p, p' - DDE, p, p' - TDE, p, p' - DDT, dicofol, dieldrin, endrin,  $\alpha$  - endosulfan,  $\beta$  - endosulfan, endosulfan sulfate, heptachlor, heptachlor epoxide, hexachlorobenzene, lindane, methoxychlor และ tetradifon กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 21 ชนิด ได้แก่ acephate, azinphos - methyl, chlorpyrifos, dichlorvos, diazinon, dicrotophos, dimethoate, EPN, ethion, methamidophos, methidathion, mevinphos, monocrotophos, omethoate, parathion, parathion - methyl, phosalone, pirimiphos - methyl, profenophos, prothiophos และ triazophos กลุ่มคาร์บาเมต 7 ชนิด ได้แก่ aldicarb, carbaryl, carbofuran, 3-OH carbofuran, methomyl, methiocarb และ oxamyl กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 8 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cyfluthrin, cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, fenpropathrin, fenvalerate และ permethrin เป็นผลิตภัณฑ์ของ Chem Service และ Dr. Ehrenstorfer ที่มีความบริสุทธิ์ > 95%

### เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่ง ความละเอียด 0.001 กรัม และ 0.01 มิลลิกรัม, Ultra - Turrax homogenizer, rotary evaporator, centrifuge, gas chromatograph (GC) - electron capture detector (ECD) และ GC - flame photometric detector (FPD): Agilent 6890N, liquid chromatograph: Agilent serial 1200, post column derivatization module pickering 5200 และ fluorescence detector

### ตัวอย่าง

ตัวอย่างสัมนำเข้าจากประเทศ เมียนมาร์ จีน สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น แอฟริกาใต้ และไต้หวันประเทศ ได้แก่ ส้มแมนดาริน ส้มเขียวหวาน ส้มฟรุ้งมอนด์ และส้มไร้เมล็ด (navel oranges) ที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เก็บจากด่านอาหารและยา ส่งวิเคราะห์ที่สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารในช่วงเดือนตุลาคม 2555 ถึงกันยายน 2557 จำนวน 183 ตัวอย่าง และตัวอย่างส้มเขียวหวานที่ปลูกภายในประเทศไทย โดยเก็บจากตลาดในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล เก็บตัวอย่างในเดือนกันยายน 2557 จำนวน 20 ตัวอย่าง

### การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างตามวิธีที่กำหนดโดยคณะกรรมการอาหารระหว่างประเทศ (Codex Alimentarius Commission)<sup>(7)</sup> ใช้ส้มทั้งผล น้ำหนักประมาณ 1 กิโลกรัม หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็กแล้วปั่นด้วยเครื่องบดปั่นจนละเอียดและเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุด

### วิธีวิเคราะห์

#### หลักการ

วิธี QuEChERS เป็นวิธีวิเคราะห์สารตกค้างจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบ multi-residues method โดยตัวอย่างจะถูกนำมาสกัดด้วย acetonitrile แล้วนำมาขจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยเทคนิค dispersive-SPE ด้วย primary secondary amine (PSA) ผสมกับ magnesium sulfate (MgSO<sub>4</sub>) และ graphite carbon black (GCB) สารสกัดที่ได้จะถูกกระเหยลดปริมาตรแล้วฉีดเข้าเครื่องมือ ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนคลอรีน (OCs) และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ (SPs) โดยเครื่องมือ GC-ECD และตรวจวิเคราะห์สารกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส (OPs) โดยเครื่องมือ GC-FPD

สำหรับสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชกลุ่มคาร์บาเมตถูกสกัดออกจากตัวอย่างด้วยสารผสมระหว่าง methanol กับ phosphate buffer สารที่สกัดได้นำมาแยกโดยใช้เทคนิค solid-phase extraction หลังจากนั้นตรวจวัดชนิด

และปริมาณด้วย HPLC-post column derivatization และ fluorescence detector: วิธีตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ

### การสกัดและการทำให้บริสุทธิ์

- กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์<sup>(8)</sup> ตัวอย่างที่เตรียมโดยการบดและปั่นละเอียดแล้วชั่งน้ำหนัก 10 กรัม เติม (acetonitrile+1% acetic acid 10 มิลลิลิตร) เขย่า, เติม 4 กรัม  $MgSO_4$  และ 1 กรัม sodium acetate, เขย่า และนำไป centrifuge ดูดสารสกัดที่ได้มา 5 มิลลิลิตร ทำให้บริสุทธิ์ด้วย 150 มิลลิกรัม  $MgSO_4$  + 50 มิลลิกรัม PSA + 50 มิลลิกรัม GCB เขย่า นำไป centrifuge แล้วดูดสารสกัด 2 มิลลิลิตร นำไประเหย จนเกือบแห้ง ปริมาตรเป็น 2 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายผสม n-hexane: ethyl acetate (3:1)

- กลุ่มคาร์บาเมต<sup>(9)</sup> ซึ่งตัวอย่างที่เตรียมไว้แล้ว น้ำหนัก 20 กรัม ปั่นกับ methanol: phosphate buffer [1:1] 150 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องบดปั่น homogenizer กรองผ่านกระดาษกรอง แล้วนำสารละลายที่กรองได้มาระเหย จนเหลือประมาณ 75 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วย phosphate buffer [1:1] ทำให้บริสุทธิ์โดยเปิดสารละลาย 20 มิลลิลิตร ลงใน extrelut NT แล้ว elute ด้วย dichloromethane: hexane [1:1] 100 มิลลิลิตร ระเหยสารละลายที่ได้จนแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วเติม methanol 2 มิลลิลิตร

การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ มีสภาวะเครื่องมือ ดังนี้

- การวิเคราะห์กลุ่ม OCs และ SPs: ใช้เครื่องมือ GC ประกอบด้วย Inlet แบบ splitless ที่อุณหภูมิ 200 °C, detector ชนิด  $\mu$ ECD อุณหภูมิ 300 °C และใช้ analytical column ชนิด DB-5MS, 30 m, 0.25 mm id, 0.25  $\mu$ m film thickness, flow rate 1.5 ml/min

- การวิเคราะห์กลุ่ม OPs: ใช้เครื่องมือ GC ประกอบด้วย Inlet แบบ pulsed splitless ที่อุณหภูมิ 200 °C, detector ชนิด FPD อุณหภูมิ 200 °C และใช้ analytical column ชนิด DB-1701, 30 m, 0.25 mm id, 0.25  $\mu$ m film thickness, flow rate 1.5 ml/min

- โดยกลุ่ม OCs SPs และ OPs สามารถวิเคราะห์พร้อมกัน ใน GC oven ที่สามารถตั้งโปรแกรมอุณหภูมิ initial 80 °C hold 1 min, rate 15 °C/min to 180 °C, rate 3 °C/min to 205 °C hold 5 min, rate 40 °C/min to final 260 °C hold 20 min

- การวิเคราะห์กลุ่มคาร์บาเมต : ใช้เครื่องมือ HPLC ประกอบด้วย LC-post column derivatization, reactor อุณหภูมิ 100 °C และมี programmable HPLC gradient system โดยใช้ analytical column ชนิด Zorbax SB-C8, mobile phase ( $CH_3CN:H_2O$ ), flow rate 1.0 ml/min และ fluorescence detector: Ex 345 nm, Em 455 nm

### การควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์

- Internal quality control: วิเคราะห์ method blank และ duplicate analysis ในการวิเคราะห์ทุก 10 ตัวอย่าง ทำ duplicate analysis โดยวิเคราะห์สองซ้ำ กำหนดค่า relative percent difference (RPD) ไม่เกิน 25%, recovery study โดยวิเคราะห์ spiked sample ที่ระดับ 5 เท่าของ LOQ ในการวิเคราะห์ทุก 10 ตัวอย่าง และกำหนดช่วงยอมรับ % recovery เท่ากับร้อยละ 60-120 สำหรับกลุ่มออร์กาโนคลอรีน, กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส, กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ และร้อยละ 70-120 สำหรับกลุ่มคาร์บาเมต

- External quality control: เข้าร่วมทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ (proficiency testing, PT) กับหน่วยงานที่เชื่อถือได้ เพื่อยืนยันผลการวิเคราะห์มีความถูกต้อง เหมาะสม เป็นประจำ ปีละอย่างน้อย 1 ครั้ง

ผล

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศในช่วงตุลาคม 2555 ถึงกันยายน 2557 รวม 183 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบการตกค้าง 53 ตัวอย่าง (ร้อยละ 29) ตรวจพบการตกค้าง 130 ตัวอย่าง (ร้อยละ 71) โดยตัวอย่างผลส้มนำเข้าจากประเทศเมียนมาร์ ตรวจพบตกค้างสูงสุด คือ ตรวจพบ 70 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 71 ตัวอย่าง และนำเข้าจากประเทศจีน ตรวจพบการตกค้างสูงรองลงมา คือ ตรวจพบ 49 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 82 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 จำนวนตัวอย่างส้มที่ตรวจวิเคราะห์และจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบแยกตามแหล่งที่มาของตัวอย่าง

| ประเทศ              | จำนวนตัวอย่าง |        |
|---------------------|---------------|--------|
|                     | ตรวจวิเคราะห์ | ตรวจพบ |
| นำเข้าจากต่างประเทศ |               |        |
| - จีน               | 82            | 49     |
| - เมียนมาร์         | 71            | 70     |
| - ออสเตรเลีย        | 13            | 6      |
| - สหรัฐอเมริกา      | 9             | 3      |
| - แอฟริกาใต้        | 2             | 0      |
| - ญี่ปุ่น           | 1             | 0      |
| - ไม้ระบุประเทศ     | 5             | 2      |
| ปลูกในประเทศไทย     | 20            | 20     |
| รวม                 | 203           | 150    |

ชนิดของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบในผลส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศมีทั้งสิ้น 14 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, ethion, methidathion, profenophos, acephate และ triazophos กลุ่มคาร์บาเมต 3 ชนิด ได้แก่ aldicarb, methomyl และ carbofuran กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ cypermethrin, bifenthrin, cyfluthrin กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 2 ชนิด ได้แก่ tetradifon และ dicofol โดยพบว่า สารเคมีที่มีความถี่ของการตรวจพบสูง ได้แก่ chlorpyrifos, ethion, cypermethrin และ tetradifon คิดเป็นร้อยละ 47.0, 36.6, 33.9 และ 25.7 ตามลำดับ ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง < 0.05-0.25, < 0.05-3.06, < 0.05-2.16 และ < 0.05-0.72 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่ามัธยฐาน (median) และค่าฐานนิยม (mode) เท่ากับ 0.05 และ 0.03, 0.45 และ 0.18, 0.26 และ 0.02, 0.11 และ 0.08 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สำหรับผลการตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในตัวอย่างผลส้มที่ปลูกในประเทศไทยเก็บตัวอย่างในช่วงกันยายน 2557 จำนวน 20 ตัวอย่าง พบสารตกค้างในทุกตัวอย่าง ชนิดของสารที่ตรวจพบมี 9 ชนิด แบ่งเป็นสารในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส 4 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, diazinon, ethion และ profenophos กลุ่มคาร์บาเมต 3 ชนิด ได้แก่ aldicarb, carbofuran และ methomyl กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 2 ชนิด ได้แก่ cypermethrin และ L-cyhalothrin ส่วนกลุ่มออร์กาโนคลอรีนไม่พบการตกค้าง สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่มีอัตราการตรวจพบสูง ได้แก่ ethion และ carbofuran คิดเป็นร้อยละ 75 และ 70 ปริมาณที่พบอยู่ในช่วง < 0.05-0.49 และ < 0.01-0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่ามัธยฐาน (median) และค่าฐานนิยม (mode) เท่ากับ 0.09 และ 0.04, 0.02 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2 และ 3)

ผลการศึกษาปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้มพบว่าข้อมูลที่ได้ไม่ได้เป็นการแจกแจงแบบปกติ (normal distribution) ดังนั้นจึงใช้ค่ามัธยฐาน (median) และค่าฐานนิยม (mode) เป็นตัวแทนที่แท้จริงของข้อมูลแทนค่าเฉลี่ย (arithmetic mean) เนื่องจากค่าเฉลี่ยจะเป็นตัวแทนที่ดีของข้อมูลในกรณีการกระจายตัวของข้อมูลเป็นแบบปกติ แต่อย่างไรก็ตามจะพบว่าฐานนิยม เป็นค่าของข้อมูลที่ซ้ำกันมากที่สุดหรือค่าที่มีความถี่ของข้อมูลสูงที่สุดซึ่งข้อมูลบางชุดอาจจะไม่มีฐานนิยมได้เนื่องจากจำนวนข้อมูลที่มีจำนวนน้อยหรือข้อมูลชุดนั้นไม่มีรายการซ้ำกันเลย

ตัวอย่างส้มที่ตรวจพบสารตกค้าง เมื่อนำปริมาณที่ตรวจพบสารมาเปรียบเทียบกับค่า Maximum Residue Limit (MRL) ของประเทศไทย และ Codex’s MRL พบว่าส้มนำเข้าพบสารเกินค่ากำหนด 4 ชนิด ได้แก่ bifenthrin, cypermethrin, ethion, methidathion และ profenophos รวม 33 ตัวอย่าง จาก 183 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18.1 ส้มไทย พบ profenophos และ L-cyhalothrin ชนิดละ 1 ตัวอย่าง รวม 2 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 10 สำหรับปัญหาตัวอย่างที่ตรวจพบสารตกค้างซึ่งยังไม่มีค่ากำหนด ส้มนำเข้าตรวจพบ 4 ชนิด ได้แก่ carbofuran, acephate, tetradifon และ triazophos รวม 65 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 35.7) ส้มไทยพบ carbofuran และ diazinon รวม 16 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 80) สำหรับรายละเอียดชนิดและปริมาณสารที่ไม่ตรงตามเกณฑ์กำหนด (ตารางที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้มที่นำเข้าจากต่างประเทศและเกณฑ์กำหนด

| ชนิดสารเคมี<br>ป้องกันกำจัดศัตรูพืช | นำเข้าจากต่างประเทศ จำนวน 183 ตัวอย่าง |                      |        |       | ประกาศกระทรวงสาธารณสุข | Codex's MRL   |
|-------------------------------------|----------------------------------------|----------------------|--------|-------|------------------------|---------------|
|                                     | ตัวอย่างที่ตรวจพบ                      | มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม |        |       |                        |               |
|                                     |                                        | ต่ำสุด - สูงสุด      | median | mode  |                        |               |
| chlorpyrifos                        | 86                                     | < 0.05 - 0.25        | 0.05   | 0.03  | ไม่มีค่ากำหนด          | 1.0           |
| ethion                              | 67                                     | < 0.05 - 3.06        | 0.45   | 0.18  | 1.0                    | ไม่มีค่ากำหนด |
| cypermethrin                        | 62                                     | < 0.05 - 2.16        | 0.26   | 0.02  | 2.0                    | 2.0           |
| tetradifon                          | 47                                     | < 0.05 - 0.72        | 0.11   | 0.08  | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| methidathion                        | 45                                     | < 0.05 - 1.02        | 0.09   | 0.07  | 0.5                    | ไม่มีค่ากำหนด |
| dicofol                             | 11                                     | < 0.05 - 2.21        | 0.12   | -     | ไม่มีค่ากำหนด          | 5.0           |
| aldicarb                            | 11                                     | < 0.02 - 0.08        | 0.03   | 0.02  | ไม่มีค่ากำหนด          | 0.2           |
| methomyl                            | 11                                     | < 0.01 - 0.02        | 0.01   | 0.003 | 1.0                    | 1.0           |
| carbofuran                          | 10                                     | < 0.02 - 0.09        | 0.06   | 0.08  | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| profenophos                         | 9                                      | < 0.05 - 0.33        | 0.04   | -     | 0.1                    | ไม่มีค่ากำหนด |
| bifenthrin                          | 6                                      | < 0.05 - 0.14        | 0.07   | -     | ไม่มีค่ากำหนด          | 0.05          |
| acephate                            | 4                                      | < 0.05 - 0.05        | 0.04   | -     | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| triazophos                          | 3                                      | < 0.05 - 0.05        | 0.05   | -     | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| cyfluthrin                          | 1                                      | < 0.05               | -      | -     | ไม่มีค่ากำหนด          | 0.3           |

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้มที่ปลูกในประเทศและเกณฑ์กำหนด

| ชนิดสารเคมี<br>ป้องกันกำจัดศัตรูพืช | ในประเทศ จำนวน 20 ตัวอย่าง |                      |        |      | ประกาศกระทรวงสาธารณสุข | Codex's MRL   |
|-------------------------------------|----------------------------|----------------------|--------|------|------------------------|---------------|
|                                     | ตัวอย่างที่ตรวจพบ          | มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม |        |      |                        |               |
|                                     |                            | ต่ำสุด - สูงสุด      | median | mode |                        |               |
| ethion                              | 15                         | < 0.05 – 0.49        | 0.09   | 0.04 | 1.0                    | ไม่มีค่ากำหนด |
| carbofuran                          | 14                         | < 0.01 – 0.12        | 0.02   | 0.01 | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| profenophos                         | 13                         | < 0.05 – 0.86        | 0.04   | 0.03 | 0.1                    | ไม่มีค่ากำหนด |
| cypermethrin                        | 9                          | < 0.05 – 0.51        | 0.16   | –    | 2.0                    | 2.0           |
| chlorpyrifos                        | 8                          | < 0.05 – 0.08        | 0.05   | 0.05 | ไม่มีค่ากำหนด          | 1.0           |
| diazinon                            | 6                          | < 0.05 – 0.06        | 0.04   | –    | ไม่มีค่ากำหนด          | ไม่มีค่ากำหนด |
| aldicarb                            | 3                          | < 0.01 – 0.02        | 0.01   | –    | ไม่มีค่ากำหนด          | 0.2           |
| L-cyhalothrin                       | 1                          | 0.42                 | –      | –    | ไม่มีค่ากำหนด          | 0.3           |
| methomyl                            | 1                          | 0.04                 | –      | –    | 1.0                    | 1.0           |

## วิจารณ์

จากการตรวจวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชทั้ง 4 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส กลุ่มคาร์บาเมต และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ ในตัวอย่างผลส้มนั้น กลุ่มออร์กาโนคลอรีน กลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส และกลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ เตรียมตัวอย่างโดยเทคนิค QuEChERS ตาม AOAC 2007.01<sup>(8)</sup> โดยใช้สารละลายอินทรีย์กับบัฟเฟอร์ปริมาณน้อยสำหรับการวิเคราะห์ในเฟสอินทรีย์ และใช้ dispersive solid-phase extraction (d-SPE) สำหรับกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (clean up) สามารถเตรียมตัวอย่างยาฆ่าแมลงได้อย่างง่าย รวดเร็ว มีค่าใช้จ่ายน้อยและมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังมีค่าการกลับคืนที่ดี (good recovery) อีกด้วย นอกจากนี้กรณีที่เกิดการตกค้างเมื่อตรวจด้วย GC ที่อาศัยการเปรียบเทียบ retention time ตรงกันระหว่างพีคของสารในตัวอย่างกับพีคของสารมาตรฐานแล้ว ยังมีการตรวจยืนยันชนิดสารอีกครั้งโดยการวิเคราะห์ด้วย GC-MS โดยอาศัยการเปรียบเทียบ mass spectrum ของเลขมวล (mass number) ของสารนั้น ๆ กับข้อมูลที่มีอยู่ใน library ตลอดจนสัดส่วนที่จำเพาะของ fragment ions ที่เกิดจากการแตกตัวของสารแต่ละชนิดเมื่อชนกับอิเล็กตรอน (electron impact) แล้วตรวจวัด quantified ion และ confirmed ions ตามแต่ละชนิดของสารด้วยแมสสเปกโตรมิเตอร์<sup>(10)</sup> ทำให้ผลการตรวจวิเคราะห์มีคุณภาพน่าเชื่อถือเพิ่มขึ้น สำหรับกลุ่มคาร์บาเมต ได้ใช้เทคนิค post-column derivatization ซึ่งเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสำหรับสารในกลุ่มนี้ซึ่งอยู่ในรูปของ N-methyl carbamate เมื่อแยกจาก analytical column แล้วจะทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ได้สารในรูปของแอลกอฮอล์คาร์บอเนต และเมทิลเอมีน ซึ่งเมทิลเอมีนจะทำปฏิกิริยากับ O-phthalaldehyde และ mercapto-ethanol เกิดเป็นสารอนุพันธ์ที่อยู่ในรูปเรืองแสงที่สามารถตรวจวัดได้ด้วย fluorescence detector นอกจากนี้เมื่อมีการตรวจพบสารในตัวอย่างจะมีการยืนยันการตรวจพบสารนั้น ๆ โดยการเติมสารมาตรฐานที่มีปริมาณเท่ากับที่ตรวจพบและฉีดเข้าเพื่อให้แน่ใจว่าพีคของสารมาตรฐานและสารที่ตรวจพบไม่แยกจากกัน อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ วิธีตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 จากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ ทำให้มั่นใจได้ว่าผลการวิเคราะห์มีความถูกต้องและเชื่อถือได้

ส้มเป็นผลไม้ที่มีการกำหนดมาตรฐาน โดยต้องตรวจไม่พบสารพิษตกค้างจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2554 ยกเว้นในกรณีตรวจพบสารพิษตกค้างจากวัตถุอันตรายทางการเกษตร ได้ไม่เกินปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุด (Maximum Residue Limit; MRL) ตามบัญชีหมายเลข 1<sup>(6)</sup> ซึ่งกำหนดให้มีการตรวจวิเคราะห์โดยใช้ส้มทั้งผล (เปลือกและเนื้อ) ตาม Codex Alimentarius Commission เพื่อให้เป็นค่าที่แสดงถึงการใช้สารกำจัดศัตรูพืชตามจริง เพราะต้องนำผลวิเคราะห์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับค่า MRL จากผลการสำรวจครั้งนี้พบสารตกค้างที่ไม่ตรงตามเกณฑ์กำหนดของกฎหมายไทยและ Codex's MRL 2 กรณี คือ ตรวจพบสารปริมาณเกินค่ากำหนด และตรวจพบสารที่ไม่มีค่ากำหนด โดยส้มนำเข้าพบสารไม่ตรงตามเกณฑ์กำหนด 8 ชนิด (ตรวจพบปริมาณเกินค่ากำหนด 4 ชนิด ได้แก่ ethion, bifenthrin, cypermethrin และ profenophos ตรวจพบแต่ไม่มีค่ากำหนด 4 ชนิด ได้แก่ acephate, carbofuran, tetradifon และ triazophos) ส้มในประเทศ พบสารไม่ตรงตามเกณฑ์กำหนด 4 ชนิด (ตรวจพบปริมาณเกินค่ากำหนด 2 ชนิด ได้แก่ L-cyhalothrin และ profenophos ตรวจพบแต่ไม่มีค่ากำหนด 2 ชนิด ได้แก่ carbofuran และ diazinon) อนึ่งในการศึกษาครั้งนี้จะเห็นว่าชนิดสารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบไม่ตรงตามเกณฑ์กำหนดมีความแตกต่างกันระหว่างส้มภายในประเทศกับส้มนำเข้าทั้งนี้เมื่อพิจารณามาตรฐานเรื่อง MRL เป็นรายประเทศจะพบว่าในบางประเทศมีการกำหนดค่า MRL ในชนิดสารแตกต่างจากประเทศไทยและ Codex เช่น ประเทศจีนมีการกำหนดค่า MRL ใน acephate, carbofuran, triazophos<sup>(11)</sup> ซึ่งกฎหมายไทย และ Codex ไม่มีการกำหนดสารเหล่านี้ ทั้งนี้การสำรวจนี้นำเสนอผลการตรวจวิเคราะห์เทียบกับประกาศกระทรวงสาธารณสุขประเทศไทย และ Codex

ชนิดและปริมาณการตกค้างของสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจากการศึกษาในครั้งนี้ จำนวนตัวอย่างในแต่ละประเทศไม่เท่ากัน บางประเทศมีน้อยเกินไป ทำให้ไม่สามารถบ่งบอกถึงความแตกต่างของการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชได้ทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากสัมนำเข้าเป็นการรวบรวมข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ตั้งแต่ตุลาคม 2555 - กันยายน 2557 แต่สัมนำเข้าในประเทศได้จากการเก็บตัวอย่างในปีงบประมาณ 2557 เท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามผลการตรวจวิเคราะห์ผลสัมนำเข้าในประเทศก็สอดคล้องกับหน่วยงานอื่นๆ ที่ได้มีการศึกษาปริมาณการตกค้างไว้ เช่น เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ร่วมกับมูลนิธิเพื่อผู้บริโภค (Thai-PAN)<sup>(12)</sup> โดยในช่วงมีนาคม - พฤษภาคม 2557 ได้สำรวจสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในส้มทั้งผล จำนวน 12 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากห้างสรรพสินค้า ตลาดค้าปลีกและตลาดค้าส่งในเขตกรุงเทพมหานคร ร้อยละการตรวจพบ 83.3 โดยสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่ตรวจพบมีทั้งสิ้น 15 ชนิด ส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ chlorpyrifos, ethion, pirimiphos - methyl, profenophos, diazenon, malathion และ triazophos กลุ่มคาร์บาเมต 4 ชนิด ได้แก่ carbofuran, methomyl, propoxur และ fenobucarb กลุ่มสารสังเคราะห์ไพรีทรอยด์ 3 ชนิด ได้แก่ cypermethrin, cyhalothrin และ bifenthrin กลุ่มออร์กาโนคลอรีน 1 ชนิด ได้แก่ endosulfan sulfate โดยพบว่า สารเคมีที่มีความถี่ของการตรวจพบสูง ได้แก่ chlorpyrifos และ cypermethrin

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้ไม่สามารถสรุปความปลอดภัยจากการประเมินการได้รับสัมผัสสารได้เนื่องจากการได้รับสัมผัสสารจากการบริโภคส้มเพียงอย่างเดียว ซึ่งผู้บริโภคสามารถได้รับสัมผัสสารดังกล่าวจากอาหารชนิดอื่นๆ และลักษณะการตกค้างของสารเคมีพบว่ามีการตกค้างมากกว่า 1 สาร ในตัวอย่างเดียว อนึ่งส้มเป็นผลไม้ที่ไม่ได้รับประทานทั้งเปลือก แต่ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งเปลือกเพื่อให้เห็นเป็นค่าสะท้อนการใช้สารกำจัดศัตรูพืชตามจริง<sup>(7)</sup> โดยจากงานวิจัยที่ผ่านมาข้อมูลสนับสนุนที่มีการตรวจวิเคราะห์สารเคมีตกค้างเฉพาะเนื้อส้ม พบว่าปริมาณเฉลี่ยต่ำกว่าวิเคราะห์ทั้งผลประมาณ 20 เท่า<sup>(13)</sup> แต่เพื่อคลายกังวลและเพิ่มความมั่นใจในการบริโภคควรล้างก่อนการปอกเปลือกเสมอ ซึ่งในปัจจุบันมีวิธีการล้างอยู่หลายวิธีเพื่อลดปริมาณสารพิษที่ตกค้างให้ลดน้อยลง

จากผลการสำรวจดังกล่าว จึงน่าจะเป็นประโยชน์และสะท้อนให้เห็นว่าหน่วยงานรัฐทุกภาคส่วนที่เกี่ยวข้องต้องเพิ่มมาตรการที่จะคุ้มครองผู้บริโภค สำหรับกรณีสินค้านำเข้าควรมีการพัฒนาระบบการควบคุมตรวจสอบการนำเข้าเพราะเป็นที่น่าสังเกตว่ายังคงพบสารในกลุ่มที่เป็นวัตถุมีพิษการเกษตรที่อยู่ในบัญชีเฝ้าระวัง (watch list) ของกรมวิชาการเกษตร เนื่องจากมีพิษเฉียบพลันทางปากสูง (high acute oral toxicity) 2 ชนิด คือ carbofuran และ methomyl ซึ่งสารกลุ่มนี้หลายประเทศได้ยกเลิกการใช้แล้ว เช่น กลุ่มสหภาพยุโรป อเมริกา และบางประเทศในเอเชีย เช่น สิงคโปร์ มาเลเซีย เป็นต้น<sup>(14)</sup> และภายในประเทศควรมีการณรงค์ให้มีการใช้สารให้น้อยลงและใช้อย่างถูกวิธี การส่งเสริมการปลูกและการบริโภคผลไม้อย่างไรให้ปลอดภัยจากสารพิษ รวมทั้งการประชาสัมพันธ์ให้ผู้บริโภคและผู้นำเข้าตระหนักในพิษภัยจากสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ซึ่งเป็นสิ่งสำคัญที่ภาครัฐควรดำเนินการอย่างต่อเนื่องต่อไป

## สรุป

ผลจากการสำรวจในช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2555 - กันยายน 2557 สถานการณ์การตกค้างของสารเคมีกำจัดศัตรูพืชในตัวอย่างผลส้ม พบสารพิษตกค้างส่วนใหญ่เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มออร์กาโนฟอสฟอรัส ทั้งตัวอย่างส้มที่ปลูกในประเทศไทยและสัมนำเข้า ซึ่งส่วนใหญ่เป็นตัวอย่างที่นำเข้าจากเมียนมาร์และจีน พบการตกค้าง ร้อยละ 98.6 และ 59.8 ตามลำดับโดยทั้งหมดพบสารที่มีปริมาณเกินค่ากำหนดและพบสารที่ยังไม่มีค่ากำหนดรวม 8 ชนิด สัมจากประเทศไทยถึงแม้จะพบการตกค้างในทุกตัวอย่าง แต่พบเพียง 4 ชนิด ที่มีปริมาณเกินค่ากำหนดและไม่มีค่ากำหนด อย่างไรก็ตามส้มเป็นผลไม้ที่ไม่ได้รับประทานทั้งเปลือก แต่ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นการวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งเปลือก แต่เพื่อเพิ่มความมั่นใจในการบริโภค ควรล้างผลส้มก่อนการปอกเปลือกรับประทาน

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนในการซื้อตัวอย่างส้มที่ปลูกภายในประเทศไทย ขอขอบคุณนางกนกพร อธิสุข นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญด้านมาตรฐานของอาหาร ช่วยให้คำแนะนำ ข้อเสนอแนะและตรวจทานต้นฉบับ เจ้าหน้าที่ฝ่ายสารกำจัดศัตรูพืชและยาสัตว์ตกค้างทุกคน ที่ให้การสนับสนุน เตรียมและสกัดตัวอย่างจนกระทั่งงานสำรวจนี้สำเร็จลงด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

1. ส้ม สรรพคุณและประโยชน์ของส้ม 25 ข้อ [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 19 พ.ค. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://frynn.com>.
2. สภาพทางนิเวศวิทยาของส้ม [ออนไลน์]. [สืบค้น 7 พ.ค. 2557]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.geocities.ws/doiin/source.html>
3. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. สถิติการนำเข้า (Import) ส้มเขียวหวาน : ปริมาณและมูลค่าการนำเข้ารายเดือน [ออนไลน์]. [สืบค้น 17 ก.ย. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://www.oae.go.th/oae\\_report/export\\_import/import\\_result.php](http://www.oae.go.th/oae_report/export_import/import_result.php)
4. โรคและแมลงศัตรูสำคัญของส้ม. สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน เล่มที่ 26 [ออนไลน์]. [สืบค้น 19 พ.ค. 2557]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.kanchanapisek.or.th>
5. กลุ่มกีฏและสัตววิทยา สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2553. กรุงเทพฯ : กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์; 2553.
6. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง อาหารที่มีสารพิษตกค้าง. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 128 ตอนพิเศษ 59 ง. (ลงวันที่ 26 พฤษภาคม 2554).
7. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. Vol. 2A Part 1. Pesticide residues in food: methods of analysis and sampling. 2nd ed. Rome: FAO; 2000.
8. AOAC Official Method 2007.01 Pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate [online]. 2007; [9 screens]. Available from: URL: [http://www.weber.hu/PDFs/QuEChERS/AOAC\\_2007\\_01.pdf](http://www.weber.hu/PDFs/QuEChERS/AOAC_2007_01.pdf)
9. จิตมกา สันหัตถบ และกนกพร อธิสุข. การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์สารกลุ่ม Fungicides ในผักและผลไม้. ว. กรมวิทย พ 2548; 47(1): 26-36.
10. Hong J, Kim HY, Kim DG, Seo J, Kim KJ. Rapid determination of chlorinated pesticides in fish by freezing-lipid filtration, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. J Chromatogr A 2004; 1038: 27-35.
11. กระทรวงสาธารณสุข, กระทรวงเกษตร สาธารณรัฐประชาชนจีน. GB 2763-2012. มาตรฐานแห่งชาติเรื่องความปลอดภัยของอาหาร ปริมาณสารพิษตกค้างสูงสุดของวัตถุอันตรายทางการเกษตรในอาหาร [ออนไลน์]. 2013; [312 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://www.acfs.go.th/news/docs/acfs\\_07-03-56-04.pdf](http://www.acfs.go.th/news/docs/acfs_07-03-56-04.pdf)
12. เครือข่ายเตือนภัยสารเคมีกำจัดศัตรูพืช (Thai-PAN) ร่วมกับมูลนิธิเพื่อผู้บริโภค เฝ้าระวังสารเคมีกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักผลไม้ [ออนไลน์]. [สืบค้น 2 ก.ค. 2557]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.thaipan.org>
13. กอบทอง รูปหอม และยุวดี เลิศเรืองเดช. สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในส้มทั้งเปลือกและเฉพาะเนื้อส้ม. โภชนาการสาร 2522; 1: 55-64.
14. หยุดขึ้นทะเบียนสารเคมีเกษตรอันตราย ปกป้องชีวิตคนไทยตายผ่อนส่ง [ออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 25 ส.ค. 2558]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://www.manager.co.th>

---

# Study of Pesticide Residues in Oranges

---

**Thongsuk Payanan   Jitpaka Suntudrop   Wischada Jongmevasna  
Rattiyakorn Srikote   and Weerawut Wittayanan**

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

**ABSTRACT** Orange is one of worldwide popular fruit because of its high nutritional composition and availability in market. However, it is a farm plant which requires a wide variety of chemicals to protect and to destroy pests. Also, the opening of free trade zone in Thailand leads to a very large amount of imported oranges from other countries. These problems result, during October 2012 – September 2014, pesticide residues have been surveyed by the Bureau of Quality and Safety of Food. Four groups of pesticides (organochlorines, organophosphates, carbamates, and synthetic pyrethroids) were determined in 203 orange samples which were 20 samples of oranges grown in Thailand (collected from the markets in Bangkok and suburban area), and 183 samples of the imported oranges, mostly from Myanmar and China. These samples were quantified by using gas chromatography and liquid chromatography. The results showed that there are nine pesticide residue compounds were founded in every orange sample from Thailand. The most frequent detected compounds were ethion and carbofuran in the range of  $< 0.05 - 0.49$  and  $< 0.01 - 0.12$  mg/kg, respectively. On the other hand, fourteen pesticides presented in 71% of the imported samples and the highest residues are chlorpyrifos, ethion, cypermethrin, and tetradifon. These compounds ranged from  $< 0.05 - 0.25$ ,  $< 0.05 - 3.06$ ,  $< 0.05 - 2.16$  and  $< 0.05 - 0.72$  mg/kg, respectively. Even only the pulp of orange is being consumed, the laboratory analyses were performed with the whole fruit. In addition, the rinse of orange before peeling off is recommended to ensure the safety for health.

**Key words:** pesticides, residues, oranges

## ดัชนีชื่อผู้พิมพ์

### ว กรรมวิทย์ พ 57 (1-4) 2558

|                     |                      |                                               |                     |                   |
|---------------------|----------------------|-----------------------------------------------|---------------------|-------------------|
| ก                   | กนกพร อธิสุข         | พิเศษ 3 : 263-274<br>2 : 79-90                | จิตรา ชัยวัฒน์      | 57 : 2 : 157-173  |
|                     |                      |                                               | จินตนา กิจเจริญวงศ์ | 57 : 1 : 58-68    |
|                     |                      |                                               | จินตนา กิจเจริญวงศ์ | พิเศษ 1 : 54-71   |
|                     | กนกพรณ สมยุทรทรัพย์  | พิเศษ 2 : 244-253                             | จิราณูช แจ่มทวีกุล  | พิเศษ 1 : 20-33   |
|                     |                      |                                               | จิราณูช มิ่งเมือง   | 2 : 174-185       |
|                     | กนกวรรณ ต้นสกุล      | พิเศษ 1 : 72-88                               | จิราภา อุณหเลขกะ    | 365-375           |
|                     |                      |                                               | จิราณูช แจ่มทวีกุล  | 2 : 157-173       |
|                     | กมลลักษณ์ อินทร์ศรี  | พิเศษ 2 : 184-197                             | เจษฎา กาศโอสถ       | 4 : 364-380       |
|                     |                      | พิเศษ 3 : 312-321                             |                     |                   |
|                     |                      | พิเศษ 3 : 323-336                             |                     |                   |
| กมลวรรณ กันแต่ง     |                      | 1 : 48-57                                     |                     |                   |
|                     |                      | 2 : 127-141                                   |                     |                   |
|                     |                      | 3 : 269-278                                   |                     |                   |
|                     |                      | 1 : 22-36                                     | ชญาดา ข้าสวัสดิ์    | 2 : 186-196       |
|                     | กรรณิกา จิตติยศรา    | พิเศษ 3 : 275-286                             | ชลไฉไล สินธุสาร     | 3 : 304-312       |
|                     |                      | 4 : 381-390                                   |                     | พิเศษ 2 : 208-222 |
|                     |                      |                                               |                     | พิเศษ 2 : 254-262 |
|                     | กรุณา ตรีสมิทธิ์     | 1 : 22-36                                     |                     | พิเศษ 3 : 287-301 |
|                     |                      | พิเศษ 2 : 244-253                             |                     |                   |
|                     | ก่อเกียรติ ศาสตรินทร | พิเศษ 2 : 244-253                             |                     |                   |
| กัญญา พุกสุน        | กัญญา พุกสุน         | 1 : 22-36                                     |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| กัญญา รัตน ชลสิทธิ์ | กัญญา รัตน ชลสิทธิ์  | 4 : 352-363                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| กิตติพงษ์ เกิดฤทธิ์ | กิตติพงษ์ เกิดฤทธิ์  | 2 : 197-203                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| กิตติยา เขียวแมน    | กิตติยา เขียวแมน     | 2 : 142-156                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| ข                   | ขันทอง เพ็ชรนอก      | พิเศษ 1 : 72-88                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| ขมิภา เหมโลหะ       | ขมิภา เหมโลหะ        | พิเศษ 2 : 163-173                             |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จ                   | จตุรงค์ ลินแก้ว      | 1 : 37-47                                     |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จักรวาล ชมภูศรี     | จักรวาล ชมภูศรี      | 2 : 186-196                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จำเริญ ดวงามย์      | จำเริญ ดวงามย์       | พิเศษ 3 : 323-336                             |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จิตตภา สันต์ตรบ     | จิตตภา สันต์ตรบ      | 2 : 79-90<br>4 : 391-400<br>พิเศษ 3 : 263-274 |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จ                   | จตุรงค์ ลินแก้ว      | 1 : 37-47                                     |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จักรวาล ชมภูศรี     | จักรวาล ชมภูศรี      | 2 : 186-196                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จำเริญ ดวงามย์      | จำเริญ ดวงามย์       | พิเศษ 3 : 323-336                             |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จิตตภา สันต์ตรบ     | จิตตภา สันต์ตรบ      | 2 : 79-90<br>4 : 391-400<br>พิเศษ 3 : 263-274 |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จ                   | จตุรงค์ ลินแก้ว      | 1 : 37-47                                     |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จักรวาล ชมภูศรี     | จักรวาล ชมภูศรี      | 2 : 186-196                                   |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จำเริญ ดวงามย์      | จำเริญ ดวงามย์       | พิเศษ 3 : 323-336                             |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
| จิตตภา สันต์ตรบ     | จิตตภา สันต์ตรบ      | 2 : 79-90<br>4 : 391-400<br>พิเศษ 3 : 263-274 |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |
|                     |                      |                                               |                     |                   |

| ท                         |                                               | ผ                       |                            |
|---------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------|----------------------------|
| ทนางพันธ์ ลัจจपालะ        | 3 : 313-320<br>3 : 321-363<br>พิเศษ 1 : 72-88 | เผด็จ สิริยะเสถียร      | 2 : 186-196                |
| ทวิทรัพย์ ชัยสมบูรณ์พันธ์ | พิเศษ 1 : 46-53                               | พ                       |                            |
| ทองสุข ปายะนันท์          | 2 : 91-108<br>4 : 391-400                     | พรเทพ จันทร์คุณาภาส     | 1 : 69-89                  |
|                           |                                               | พรศรี ประเสริฐวารี      | 2 : 174-185                |
|                           |                                               | พรหทัย กันแก้ว          | 2 : 142-156                |
|                           |                                               | พรหมภัสสร ดิษสระ        | 2 : 197-203<br>3 : 304-312 |
| ธ                         |                                               | พัชชา อินคำสืบ          | พิเศษ 1 : 102-114          |
| ธรรณชนก พิทักษ์           | พิเศษ 1 : 121-131                             | พัชรดา พิชัย            | พิเศษ 2 : 198-207          |
| ธีรกมล เพ็งสกุล           | 2 : 186-196                                   | พันธุ์ธิดา ตริยวง       | พิเศษ 1 : 88-101           |
| ธีรนารถ จิระไพศาลพงศ์     | พิเศษ 2 : 174-183                             | พายุ ภัคดีนวน           | 2 : 186-196                |
| ธีรพันธ์ บุตรแผ้ว         | 3 : 293-303                                   | พิชยา ดีศรี             | พิเศษ 3 : 275-286          |
| ธีระพล คชาชีวะ            | 2 : 109-126                                   | พินิจ งามประสิทธิ์      | 3 : 304-312                |
| น                         |                                               | พีรธรรม เทียมเทียบรัตน์ | 351-364                    |
| นฤมล ชันดีดูล             | พิเศษ 2 : 198-207                             | ภ                       |                            |
| นพวิชญ์ สัจจานนท์         | 1 : 1-21                                      | ภัสสะริน สายสุวรรณ      | 3 : 205-218                |
| นันทวรรณ เมฆา             | พิเศษ 2 : 244-253                             | ภูริต ทรงธนินิตย์       | 3 : 233-242                |
| นิภาภรณ์ ลักษณะสมยา       | พิเศษ 1 : 54-71                               | ม                       |                            |
| นิรันดร์ แร่กาสินธุ์      | พิเศษ 2 : 163-173                             | มะลิวัลย์ หอมจัน        | 3 : 304-312<br>2 : 197-203 |
| ป                         |                                               | มาลี เจริญวิทย์วรกุล    | 3 : 279-292                |
| ปฐม สวรรค์ปัญญาเลิศ       | พิเศษ 1 : 102-114                             | มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์    | 1 : 1-21                   |
| ปนัดดา ชิลวา              | 2 : 142-156                                   | ย                       |                            |
| ปนัดดา เทพอัศร            | พิเศษ 1 : 88-101                              | ยุทธนา ภูทรัพย์         | 2 : 186-196                |
| ปนัดดา วิรุฬห์บุญภัทร     | พิเศษ 3 : 287-301                             | ยุพเรศ เอื้อตรงจิตต์    | 1 : 58-68                  |
| ประภาพรรณ สุขพรรณ         | พิเศษ 1 : 20-33                               | ร                       |                            |
| ประภาศรี บุญยประภาพันธ์   | พิเศษ 2 : 244-253                             | รัชฎาพร สุวรรณรัตน์     | 1 : 48-57<br>3 : 269-278   |
| ประสิทธิ์ โอภาส           | พิเศษ 1 : 1-19                                | รติยากร ศรีโคตร         | 4 : 391-400                |
| ปรัชญาพร อินทองแก้ว       | พิเศษ 1 : 20-33                               | ราเมศ กรณีย์            | พิเศษ 3 : 302-311          |
| ปรียาภรณ์ พุกรอด          | 2 : 142-156                                   |                         |                            |
| ปวีณา เจริญสิทธิ์         | พิเศษ 1 : 46-53                               |                         |                            |
| ปิยมาศ แจ่มศรี            | 1 : 22-36<br>4 : 381-390                      |                         |                            |

|                          |                   |                          |                   |
|--------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| รุ่งทิพย์ เจือดี         | พิเศษ 2 : 208-222 | ส                        |                   |
| เรวดี บุตรภรณ์           | 1 : 1-21          | สกุลรัตน์ สุนทรฉัตรวัฒน์ | พิเศษ 1 : 88-101  |
|                          |                   | สถาพร กล่อมน้อย          | 1 : 69-89         |
| ล                        |                   | สถาพร กล่อมแก้ว          | พิเศษ 1 : 115-120 |
| ลดาพรรณ แสงคล้าย         | 1 : 22-36         | สมชาย แสงกิจพร           | 1 : 1-21          |
|                          | 4 : 405-414       |                          | 2 : 186-196       |
| ลดาวัลย์ จิงสมานกุล      | 1 : 48-57         | สมศักดิ์ สุนทรพาณิชย์    | 3 : 243-256       |
|                          | 2 : 127-141       | สรินยา จุลศรีไกรวัล      | 4 : 352-363       |
| ลัดดา แก้วกล้าปัญญาเจริญ | 2 : 91-108        | สังคม วิทยนันท์          | 4 : 391-400       |
|                          | 4 : 341-351       | สาคร สิงศาลาแสง          | พิเศษ 3 : 275-286 |
|                          |                   | สายวรุณ จตุรกิตตินันท์   | พิเศษ 2 : 174-183 |
| ว                        |                   | ลิตา ปงเมืองมูล          | 4 : 391-400       |
| วงเดือน นาคนิยม          | 3 : 257-268       | สิริกาญจน์ ธนอริยโรจน์   | 4 : 327-340       |
| วริษฐา สงวนเรือง         | 1 : 1-21          | สิริลักษณ์ สายหล่อ       | 3 : 243-256       |
| วลัยลักษณ์ เมธภัทร       | 2 : 157-173       | สิตไพสิฐ เอกะจัมปะกะ     | พิเศษ 2 : 208-222 |
| วันเพ็ญ ดวงสว่าง         | 1 : 69-89         | สุกัลยาณี ไชยมี          | 3 : 233-242       |
| วิชชุดา จริยะพันธุ์      | พิเศษ 2 : 174-183 | สุดธิดา หมีทอง           | พิเศษ 2 : 184-197 |
| วิชาดา จงมีวาสนา         | 4 : 391-400       | สุดธิดา หมีทอง           | พิเศษ 3 : 312-321 |
|                          | 2 : 79-90         | สุนัน วงษ์ศรี            | 3 : 304-312       |
|                          | 3 : 219-232       |                          | พิเศษ 3 : 287-301 |
| วิภาพรรณ ไสยสมบัติ       | พิเศษ 1 : 1-19    |                          | 2 : 197-203       |
| วิไลศักดิ์ วุฒิอดิเรก    | 4 : 364-381       | สุภาณี ดวงธีรปรีชา       | พิเศษ 1 : 1-19    |
| วีรวุฒิ วิทยนันท์        | 4 : 391-400       |                          | พิเศษ 1 : 20-33   |
|                          | 3 : 219-232       | สุภาพร ภูมิอมร           | 2 : 109-126       |
|                          |                   |                          | 3 : 233-242       |
| ศ                        |                   | สุภาพรณ นียมแก้ว         | พิเศษ 1 : 121-131 |
| ศรกฤษณ์ มาบำรุง          | 2 : 142-156       | สุภาวดี สุรางค์กุล       | พิเศษ 1 : 1-19    |
| ศศิธร จุติเพชรกุล        | พิเศษ 2 : 244-253 |                          | 3 : 243-256       |
| ศศิธร หอมดำรงวงศ์        | 1 : 37-47         | สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์     | พิเศษ 1 : 115-120 |
|                          | 3 : 205-218       | สุนันทา วัฒนสินธุ์       | 1 : 1-21          |
| ศักดิ์วิชัย อ่อนทอง      | 2 : 174-185       | สุเมธ เทียงธรรม          | 2 : 157-173       |
|                          | 4 : 327-340       |                          | พิเศษ 2 : 208-222 |
| ศิริพร ป้อมไย            | พิเศษ 3 : 302-311 | สุรศักดิ์ หมั่นพล        | 2 : 197-203       |
| ศิริพร ทองประกายแสง      | พิเศษ 3 : 323-336 |                          | 3 : 304-312       |
| ศิริมา ปัทมติก           | พิเศษ 1 : 102-114 |                          | พิเศษ 3 : 287-301 |
| ศุภกร จันทรจ่อม          | 4 : 352-363       | สุวรรณา เขียรอังกูร      | พิเศษ 3 : 337-350 |
|                          |                   | เสาวณีย์ ทองดี           | 2 : 174-185       |

|                            |                   |                       |                   |
|----------------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|
|                            | อ                 | อัจฉรา อยู่คง         | 1 : 48-57         |
| อณิชา เลื่องชัยเชวง        | พิเศษ 1 : 88-101  |                       | 2 : 127-141       |
| อธิวัฒน์ ปริมลศิริคุณาวุฒิ | พิเศษ 1 : 102-114 |                       | 3 : 269-278       |
| อนงค์นุช เนยเมืองปัก       | พิเศษ 1 : 34-45   | อัจฉริยา ลูกบัว       | พิเศษ 1 : 102-114 |
| อนุสรณ์ ดิษฐสุวรรณค์       | พิเศษ 3 : 302-311 | อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์ | 3 : 304-312       |
| อภิรักษ์ คักดีเพ็ชร        | 4 : 327-351       | อุมา บริบูรณ์         | 3 : 205-218       |
| อภิวิทย์ ธวัชสิน           | 2 : 186-196       |                       | 1 : 37-47         |
| อมรรัตน์ ทศนกิจ            | พิเศษ 2 : 254-262 | อุษาวดี ถาวรระ        | 2 : 186-196       |
| อรพิน ทนันทติ              | พิเศษ 2 : 223-243 | เอกรินทร์ ทรัพย์มาก   | 3 : 304-312       |
| อัจฉรา ภูมิ                | 2 : 186-196       |                       |                   |

---

## AUTHOR INDEX

### Bull Dept Med Sci 57 (1-4) 2015

| A                        |                  | J                       |                  |
|--------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| Aekkarin Submark         | 57 : 3 : 304-312 | Jakkrawarn Chompoosri   | 57 : 2 : 186-196 |
| Amornrat Tatsanakit      | sppl 2 : 254-262 | Jaturong Sinkheaw       | 57 : 1 : 37-47   |
| Anicha Luengchaichaweng  | sppl 1 : 88-101  | Jedsada Katosod         | 57 : 4 : 364-380 |
| Anongnut Noeimuangpak    | sppl 1 : 34-45   | Jintana Kitcharoenwong  | 57 : 1 : 58-68   |
| Anusorn ditsawan         | sppl 3 : 302-311 | Jintana Kitcharoenwong  | sppl 1 : 54-71   |
| Apirak Sakpetch          | 57 : 4 : 327-340 | Jiranuch Jamtaweekul    | 57 : 2 : 157-173 |
| Apiwat Tawatsin          | 57 : 2 : 186-196 | Jiranuch Jamtaweekul    | sppl 1 : 20-33   |
| Archawin Rojanawiwat     | 57 : 3 : 304-312 | Jiranuch Mingmuang      | 57 : 2 : 174-185 |
| Atchara Phumee           | 57 : 2 : 186-196 | Jirapa Unahalekhaka     | 57 : 4 : 341-351 |
| Atchara Ukhong           | 57 : 2 : 127-141 | Jitpaka Suntudrob       | sppl 3 : 263-274 |
| Atchara Ukhong           | 57 : 3 : 269-278 | Jitpaka Suntudrob       | 57 : 2 : 79-90   |
| Atchara Ukong            | 57 : 1 : 48-57   | Jitpaka Suntudrop       | 57 : 4 : 391-400 |
| Atchariya Lukebua        | sppl 1 : 102-114 | Jumrern Duangngnamying  | sppl 3 : 323-336 |
| Athiwat Primsirikunawu   | sppl 1 : 102-114 |                         |                  |
| B                        |                  | K                       |                  |
| Bhurit Songthananit      | 57 : 3 : 233-242 | Kamonluck Intharatsamee | sppl 2 : 184-197 |
|                          |                  | Kamonluck Intharatsamee | sppl 3 : 323-336 |
|                          |                  | Kamonluck Intharatsamee | sppl 3 : 323-336 |
| C                        |                  | Kamonwan Kantaeng       | 57 : 1 : 48-57   |
| Chayada Khumsawads       | 57 : 2 : 186-196 | Kamonwan Kantang        | 57 : 2 : 127-141 |
| Chitra Chaiyawat         | 57 : 2 : 157-173 | Kamonwan Kantang        | 57 : 3 : 269-278 |
| Chomchailai Sinthusarn   | sppl 2 : 208-222 | Kanika Jittiyossara     | 57 : 4 : 381-390 |
| Chomchailai Sinthusarn   | sppl 2 : 254-262 | Kannika Jittiyossara    | 57 : 1 : 22-36   |
| Chomchailai Sinthusarn   | sppl 3 : 287-301 | Kannika Jittiyossara    | sppl 3 : 275-286 |
| Chomchalai Sinthusarn    | 57 : 3 : 304-312 | Kanogwan Toonsakool     | sppl 1 : 72-88   |
| D                        |                  | Kanokpan Somyoonsup     | sppl 2 : 244-253 |
| Daveesapya Chisomboonpan | sppl 1 : 46-53   | Kanokporn Atisook       | 57 : 2 : 79-90   |
| Duangpen Pattamadilok    | 57 : 4 : 327-340 | KanokpornAtisook        | sppl 3 : 263-274 |
|                          |                  | Kanya Puksun            | 57 : 1 : 22-36   |
|                          |                  | Kanyarat Chonlasit      | 57 : 4 : 352-363 |

|                           |                  |                         |                  |
|---------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| Karuna Teerasamit         | 57 : 1 : 22-36   |                         | <b>P</b>         |
| Khemikar Hemloha and      | sppl 2 : 163-173 | Padet Siriyasatien      | 57 : 2 : 186-196 |
| Kittipong Keardrit        | 57 : 2 : 197-203 | Panadda Dhepakson       | sppl 1 : 88-101  |
| Kittiya Shearman          | 57 : 2 : 142-156 | Panadda Silva           | 57 : 2 : 142-156 |
| Kokeiat Sattarin          | sppl 2 : 244-253 | Panadda Vironboonyaphat | sppl 3 : 287-301 |
| Kuntong Pednog            | sppl 1 : 72-88   | Pantida Treeyoung       | sppl 1 : 88-101  |
|                           |                  | Passarin Saysuwary      | 57 : 3 : 205-218 |
| <b>L</b>                  |                  | Patcha Incomeserb       | sppl 1 : 102-114 |
| Ladapan Saengklae         | 57 : 1 : 22-36   | Patcharida Pichai       | sppl 2 : 198-207 |
| Ladapan Saengklae         | 57 : 4 : 405-414 | Pathom Sawanpanyalert   | sppl 1 : 102-114 |
| Ladawan Chungsamanukool   | 57 : 1 : 48-57   | Paveena Charoensit      | sppl 1 : 46-53   |
| Ladawan Chungsamanukul    | 57 : 2 : 127-141 | Payu Bhakdeenuan        | 57 : 2 : 186-196 |
| Ladda Kaewklapanyacharoen | 57 : 4 : 341-375 | Peradhama Thiemthieprat | 57 : 4 : 327-340 |
| ladda Kaewklapanyacharoen | 57 : 2 : 91-108  | Pichaya Deesri          | sppl 3 : 275-286 |
|                           |                  | Pinit ngamprasit        | 57 : 3 : 304-312 |
| <b>M</b>                  |                  | Piyamas Jamsri          | 57 : 1 : 22-36   |
| Malee Jaroenvitvorakul    | 57 : 3 : 279-292 | Piyamas Jamsri          | 57 : 4 : 381-390 |
| Maliwan Homchan           | 57 : 2 : 197-203 | Pornhatai Kankaew       | 57 : 2 : 142-156 |
| Maliwan Homchan           | 57 : 3 : 304-312 | Pornsri Prasertwaree    | 57 : 2 : 174-185 |
| Maskiet Boonyareth        | 57 : 1 : 1-21    | Pornthep Chuncunapas    | 57 : 1 : 69-78   |
|                           |                  | Prachyaporn Inthongkaew | sppl 1 : 20-33   |
| <b>N</b>                  |                  | Prapapan Sukphan        | sppl 1 : 20-33   |
| Nanthawan Mekha           | sppl 2 : 244-253 | Prapasri oonyaprapapan  | sppl 2 : 244-253 |
| Naruemon Khanteekul       | sppl 2 : 198-207 | Prasit Opas             | sppl 1 : 1-19    |
| Natamol Tianmanee         | sppl 3 : 287-301 | Preeyaporn Pookrod      | 57 : 2 : 142-156 |
| Natthakarn Mingngamsup    | 57 : 3 : 233-242 | Prompussorn Dissara     | 57 : 2 : 197-203 |
| Navakanit Sachanonta      | 57 : 1 : 1-21    | Prompussorn Dissara     | 57 : 3 : 304-312 |
| Nipahaporn Lakshanasomya  | sppl 1 : 54-71   |                         |                  |
| Nirundorn Raekasin        | sppl 2 : 163-173 | <b>R</b>                |                  |
| Nuchattrra Chansuvanich   | 57 : 4 : 327-340 | Rames koranee           | sppl 3 : 302-311 |
| Nuchattrra Chansuwanich   | 57 : 2 : 174-185 | Ratchadaporn Suwannarat | 57 : 1 : 48-57   |
|                           |                  | Ratchadaporn Suwannarat | 57 : 3 : 269-278 |
| <b>O</b>                  |                  | Rattiyakorn Srikote     | 57 : 4 : 391-400 |
| Orapin Tanunkat           | sppl 2 : 223-243 | Raywadee Butraporn      | 57 : 1 : 1-21    |
|                           |                  | Rungtip Jeotee          | sppl 2 : 208-222 |

|                               |                   |                           |                  |
|-------------------------------|-------------------|---------------------------|------------------|
| <b>S</b>                      |                   | Supawadee Surangkul       | 57 : 3 : 243-256 |
| Saiwarul Jadoonkittinan       | sppl 2 : 174-183  | Supawan Chongthamawat     | sppl 1 : 115-120 |
| Sakorn Singsalasaeng          | sppl 3 : 275-286  | Suppakorn Janjom          | 57 : 4 : 352-363 |
| Sakulrat Soonthorncharttrawat | sppl 1 : 88-101   | Surasak Muenphon          | 57 : 2 : 197-203 |
| Sakwichai Onthong             | 57 : 2 : 174-185  | Surasak Muenpon           | sppl 3 : 287-301 |
| Sakwichai Ontong              | 57 : 4 : 327-340  | Sursak Muenpho            | 57 : 3 : 304-312 |
| Sangkom Vittayanan            | 57 : 4 : 364-380  | Suthida meethong          | sppl 2 : 184-197 |
| Saowanee Thongdee             | 57 : 2 : 174-185  | Suthon Vongsheree         | 57 : 2 : 197-203 |
| Sarinya Julsrigival           | 57 : 4 : 352-363  | Suthon Vongsheree         | 57 : 3 : 304-312 |
| Sasithorn Thitipetchrakul     | sppl 2 : 244-253  | Suthon Vongsheree         | sppl 3 : 287-301 |
| Sasitorn Homdumrongvong       | 57 : 1 : 37-47    | Suwunna Tienungoon        | sppl 3 : 337-350 |
| Sasitorn Homdumrongvong       | 57 : 3 : 205-218  |                           |                  |
| Sataporn Klomkaew             | 57 : 1 : 69-78    | <b>T</b>                  |                  |
| Sataporn Klomkaew             | sppl 1 : 115-120  | Tanongpan Satjapala       | sppl 1 : 72-88   |
| Sirada Pongmuangmul           | 57 : 4 : 364-380  | Teeranart Jivapaisarnpong | sppl 2 : 174-183 |
| Sirikarn Thana-ariyaroj       | 57 : 4 : 327-340  | Teeraphan Boontphaew      | 57 : 3 : 293-303 |
| Sirilak Sailo                 | 57 : 3 : 243-256  | Teerapon Kachacheewa      | 57 : 2 : 109-126 |
| Sirima Pattamadilok           | sppl 1 : 102-114  | Thanchanok Pitak          | sppl 1 : 121-131 |
| Siriporn pomyai               | sppl 3 : 302-311  | Theerakamol Pengsakul     | 57 : 2 : 186-196 |
| Siriporn Thongprakaisang      | sppl 3 : 323-336  | Thongsuk Payanan          | 57 : 2 : 91-108  |
| Sitaphaisith Ekachampaka      | sppl 2 : 208-222  | Thongsuk Payanan          | 57 : 4 : 391-400 |
| Somchai Sangkitporn           | 57 : 1 : 1-21     | Ticomporn Yamsaad         | 57 : 1 : 1-21    |
| Somchai Sangkitporn           | 57 : 2 : 186-196  | Titaporn Pootipinyowat    | sppl 2 : 174-183 |
| Somsak Sunthornphanich        | 57 : 3 : 243-256  |                           |                  |
| Sornkrit Marbumrung           | 57 : 2 : 142-156  | <b>U</b>                  |                  |
| Sudthida Meethong             | sppl 3 : 312-321  | Uma Boriboon              | 57 : 1 : 37-47   |
| Sukanlayanee Chaimee          | 57 : 3 : 233-242  | Uma Boriboon              | 57 : 3 : 205-218 |
| Sumate Thiangthum             | sppl 2 : 208-222  | Usavadee Thavara          | 57 : 2 : 186-196 |
| Sumate Thiangthum             | 57 : 2 : 157-173  |                           |                  |
| Sumontha Vadhanasin           | 57 : 1 : 1-21     | <b>W</b>                  |                  |
| Supanee Duangteraprecha       | 57:พิเศษ 1 : 1-19 | Walailuk Metapatara       | 57 : 2 : 157-173 |
| Supanee Duangteraprecha       | sppl 1 : 20-33    | Wanpen Duangsawang        | 57 : 1 : 69-78   |
| Supaporn Niyomkaew            | sppl 1 : 121-131  | Waridtha Sa-Nguanruang    | 57 : 1 : 1-21    |
| Supaporn Phumiamorn           | 57 : 3 : 233-242  | Weerawut Wittayanan       | 57 : 3 : 219-232 |
| Supaporn Phumiaorn            | 57 : 2 : 109-126  | Weerawut Wittayanan       | 57 : 4 : 391-400 |
| Supawadee Surangkul           | 57:พิเศษ 1 : 1-19 | Wichuda Jariyapan         | sppl 2 : 174-183 |

---

|                       |                     |                      |                  |
|-----------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| Wipapan Saiyasombat   | 57 : พิเศษ 1 : 1-19 | Wisitsak Wuttiadirek | 57 : 4 : 364-380 |
| Wischada Jongmevasana | 57 : 2 : 79-90      | Wongduan Nakniyom    | 57 : 3 : 257-268 |
| Wischada Jongmevasna  | 57 : 3 : 219-232    |                      |                  |
| Wischada Jongmevasna  | 57 : 4 : 391-400    |                      |                  |
|                       |                     | <b>Y</b>             |                  |
|                       |                     | Yuparaid Uetongchit  | 57 : 1 : 58-68   |
|                       |                     | Yuttana Phusup       | 57 : 2 : 186-196 |

---

## ดัชนีชื่อเรื่อง

### ว กรรมวิทย พ 57 (1-4) 2558

|                                      |                   |  |                               |                   |  |
|--------------------------------------|-------------------|--|-------------------------------|-------------------|--|
| ก                                    |                   |  |                               |                   |  |
| กรณีศึกษา : ความผิดพลาด              | 2 : 197-203       |  | การทดสอบด้านพิษวิทยาด้วย      | พิเศษ 3 : 337-350 |  |
| ในการคำนวณสถิติจาก                   |                   |  | วิธีทางเลือก                  |                   |  |
| ค่าลอการิทึม                         |                   |  | การทวนสอบวิธีวิเคราะห์        | พิเศษ 2 : 163-173 |  |
| การช่วยเหลือผู้ประกอบการ             | 4 : 381-390       |  | ปริมาณปรอททั้งหมดใน           |                   |  |
| น้ำดื่มบรรจุขวดและน้ำแข็ง            |                   |  | อาหารทะเลด้วยเครื่องวิเคราะห์ |                   |  |
| ในพื้นที่ประสบมหาอุทกภัย             |                   |  | ปรอทโดยเทคนิคการเผา           |                   |  |
| ปี 2554 - 2555                       |                   |  | การปนเปื้อนเชื้อราและ         | พิเศษ 2 : 244-253 |  |
| การตรวจวิเคราะห์ปริมาณ               | 3 : 257-268       |  | อะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์        |                   |  |
| สารไล่แมลง โดยวิธี HPLC              |                   |  | ถั่วพร้อมบริโภค               |                   |  |
| การเตรียมความพร้อมเพื่อ              | พิเศษ 1 : 121-131 |  | การประเมินการได้รับสัมผัส     | พิเศษ 2 : 198-207 |  |
| ขอรับรองความสามารถ                   |                   |  | ของกรดเบนโซอิกใน              |                   |  |
| ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์            |                   |  | น้ำพริกหนุมที่จำหน่าย         |                   |  |
| ตามมาตรฐาน ISO 15189:2012            |                   |  | ในจังหวัดเชียงใหม่            |                   |  |
| ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 12/ตรัง  |                   |  | ปี พ.ศ. 2553 - 2556           |                   |  |
| การถ่ายโอนและการตรวจสอบ              | 3 : 243-256       |  | การประเมินการได้รับสัมผัส     | 1 : 58-68         |  |
| ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์          |                   |  | ของซัลเฟอร์ไดออกไซด์          |                   |  |
| เพอร์นิกโซโลนในยาเม็ดโดยวิธี UPLC    |                   |  | จากการบริโภคผักและ            |                   |  |
| การทดสอบความถูกต้องของ               | พิเศษ 2 : 174-183 |  | ผลไม้แห้งนำเข้าจาก            |                   |  |
| วิธีแคปิลลารีโซนอิเล็กโทรโฟรีซิส     |                   |  | ต่างประเทศของคนไทย            |                   |  |
| ในการตรวจเอกลักษณ์ของยาชีววัตถุ      |                   |  | พ.ศ. 2548-2557                |                   |  |
| เพื่อการรักษาชนิดโมโนโคลนอลแอนติบอดี |                   |  | การประเมินความถูกต้อง         | พิเศษ 1 : 54-71   |  |
| การทดสอบความถูกต้องของ               | 3 : 279-292       |  | ของวิธีวิเคราะห์โปรตีน        |                   |  |
| วิธีวิเคราะห์และการสำรวจ             |                   |  | ในผลิตภัณฑ์ปรุงรสที่ได้       |                   |  |
| ปริมาณสารไนโตรฟูแรนส์เมตา            |                   |  | จากการย่อยโปรตีนของ           |                   |  |
| ไบโกลี ในเนื้อสัตว์ โดย LC-MS/MS     |                   |  | ถั่วเหลืองโดยการเปรียบเทียบ   |                   |  |
| การทดสอบความเป็นพิษ                  | พิเศษ 1 : 46-53   |  | ผลระหว่างห้องปฏิบัติการ       |                   |  |
| ต่อเซลล์เนื้อเยื่อเพาะเลี้ยง         |                   |  | ที่มีความเชี่ยวชาญ            |                   |  |
| ของภาชนะพลาสติก สำหรับ               |                   |  | การประเมินความเสี่ยงของ       | 1 : 22-36         |  |
| บรรจุผลิตภัณฑ์เภสัชปราศจากเชื้อ      |                   |  | น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ          |                   |  |
| โดยวิธี Agar Diffusion               |                   |  | ในเขตภาคกลางและการสนับสนุน    |                   |  |
|                                      |                   |  | การกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพ   |                   |  |

|                                                                                                                                                                     |                  |                                                                                                                                                                                          |                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| การพัฒนาการตรวจหาเชื้อ<br>มาลาเรียในระดับสปีชีส์<br>โดยวิธี Multiplex PCR                                                                                           | พิเศษ 1 : 88-101 | การพัฒนานิ่วตรวจวิเคราะห์<br>Benzo (a) pyrene<br>ในน้ำมันบริโภค                                                                                                                          | พิเศษ 3 : 263-274 |
| การพัฒนาเทคนิคปฏิบัติ<br>ในการวิเคราะห์หา<br>Light Filth ในอาหาร                                                                                                    | 3 : 313-320      | การพัฒนานิ่วตรวจวิเคราะห์<br>สารรมเมทิลโบรไมด์<br>ในรูปของโบรไมด์ไอออน                                                                                                                   | 3 : 219-232       |
| การพัฒนาแผ่นแปะผิวหนัง<br>จากสมุนไพรบวบ                                                                                                                             | 2 : 174-185      | อนินทรีย์ในข้าวสารโดย<br>เทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี                                                                                                                                          |                   |
| การพัฒนาระบบคุณภาพ<br>การทดสอบความชำนาญ<br>การวิเคราะห์อาหารและน้ำ<br>พ.ศ. 2554 ถึง 2556                                                                            | 2 : 79-90        | การพัฒนานิ่ววิเคราะห์ปริมาณ<br>เตกซาเมทาโซนและเพรตนิโซโลน<br>ในยาแผนโบราณโดยเทคนิค<br>โครมาโทกราฟีชนิดของเหลว                                                                            | 2 : 157-173       |
| การพัฒนาระบบบริหาร<br>คุณภาพห้องปฏิบัติการ<br>ของสำนักยาและวัตถุเสพติด                                                                                              | พิเศษ 1 : 34-45  | ประสิทธิภาพสูง                                                                                                                                                                           |                   |
| การพัฒนาและตรวจสอบ<br>ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์<br>สารหนู ตะกั่ว และแคดเมียม<br>ในยาจากสมุนไพร โดยวิธี<br>Graphite Furnace Atomic<br>Absorption Spectrophotometry | พิเศษ 1 : 20-33  | การพัฒนาศักยภาพ<br>ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์<br>ตะกั่ว และแคดเมียมในน้ำ<br>ในประเทศไทย ระหว่างปี<br>พ.ศ. 2551-2557                                                                         | พิเศษ 3 : 275-286 |
| การพัฒนาและตรวจสอบ<br>ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์<br>อะซีโพรมัยซินในรูปแบบ<br>ยาแคปซูลและยาผงสำหรับ<br>เตรียมเป็นยาน้ำแขวนตะกอน                                     | พิเศษ 1 : 1-19   | การพัฒนาศูตรตำรับผลิตภัณฑ์<br>ป้องกันแสงแดดสำหรับแผนงาน<br>ทดสอบความชำนาญ                                                                                                                | พิเศษ 3 : 312-322 |
| การพัฒนาและทดสอบ<br>ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์<br>ไนโตรฟูแรนส์ เมตาโบไลต์<br>ในอาหาร โดย LC-MS/MS                                                                  | 2 : 91-108       | การวางระบบตรวจสอบ<br>ขึ้นทะเบียนหน่วยงานทดสอบ<br>หรือวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์<br>ซึ่งไม่ได้ทดลองในคน                                                                                  | พิเศษ 2 : 208-222 |
| การพัฒนาและทดสอบ<br>ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ยา<br>ตกค้างกลุ่มควิโนโลนในเนื้อสัตว์<br>โดยเทคนิค HPLC-FLD                                                          | 4 : 341-375      | การวิเคราะห์ตะกั่ว แคดเมียม<br>และอะลูมิเนียมที่ละลาย<br>ออกมาจากภาชนะหุงต้ม                                                                                                             | 1 : 37-47         |
|                                                                                                                                                                     |                  | การวิเคราะห์สารเร่งเนื้อแดง<br>เคลนบิวเตอร์อลในเนื้อหมู<br>โดยใช้เทคนิค Exact-matching<br>double IDMS: ผลการเข้าร่วม<br>เปรียบเทียบผลการวัด<br>APMP.QM-S6 Clenbuterol<br>in Porcine Meat | 2 : 142-156       |

|                                     |                   |                                      |                   |
|-------------------------------------|-------------------|--------------------------------------|-------------------|
| การศึกษาความเป็นพิษ                 | 1 : 1-21          | ค                                    |                   |
| เนียบพลัน และพิษเรื้อรัง            |                   | ความปลอดภัยทาง                       | 3 : 269-278       |
| ของสารสกัดใบพลู (Piper betle L.)    |                   | จุลชีววิทยาของอาหาร                  |                   |
| การศึกษาปริมาณ บีสฟีนอล             | 3 : 205-218       | พร้อมบริโภคน้ำที่จำหน่าย             |                   |
| เอ ฟีนอล และพี-ที-บิวทิลฟีนอล       |                   | ณ สถานีขนส่งผู้โดยสาร                |                   |
| ที่แพร่ออกมาจากขวดนม                |                   | ในเขตกรุงเทพมหานคร                   |                   |
| และภาชนะบรรจุอาหารสำหรับ            |                   | ความเสี่ยงสุขภาพของ                  | พิเศษ 3 : 302-311 |
| เด็กชนิดพอลิคาร์บอเนต ที่สภาวะต่างๆ |                   | เจ้าหน้าที่จากการใช้สารเคมี          |                   |
| การศึกษาสารเคมีป้องกัน              | 4 : 391-400       | อันตรายในห้องปฏิบัติการของ           |                   |
| กำจัดศัตรูพืชตกค้างในผลส้ม          |                   | ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 8        |                   |
| การสร้างศักยภาพการเป็น              | 2 : 109-126       | (นครสวรรค์)                          |                   |
| ห้องปฏิบัติการอ้างอิงสากล           |                   | คุณภาพผลิตภัณฑ์ย้อมผม                | พิเศษ 3 : 323-336 |
| ผ่านการพัฒนาและการตรวจ              |                   | แบบสัติดถาวรที่จำหน่าย               |                   |
| รับรองระบบคุณภาพ ISO guide 34       |                   | ในประเทศไทยปี                        |                   |
| การสำรวจคุณภาพเครื่อง               | 1 : 69-78         | พ.ศ. 2555 – 2556                     |                   |
| ควบคุมการให้สารละลาย                |                   | คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ            | 4 : 364-380       |
| ทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล           |                   | ของสมุนไพรแก่นจาง                    |                   |
| การสำรวจคุณภาพทาง                   | 1 : 48-57         | ท                                    |                   |
| จุลชีววิทยาของไอศกรีม               |                   | ทางเลือกใหม่ในการตรวจ                | พิเศษ 2 : 223-243 |
| การสำรวจปริมาณสารหล่อลื่น           | พิเศษ 1 : 115-120 | วิเคราะห์ ยากลุ่ม                    |                   |
| ในถุงยางอนามัยที่จำหน่าย            |                   | amphetamines ในปัสสาวะ               |                   |
| ในประเทศไทย                         |                   | น                                    |                   |
| การหาปริมาณ imperatorin             | 4 : 327-340       | แนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพ            | 3 : 321-350       |
| ในผลมะตูมด้วยวิธี                   |                   | การทดสอบหา light filth               |                   |
| Ultra Performance Liquid            |                   | ป                                    |                   |
| Chromatography (UPLC)               |                   | ปฏิกิริยาเสมือนภูมิแพ้ชนิด           | 3 : 293-303       |
| ข                                   |                   | เนียบพลันจากสารที่บ่งชี้ชนิด         |                   |
| ข้อกำหนดทางเคมีและ                  | 4 : 352-363       | ไม่แตกตัวเป็นประจุในผู้ป่วย          |                   |
| กายภาพของโกลูโนเต้า                 |                   | ที่เข้ารับการตรวจเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ |                   |

ปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลา พิเศษ 3 : 287-301

การแก้ไขข้อบกพร่องจาก  
การตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ  
ทางการแพทย์ ตามมาตรฐาน  
ISO 15189

ย

ยุงพาหะโรคไข้เลือดออก 2 : 186-196  
และซีโรทัยป์ของเชื้อไวรัสเดงกี  
ในวงจรการเกิดโรคในประเทศไทย

ว

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟลูออไรด์ พิเศษ 2 : 184-197  
รวมทั้งหมดในยาสีฟันโดยวิธี GC-FDI

ผ

ผลกระทบของการล้างผัก พิเศษ 1 : 72-87  
บริโภคดิบเพื่อลดสารตกค้าง  
ที่มีต่อปริมาณพยาธิปนเปื้อน

ผลสัมฤทธิ์ด้านประสิทธิผล พิเศษ 2 : 254-262  
และคุณภาพการให้บริการ  
การดำเนินงานตามภารกิจหลัก  
ของสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ  
ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-2557

ส

สภาวะที่เหมาะสมสำหรับ 3 : 233-242  
การเพาะเลี้ยงไวรัสโรตา  
สายพันธุ์วัคซีนเพื่อใช้เป็นไวรัส  
อ้างอิงสำหรับการประเมิน  
ค่าความแรงของวัคซีนไวรัส  
โรตาซีโรทัยป์เดี่ยว

พ

พัฒนาการเป็นผู้ดำเนินการ 2 : 127-141  
แผนทดสอบความชำนาญ  
การตรวจวิเคราะห์อาหาร  
ทางจุลชีววิทยา

พัฒนาวิธีตรวจวินิจฉัย พิเศษ 1 : 102-114  
โรคสมองอักเสบนิปาห์  
ด้วยเทคนิค RT-PCR  
และ Real Time PCR

สรุปและวิเคราะห์สาเหตุ 3 : 304-312  
ที่แรงงานไทยถูกส่งกลับจาก  
การตรวจโรคไม่ผ่าน  
ในต่างประเทศ ระหว่าง  
พ.ศ. 2554-2557

## Bull Dept Med Sci 57 (1-4) 2015

413

Development of Proficiency 2 : 127-141

Testing Providing for Food

Microbiological Testing Laboratory

Development of Proficiency 2 : 79-90

Testing Quality System on Food

and Water Analysis (2011-2013)

Development of the Laboratory suppl 1 : 34-45

Quality Management System : Bureau

of Drug and Narcotic

Development of Analytical suppl 3 : 263-274

Method for Benzo(a) Pyrene

in Edible Oil

**E**

Establishment of Inspection suppl 2 : 208-222

System for Non-clinical

Research in Medical Science

Establishment of RT-PCR suppl 1 : 102-114

and Real Time RT-PCR

assay for Diagnosis of

Nipah Virus Encephalitis

Exposure Assessment of suppl 2 : 198-207

Benzoic acid in

Nam Prig Noom sold

in Chiang Mai since 2010 – 2013

Factors Affected the Duration suppl 3 : 287-301

of Corrective Action Time of

Medical Laboratory Assessment

According to ISO 15189

**F**

Fungus &amp; Aflatoxin suppl 2 : 244-253

Contamination in Ready

to Eat Nuts Products

**G**

Guidelines for Increasing 3 : 321-

the Efficiency of Light

Filtration Determination

**H**

Health Risk of Laboratory's suppl 3 : 302-311

Staffs of Regional Medical

Sciences Center 8 (Nakhon Sawan)

in Using of Hazardous.

**I**

Impact of Washing Methods suppl 1 : 72-87

for Reduction of Pesticide

Residues in Raw Vegetables

on Parasitic Contamination

**L**

Laboratory Findings Failure 2 : 197-203

in Calculating the Statistics

from Logarithm Values : Case Study

**M**

Method Development and 3 : 219-232

Removal of Methyl

Bromide Residue Determined

as Total Inorganic Bromide

in Rice by Gas Chromatographic

Technique

Method Development and suppl 1 : 20-33

Validation for Determination

of Arsenic, Lead and Cadmium

In Herbal Medicines by Graphite

Furnace Atomic Absorption

Spectrophotometry

|                                                                                                                                                                            |                   |          |                                                                                                                                                                |                   |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------|
| Method development and validation for determination of nitrofuran metabolites in food by LC-MS/MS                                                                          | 2 : 91-108        | <b>P</b> | Potential of Analytical Laboratories of Lead and Cadmium in Water in Thailand During 2008 - 2014                                                               | suppl 3 : 275-286 |
| Method Development for Determination of Dexamethasone and Prednisolone in Traditional Drug by High-Performance Liquid Chromatography                                       | 2 : 157-173       |          | Practical Technique Development for Light Filth Determination in Foods                                                                                         | 3 : 313-320       |
| Method validation and a total nitrofuran metabolites in animal tissues by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS-MS)                                        | 3 : 279-292       |          | Preparation Guidelines for Laboratory Accreditation of Public Health Laboratory According to ISO 15189:2012 of the Regional Medical Sciences Center 12/1 Trang | suppl 1 : 121-131 |
| Method Validation of Capillary Zone Electrophoresis Technique for Identity Testing of Biotherapeutic Products : Monoclonal Antibody                                        | suppl 2 : 174-183 | <b>Q</b> | Quality of Hair dye Products Sold in Thailand Between 2012 -2013                                                                                               | suppl 3 : 323-336 |
| Microbiological Safety of Ready to Eat Foods Sold Bus Terminal and Railway Station in Bangkok                                                                              | 3 : 269-278       |          | Quantitative Analisis of Imperatorin in Bael fruit by Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)                                                           | 4 : 327-340       |
| <b>N</b>                                                                                                                                                                   |                   | <b>R</b> |                                                                                                                                                                |                   |
| New Approach for Analysis of Amphetamines in Urine                                                                                                                         | suppl 2 : 223-243 |          | Relief of producers of bottled drinking water and ice in huge flood areas in 2011-2012                                                                         | 4 : 381-390       |
| <b>O</b>                                                                                                                                                                   |                   |          | Risk Assessment of Drinking Water from Vending Machines in the Central Area and Support of Establishment of the Quality Standard                               | 1 : 22-36         |
| Optimal Conditions for Propagation of Rotavirus Monovalent Vaccine Strain to Use as a Reference Rotavirus for Evaluation of Potency Values of Monovalent Rotavirus Vaccine | 3 : 233-242       |          |                                                                                                                                                                |                   |

| S                                |                   |                                 |                   |
|----------------------------------|-------------------|---------------------------------|-------------------|
| Simultaneous Determination       | 3 : 257-268       | The Development of              | 2 : 174-185       |
| of Insect Repellent by HPLC      |                   | Transdermal Patch From          |                   |
|                                  |                   | Centella Asiatica (.L) Urban    |                   |
| Study of Pesticide Residues      | 4 : 391-400       | The Exposure Assessment of      | 1 : 58-68         |
| in Oranges                       |                   | Sulfur Dioxide Intake from      |                   |
| Study Physicochemical            | 4 : 364-380       | Imported Dried Vegetable        |                   |
| Properties of Maerua             |                   | and Fruit in Thai Populations   |                   |
| siamensis (Kurz) Pax. Heartwood  |                   | 2005-2014                       |                   |
| Survey of the Microbiological    | 1 : 48-57         | The Investigation on            | 1 : 69-78         |
| Quality in Ice Cream             |                   | Quality of Infusion Pumps       |                   |
|                                  |                   | in Hospitals                    |                   |
| T                                |                   |                                 |                   |
| Thailand overseas labors         | 3 : 304-312       | The Method Verification         | suppl 2 : 163-173 |
| returned from disease            |                   | of Total Mercury Analysis       |                   |
| detected abroad between          |                   | in Seafood by Using Direct      |                   |
| 2554-2557 : summarized           |                   | Mercury Analyzer Combustion     |                   |
| and analyzed for the root Causes |                   | Technique                       |                   |
| The Achievement of the           | suppl 2 : 254-262 | U                               |                   |
| Effectiveness of Operations      |                   | UPLC Transfer and Method        | 3 : 243-256       |
| and the Quality of Services      |                   | Validation of the Determination |                   |
| Based on the Performance         |                   | of Prednisolone Tablets         |                   |
| of the Bureau of Laboratory      |                   |                                 |                   |
| Quality Standards For the        |                   |                                 |                   |
| Fiscal Years 2011-2014           |                   |                                 |                   |



# ใบสมัครเป็นสมาชิก วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ชื่อ.....

ที่อยู่.....

อาชีพ.....

โทรศัพท์.....

ต้องการรับ วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เวลา 1 ปี (4 ฉบับ) เป็นเงิน 200.- บาท  
ตั้งแต่ปี.....

พร้อมนี้ได้ส่ง ☐ ธนาณัติ ☐ ตัวแลกเงินไปรษณีย์  
☐ เงินสด

ส่งจ่าย นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ  
ห้องสมุดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
ซอยโรงพยาบาลบำรุงราศนราดูล ถนนติวานนท์  
นนทบุรี 11000 โทร. 0-2589-9850-8 ต่อ 99339

ส่งจ่าย ปณณ. กระทรวงสาธารณสุข รหัสไปรษณีย์ 11000

## คำขอบคุณ

คณะบรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอขอบพระคุณท่านผู้สละเวลาอันมีค่า  
กรุณาตรวจแก้ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 57 ฉบับที่ 1-4 พ.ศ. 2558  
ดังมีรายนามต่อไปนี้

รศ.ศรีสนธิ อินทรมณี  
ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุฒวัฒนะ  
นายอนันต์ศักดิ์ วงศ์กำแหง  
รศ. ดร.ดาราวรรณ ปันทอง  
ภญ.สุภัทรา อิ่มเอิบ  
ดร.จงดี ว่องพินัยรัตน์  
นางสาวเมตตา ตรีบำรุง  
นางสุวรรณา จารุสุข  
นางลัดดาวลัย โรจนพรรณทิพย์  
นางนภาพร อนันตสินกุล  
นางหรรษา ไชยวานิช  
นางสาววิยะดา อัครวุฒิ  
นายทรงพล ชีวะพัฒน์  
นางนิภาภรณ์ ลักษณะสมยา  
ดร.สุภาณี ดวงธีรปริชา  
ดร.ปนัดดา เทพอัศคร  
ดร.วลัยลักษณ์ เมธาทิทร  
นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย  
นายสุธน วงษ์ชีรี  
นายวัฒนพงษ์ วุทธา

ผศ. ดร.จूरรัตน์ ดาตวง  
รศ. ดร.อดิสร เสวตวิวัฒน์  
นางสาวพรทิพย์พา เตมียกุล  
ดร.นวลตา ม่วงน้อยเจริญ  
นางสาวจุไรรัตน์ รุ่งโรจนารักษ์  
นางสุขศรี อึ้งบริบูรณ์ไพศาล  
นางนันทนา ลิทธิชัย  
นางสาวทิพวรรณ นิ่งน้อย  
นายปรีชา จึงสมานกุล  
ดร.เดือนถนนอม พรหมชาติแก้ว  
นางนลินภัทร์ ศักดิ์ติยสุนทร  
นางสาวสุรชนี เศวตศิลา  
นางอรพิน ทนันทิต  
นางดวงดาว วงษ์สมมาตร  
ดร.อารี ทัตติยพงศ์  
นางสุดธิดา หมีทอง  
ดร.สุเมธ เทียงธรรม  
นางอารีรัตน์ ส่งแสง  
นายอรัญ ทนันทิต

# 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.

|                               |                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Owner</b>                  | Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Administrative Advisor</b> | Apichai Mongkol<br>Varunee Jinaratana                                                                                                                                 | Jureporn Boonyawongvirot                                                                                                                                                                          |
| <b>Technical Advisor</b>      | Amara Vongbuddhapitak<br>Jongdee Wongpinairat<br>Supatra Im-Erb<br>Panadda Silva                                                                                      | Mayura Kusum<br>Pimjai Naigowit<br>Sumol Pavittranon                                                                                                                                              |
| <b>Editor</b>                 | Teeranart Jivapaisarnpong                                                                                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Assistant Editor</b>       | Laojana Chowanadisai                                                                                                                                                  |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Editorial Board</b>        | Prasert Auewarakul<br>Pilaipan puthavathana<br>Pintip Pongpech<br>Danai Tiwaweach<br>Punthip Teeyapant<br>Usavadee Thavara<br>Siri Srimanoroth<br>Wichuda Jariyapan   | Orasa Suthienkul<br>Punnee Pitisuttithum<br>Suchada Chaisawasdi<br>Duanthanorm PromKhatkaew<br>Salakchit Chutipongvivate<br>Busarawan Sriwanthana<br>Kanokporn Atisook<br>Supanee Duangteraprecha |
| <b>Administration</b>         | Namfon Noiprasert<br>Prasan Julwong                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Subscription Rate</b>      | 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. |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Office</b>                 | Department of Medical Sciences<br>88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand.<br>Tel. 0-2951-0000 Fax: 0-2951-1297                                |                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Printed by</b>             | Aroonkarnphim Ltd., Part.<br>457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200<br>Tel. 0-2282-6033-4                                                                             |                                                                                                                                                                                                   |



มุ่งมั่นพัฒนา คำนึงวิจัย ฉบับบริการ มาตรฐานสากล

[www.dmsc.moph.go.th](http://www.dmsc.moph.go.th)