

วารสาร



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2558 Vol. 57 No. 1 January - March 2015

ISSN 0125-684X

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยและแลกเปลี่ยนความรู้ด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ ที่ปรึกษาด้านบริหาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข นพ.อภิชัย มงคล พญ.วารุณี จินารัตน์	นางจุรีภรณ์ บุญวงศ์โรจน์ นพ.วันชัย สัตยาวิมลพงศ์
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	ภญ.อมรา วงศ์พุทธพิทักษ์ ภญ.ดร.จตุร ว่องพินัยรัตน์ ภญ.สุภัทรา อิมเอิบ ดร.ปนัดดา ชิลวา	พญ.มยุรา กุสุมภ์ นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ภญ.ดร.สุมล ปวีตรานนท์
บรรณาธิการ	สพญ. ดร.เยาวภา พงษ์สุวรรณ	
คณะบรรณาธิการ	ศ. ดร. นพ.สมชัย บวรกิตติ ศ. ดร.อรสา สุตเธียรกุล ดร.อารี ทัตติยพงศ์ นายศิริ ศรีมนโรธ นางกนกพร อธิสุข นายสุธน วงษ์ชีรี ดร.สุวรรณมา เจริญอักษร ดร.วิมล เพชรกาญจนางค์ ภญ.ดร.เจริญดี ปิงสุทธีวงศ์ ดร.อารีรัตน์ สง่าแสง	ศ. ดร. นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล ศ. ดร.พิไลพันธ์ พุฒินันท์ นางสาวจุไร โชติธนาทวิวงศ์ ดร.อุษาดี ถาวร นางวิชุดา จริยะพันธ์ นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย นางสิริภากร แสงกิจพร ดร.ประไพ วงศ์สินคงม่น ภญ.ดร.วลัยลักษณ์ เมธำภัทร
เลขานุการ	นางไพรวรรณ บุญวงศ์	
ฝ่ายธุรการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ นางสาวประสาน จุลวงษ์	
กำหนดออก อัตราสมาชิก	ราย 3 เดือน ในประเทศปีละ 200.- บาท ต่างประเทศปีละ 50.00 เหรียญสหรัฐอเมริกา	
สำนักงานวารสาร	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000 โทร. 0-2951-0000 โทรสาร 0-2951-1297	
พิมพ์ที่	หจก. อรุณการพิมพ์ 457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200 โทร. 0-2282-6033-4	

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2558

Vol. 57 No. 1 January - March 2015

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลู (<i>Piper betle</i> L.)	1
มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์ สุธมนทา วัฒนสินธุ์ เรวดี บุตราภรณ์ นวชนิษฐ์ สัจจานนท์	
วริฏฐา สงวนเรือง ทิฆัมพร แยมสอาด และสมชาย แสงกิจพร	
การประเมินความเสี่ยงของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในเขตภาคกลางและการสนับสนุน	22
การกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพ	
ลดาพรรณ แสงคล้าย กัญญา พุกสุ่น ปิยมาศ แจ่มศรี กรุณา ตีรสมิทธิ์	
และกรรณิกา จิตติยศรา	

รายงานจากห้องปฏิบัติการ

การวิเคราะห์ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม	37
ศศิธร หอมดำรงวงศ์ จตุรงค์ สิ้นแก้ว และอุมา บริบูรณ์	
การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม	48
อัจฉรา อยู่คง กมลวรรณ กันแต่ง รัชฎาพร สุวรรณรัตน์ และลดาวลัย จิงสมานกุล	
การประเมินการได้รับสัมผัสของซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากการบริโภคผักและผลไม้แห้ง	58
นำเข้าจากต่างประเทศของคนไทย พ.ศ. 2548-2557	
จินตนา กิจเจริญวงศ์ และยุพเรศ เอื้อตรงจิตต์	
การสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล	69
วันเพ็ญ ดวงสว่าง พรเทพ จันทร์คุณภาส และสถาพร กล่อมแก้ว	

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 57 ฉบับที่ 1 มกราคม - มีนาคม 2558

Vol. 57 No. 1 January - March 2015

CONTENTS

Page

Original Articles

- Acute and Chronic Toxicity Study of *Piper betle* L. Leaf Extract** 1
Maskiet Boonyareth Sumontha Vadhanasin Raywadee Butraporn
Navakanit Sachanonta Waridtha Sa-Nguanruang Ticompon Yamsaad
and Somchai Sangkitporn
- Risk Assessment of Drinking Water From Vending Machines in the Central Area and Support of Establishment of the Quality Standard** 22
Ladapan Saengkklai Piyamas Jamsri Kanya Puksun Karuna Teerasamit
and Kannika Jittiyossara

Laboratory Findings

- Determination of Lead, Cadmium and Aluminium Leached from Cooking Utensils** 37
Sasitorn Homdumrongvong Uma Boriboon
- Survey of the Microbiological Quality in Ice Cream** 48
Atchara Ukong, Kamonwan Kantaeng, Ratchadaporn Suwannarat
and Ladawan Chungsamanukool
- The Exposure Assessment of Sulfur Dioxide Intake from Imported Dried Vegetable and Fruit in Thai Populations 2005-2014** 58
Jintana Kitcharoenwong and Yuparaid Uetrongchit
- The Investigation on Quality of Infusion Pumps in Hospitals** 69
Wanpen Duangsawang Pornthep Chuncunapas and Sataporn Klomkaew



บทบรรณาธิการ



สวัสดีท่านผู้อ่านทุกท่าน...วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีที่ 57 ฉบับที่ 1 มกราคม-มีนาคม 2557 เป็นวารสารฉบับแรกของปี พ.ศ. 2558 นับเป็นปีที่ 57 ของการก่อตั้งวารสารของเรา กล่าวได้ว่าผลงานในวารสารจากอดีตจนปัจจุบันเกิดจาก “วันวานที่ปากเพียร...สู่..วันนี้ที่ภาควิชา” ต้องขอขอบพระคุณท่านผู้ก่อตั้งการจัดทำวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะบรรณาธิการทุกคณะที่ผ่านมา รวมทั้งทุกท่านที่เกี่ยวข้องที่ได้ดำเนินการให้เกิดการจัดการความรู้ในรูปแบบวารสารของกรม และมีการสานต่องานนี้ได้จนปัจจุบัน

ในเล่มนี้มีบทความที่น่าสนใจทั้งหมด 6 เรื่อง เป็นนิพนธ์ต้นฉบับ 2 เรื่อง และรายงานจากห้องปฏิบัติการ 4 เรื่อง นิพนธ์ต้นฉบับเรื่องแรก “การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.)” โดย คุณมาสเกียรติ บุญยฤทธิ์ และคณะ เพื่อประเมินความปลอดภัยของสารสกัดใบพลูซึ่งนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับคนและสัตว์ เรื่องที่ 2 “การประเมินความเสี่ยงของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในเขตภาคกลางและการสนับสนุนการกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพ” โดย คุณลดาพรรณ แสงคล้าย และคณะ เพื่อนำข้อมูลผลการศึกษามาใช้ประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ และสนับสนุนการกำหนดมาตรฐานของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ รายงานจากห้องปฏิบัติการ เรื่องแรก “การวิเคราะห์ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม โดยคุณศศิธร หอมดำรงวงศ์ และคณะ เป็นการสำรวจหาปริมาณสารตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม ในภาชนะหุงต้มหลายชนิด และหลายยี่ห้อ เพื่อให้ทราบปริมาณการปนเปื้อนในอาหารที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพของผู้บริโภค เรื่องถัดมา “การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม” โดยคุณอัจฉรา อยู่คง และคณะ เป็นการสำรวจตัวอย่างไอศกรีมจากผู้ส่ง 2 กลุ่ม คือ ตัวอย่างไอศกรีมที่ผู้ผลิตไอศกรีมส่งมาตรวจเพื่อต้องการรู้ผลคุณภาพการผลิต และตัวอย่างไอศกรีมที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเก็บมาจากตลาด ถัดมา เรื่อง “การประเมินการได้รับสัมผัสของซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากการบริโภคผักและผลไม้นำเข้าจากต่างประเทศของคนไทย พ.ศ. 2548-2557” โดย คุณจินตนา กิจเจริญวงศ์ และคณะ เป็นรายงานผลการสำรวจปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้แห้งที่นำเข้าจากต่างประเทศ ในช่วงระยะนานถึง 10 ปี (พ.ศ. 2548-2557) และท้ายสุด เรื่อง “การสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล” โดย คุณวันเพ็ญ ดวงสว่าง และคณะ ซึ่งเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำเป็นเครื่องมือแพทย์อีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญมากเนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้งานกับผู้ป่วยโดยตรง ผลการศึกษาจากบทความทั้ง 6 เรื่องจะเป็นเช่นไร ขอเชิญท่านผู้อ่านติดตามรายละเอียดที่น่าสนใจทั้งหมดได้ในเล่มนี้

สุดท้ายนี้ คณะบรรณาธิการหวังเป็นอย่างยิ่งว่าสาระความรู้ในวารสารเล่มนี้จะเป็นประโยชน์กับผู้อ่านอย่างเต็มที่แล้วมาขอขอบคุณผู้ทบทวนบทความ (reviewer) ทุกท่านที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะแก่ผู้นิพนธ์

ดร.เยวภา พงษ์สุวรรณ

บรรณาธิการ

คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับเพื่อตีพิมพ์ ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ประเภทของบทความ

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รับผิดชอบบทความ ประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานจากห้องปฏิบัติการ กรณีศึกษา บทความปริทัศน์ บทความทั่วไป จดหมายถึงบรรณาธิการ บทบรรณาธิการ และสารคัดต่อสั้น บทความที่ส่งตีพิมพ์จะต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรือกำลังตีพิมพ์ในวารสารฉบับอื่นมาก่อน ทั้งนี้บทความทุกเรื่องจะได้รับการพิจารณาตรวจแก้ไขจากผู้ทรงคุณวุฒิในสาขาที่เกี่ยวข้อง และกองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ในการตรวจแก้ไขต้นฉบับและพิจารณาตีพิมพ์ตามลำดับก่อนหลัง

ความรับผิดชอบ

บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถือเป็นผลงานทางวิชาการ และเป็นความเห็นส่วนตัวของผู้เขียน ไม่ใช่ความเห็นของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ หรือกองบรรณาธิการ ผู้เขียนต้องรับผิดชอบต่อบทความของตน

การเตรียมต้นฉบับ

ภาษาที่ใช้คือ ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ คำศัพท์เฉพาะหรือคำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้ว แต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาอังกฤษกำกับไว้ในวงเล็บ หรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้

ต้นฉบับควรพิมพ์บนกระดาษขาวขนาด A4 ใช้ตัวอักษร (font) ชนิด Angsana New ขนาดตัวอักษร 16 พิมพ์บรรทัดคู่ (หรือแต่ละบรรทัดให้ห่างอย่างน้อย 6 มม.) พิมพ์หน้าเดียวและใส่เลขกำกับทุกหน้า โดยเว้นขอบด้านซ้ายและด้านบน 3.5 ซม. ด้านขวาและด้านล่าง 2.5 ซม.

หน้าแรกของต้นฉบับประกอบด้วยชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียน ชื่อผู้เขียนที่ทำหน้าที่ประสานงานกับคณะบรรณาธิการ และสถานที่ทำงานที่สามารถติดต่อได้ทางไปรษณีย์ และชื่อเรื่องโดยย่อ (running title) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ

หน้าที่สองเป็นบทคัดย่อ ต้องเขียนทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 250 คำ โดยครอบคลุมที่มาของหัวข้อวิจัย วัตถุประสงค์ ขอบเขตการวิจัย วิธีทำหรือวิธีการรวบรวมข้อมูล ผลใช้เฉพาะข้อมูลหลักที่สำคัญและสถิติที่ใช้ และสรุปโดยเน้นหลักการสำคัญที่พบใหม่ ทำบทคัดย่อภาษาอังกฤษให้มีคำสำคัญของบทความ (key word) ไม่เกิน 5 คำ เป็นภาษาอังกฤษ สำหรับผู้ที่ไม่สันทัดภาษาอังกฤษควรหาผู้ที่ชำนาญภาษาอังกฤษช่วยตรวจสอบ

ต้นฉบับหน้าที่สามเป็นต้นไปเป็นส่วนของเนื้อเรื่อง ควรใช้ภาษาที่ง่าย สั้น กระชับ และชัดเจน หากเป็นบทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ และรายงานจากห้องปฏิบัติการให้เรียงลำดับดังนี้ : บทนำ วัสดุและวิธีการ ผล วิจารณ์ สรุป กิตติกรรมประกาศ และเอกสารอ้างอิง

บทนำ ในบทนำนี้ควรกล่าวถึงสมมติฐานหรือหลักการ เหตุผลที่ศึกษา เมื่ออ้างอิงควรเลือกใช้เฉพาะเอกสารอ้างอิงที่สำคัญเท่านั้น

วัสดุและวิธีการ ในส่วนนี้ให้ข้อมูลทางวิชาการที่มากพอที่ผู้สนใจสามารถทำงานนี้ซ้ำได้ ทั้งนี้ให้ระบุแหล่งที่มาของน้ำยา สารเคมี อุปกรณ์ เครื่องมือ สายพันธุ์ของจุลชีพให้ละเอียด

ผล ให้นำเสนอผลงานตามลำดับ หลีกเลี่ยงการใช้กราฟหรือภาพที่ไม่จำเป็น ถ้ามีตารางข้อมูลให้เสนอพร้อมกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานหรือ Standard error of the mean ด้วย

วิจารณ์ วิจารณ์สิ่งที่ค้นพบเปรียบเทียบกับงานที่ผู้อื่นทำและเผยแพร่ไว้ก่อนหน้านี้แล้ว ทั้งนี้ควรระวังไม่นำส่วนของผลมากล่าวซ้ำในส่วนนี้

สรุป เน้นสิ่งที่พบใหม่ที่สำคัญจากการศึกษานี้ พยายามเชื่อมโยงการสรุปกับวัตถุประสงค์

ตารางและภาพ ให้แยกออกจากเนื้อเรื่อง หน้าละ 1 รายการ ภาพถ่ายควรเป็นภาพขาวดำที่มีความชัดเจน ขนาดไม่เล็กกว่าโปสการ์ด ส่วนภาพวาดควรวาดบนกระดาษขาวอย่างดีด้วยหมึกดำลายเส้นคมและชัดเจน ในส่วนของเนื้อเรื่องที่ต้องการแสดงตารางหรือภาพ ให้เว้นที่ว่างพอสมควรและให้เขียนในกรอบว่า

ใส่ตารางที่ 1

หรือ

ใส่ภาพที่ 1

เอกสารอ้างอิง การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่องให้ใช้ระบบของ the Uniform Requirements style (the Vancouver Citation style) ส่วนเอกสารอ้างอิงท้ายเรื่องให้อ้างเฉพาะบทความที่ตีพิมพ์แล้วในสิ่งตีพิมพ์ปฐมภูมิเท่านั้น การเรียงลำดับเอกสารอ้างอิงให้เรียงตามลำดับการอ้างอิง ผู้เขียนต้องรับผิดชอบในความถูกต้องของเอกสารอ้างอิง สามารถดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่

URL: <http://www2.dmsc.go.th/Web/DMSC.LIB/page5.html>

URL: <http://www2.dmsc.go.th/Web/DMSC.LIB/VANCOUV.PDF>

ผู้นิพนธ์ตั้งแต่ 1 ถึง 6 คน ใส่ชื่อผู้แต่งทุกคน ถ้ามีมากกว่าให้ใส่ชื่อ 6 คนแรกตามด้วยและคณะ หรือ et al กรณีบทความไม่มีชื่อผู้นิพนธ์ให้ใช้ชื่อเอกสารแทนชื่อผู้นิพนธ์

การเขียนเอกสารอ้างอิงให้ใช้รูปแบบดังตัวอย่าง

1. การอ้างบทความวารสาร (Article in Journal)

ตัวอย่าง: สุภาวรรณ จงธรรมวัฒน์, บำรุง คงดี, วิชัย ประสาททอง, มณี เขม้นเขตรการ, จิราภรณ์
อำพันธ์, กมล ฝอยหิรัญ และคณะ. การสำรวจคุณภาพของยางอนามัยทั่วประเทศ. ว กรรมวิทย พ
2540;39(2): 67-74.

2. การอ้างหนังสือหรือตำรา (Text / Guideline)

ตัวอย่าง: ชีระพร วุฒยวนิช. บรรณาธิการ. เทคโนโลยีช่วยการเจริญพันธุ์. เชียงใหม่ :
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2546.

3. การอ้างเฉพาะบทในตำรา (Chapter in the text)

ตัวอย่าง: ทวีศักดิ์ แทนวันดี. การวินิจฉัยโรคตับจากไวรัสทางคลินิก. ใน: สิริฤกษ์ ทรงศิริไธ.
บรรณาธิการ. ดับอักเสบบจากไวรัส. กรุงเทพฯ: บางกอกบลิ๊ก; 2543. เล่ม 1. หน้า 281-309.

4. การอ้างกฎหมาย (Legal material)

ตัวอย่าง: พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524)
ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 98 ตอนที่ 157 (วันที่ 7 กันยายน 2524)

5. การอ้างสิ่งพิมพ์ขององค์กรหรือหน่วยงาน (Organization as author and publisher)

ตัวอย่าง: กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ กระทรวงสาธารณสุข. แผนยุทธศาสตร์การดำเนินงาน
สุขภาพภาคประชาชน. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: ชุมชนสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย;
2546.

6. การอ้างรายงานการสัมมนา/ประชุมวิชาการ (Conference paper)

ตัวอย่าง: วิยะดา เจริญศิริวัฒน์. เอกสารการประชุมสัมมนาเฉลิมพระเกียรติเรื่อง การคัดกรองภาวะ
พร่องไทรอยด์ฮอร์โมนในทารกแรกเกิดเพื่อป้องกันปัญญาอ่อน. วันที่ 25 พฤศจิกายน 2542.
นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2542.

7. การอ้างวิทยานิพนธ์ (Dissertation)

ตัวอย่าง: มณี เขม้นเขตรการ. ผลของ N-acetylcysteine ต่อการป้องกันพิษของพาราควอตในหนูขาว
[วิทยานิพนธ์]. ภาควิชาพิษวิทยา, คณะวิทยาศาสตร์. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2547.

8. การอ้างสื่ออิเล็กทรอนิกส์ (Electronic material)

8.1 วารสารออนไลน์ (Journal on Internet)

ตัวอย่าง: ชวนพิศ ยิ้มสมบัติ. การประเมินคุณภาพการตรวจหาเชื้อมาลาเรียบนฟิล์มโลหิตบางด้วย
กล้องจุลทรรศน์. ว กรรมวิทย พ [วารสารออนไลน์]. 2548; [สืบค้น 29 ก.ย. 2548]; 47(2):[8 หน้า].
เข้าถึงได้จาก: URL:<http://www.dmsc.moph.go.th/net/jms/>

8.2 เว็บไซต์ (WWW site)

ตัวอย่าง: กรมควบคุมโรค. การป้องกันควบคุมโรคไข้หวัดนก Avian Influenza (Bird Flu).

[ออนไลน์]. 2548; [สืบค้น 28 ก.ย. 2548];[1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: [URL:http://www-ddc.moph.go.th/Bird_Flu_main.html](http://www-ddc.moph.go.th/Bird_Flu_main.html).

การส่งต้นฉบับ

แนบจดหมายนำส่งที่ผู้นิพนธ์และผู้ร่วมนิพนธ์ลงชื่อไว้ทุกคน พร้อมระบุไว้ด้วยว่าทุกคนอ่านและยอมรับในบทความนั้น ให้ส่งต้นฉบับจริง 1 ชุด สำเนา 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล ถึง บรรณาธิการวารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ ถนนบุรี 11000 โทร. 0-2589-0022 ต่อ 99662, บรรณาธิการ ต่อ 99701

การรับบทความ

บทความที่กองบรรณาธิการได้รับ จะแจ้งให้ผู้เขียนทราบทุกเรื่องและจะไม่คืนต้นฉบับยกเว้นบทความที่ไม่ได้รับการตีพิมพ์ จะแจ้งให้ทราบพร้อมส่งต้นฉบับส่งคืน บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ กองบรรณาธิการจะมอบสำเนาพิมพ์ (reprint) 10 ชุด แก่ผู้เขียนชื่อแรก

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

The Bulletin of the Department of Medical Sciences welcomes different kinds of articles i.e. original articles, laboratory findings, review articles, general articles, letters to editor, editorials and short communications. Every article **must not be accepted or published elsewhere**.

Articles published in this bulletin represent the research activities or opinions of the authors. **Contributions in every article will be peer-reviewed.** The authors are responsible for its content. Authors who are not fluent in English should seek help from someone proficient in English.

Type or print out the manuscripts on A4 white paper using Angsana New font, size 16. Use double spacing throughout the paper, and on only one side of paper with left and top margins of 3.5 cm, and right and bottom margins of 2.5 cm.

The first page should carry the title of the article, the author's name, affiliation and a running title. The second page should carry an abstract of no more than 250 words and identify limited to 5 key words at the bottom of the abstract. The third page and next should carry the body of the article. The structure of original articles and laboratory findings should be in the order of: introduction, materials and methods, results, discussion, conclusion, acknowledgements and references.

Introduction: The introduction should provide the hypothesis or the rationale for the study. Give only pertinent references.

Materials and Methods: Give the full technical information so that the experiments can be repeated. The sources of all materials and apparatus must be provided.

Results: Present the results as concisely as possible in logical sequence. Avoid unnecessary graphs and figures. All tabular data, if needed, must be accompanied by either standard deviation or standard error.

Discussion: Provide an interpretation of the results in relation to other relevant studies. It must not contain extensive repetition of the results sections.

Conclusion: Emphasize the new and important aspect of the study. Link the conclusions with the goals of the study.

Each table or figure should be prepared on a separate sheet. Photographic prints must be in black and white, shape with high contrast and not smaller than the postcard size. Drawings are

clearly prepared with black drawing ink on white paper. In the text, an appropriate space should be provided for each table or figure as indicated below:

for Table 1.

 or

for Figure 1.

References appeared in the text, should be cited according to “the Uniform Requirements style” (the Vancouver Citation style). The references should be listed numerically and in the same order that they have been cited in the text. Only the original documents should be used as references.

List all authors up to six authors. If there are more than six authors, list the first six authors follow by *et al* (*et al* means “and others”). Use the title of the article or book as author when no author is given. Only the first word of journal articles or book titles (and words that normally begin with a capital letter) are capitalized, and do not use italics or underlining.

Each reference should be in the order according to the following samples:

1. Citing a Journal Article

Examples:

Hoorfar J, Cook N, Malorny B, Wagner M, Medici D, Abdulmawjood A, *et al*. Making internal amplification control mandatory for diagnostic PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41(12):5835-7.

Russell FD, Coppel AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998;55:697-701.

Coffee drinking and cancer of the pancreas [editorial]. *BMJ* 1981;283:628.

2. Citing a Text/Guideline

Examples:

Greenberg AE, Clescri LS, Eaton AD, editors. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. Washington DC: American Public Health Association; 1992. p. 9-94.

The United States Pharmacopoeia. The National Formulary. 23th ed. Rockville: United States Pharmacopoeia Convention, Inc.; 1995. p. 373-5.

Thai Pharmacopoeia. Vol. I (Pt 2). Appendix 1.1 Reagents. Bangkok: Department of Medical Sciences; 1993. p. 1472-5.

International Organization for Standardization. ISO/IEC Guide 25. General requirements for the competence of calibration and testing laboratories. 3rd ed. Geneva: International Organization for Standardization (ISO); 1990.

Stedman's medical dictionary. 26th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1995. Apraxia; p. 119.

3. Chapter in the Text

Examples:

Phillip SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In : Laragh JH, Brenner BM, editors.

Hypertension : pathophysiology, diagnosis and management. 2nd ed. New York (NY): Raven Press; 1995. p. 465-78.

Bennett GL, Horuk R. Iodination of chemokines for use in receptor binding analysis. In: Horuk R, editor. Chemokine receptors. New York (NY): Academic Press; 1997. p. 134-48. (Methods in enzymology; vol 288).

4. Legal Material

Examples:

Airlines Equipment Amendment Act 1981 (Cwlth), s. 19(1)(a)(ii)

Public Service Regulations (Cwlth), r.83(2)(a)(ii)

Preventive Health Amendments of 1993, Pub.L. No. 103-183, 107 Stat.2226 (Dec. 14, 1993)

5. Organization as Author and Publisher (Including pamphlet & Package Insert)

Examples:

Department of Medical Sciences. Guideline of method validation used in pharmaceutical analysis. Nonthaburi: Department of Medical Sciences; 1995.

Pharmaceutical Society of Australia. Medicines and driving [pamphlet]. Pharmaceutical Society of Australia; 1998. DR-7.

Lamasil [package insert]. East Hanover (NJ): Sandoz Pharmaceuticals Corp; 1993.

6. Citing Conference Papers/Conference Proceedings

Examples:

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical informatics. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Reinhoff O, editors. MEDINFO 92.

Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992. p. 1561-5.

7. Citing a Newspaper Article

Examples:

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually.
The Washington Post 1996 Jun 21; Sect. A:3 (col. 5).

8. Dissertation

Example:

Kaplan SJ. Post-hospital home health care : the elderly's access and utilization [dissertation].
St. Louis, (MO) : Washington Univ.; 1995.

9. Citing Internet and Other Electronic Sources

9.1 Journal on Internet

Examples:

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. Emerg Infect Dis [serial online] 1995

Jan-Mar [cited 1996 Jun 5]; 1(1):[24 screens]. Available from: URL:<http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

Garfinkel PE, Lin E, Goering P. Should amenorrhoea be necessary for the diagnosis of anorexia nervosa ? Br J Psych [serial online] 1996 [cited 1999 Aug 17]; 168(4):500-6. Available from: URL:<http://biomed.niss.ac.uk>

9.2 Websites (WWW site)

Examples:

Hoffman DL. St John's Wort. [Online]. 1995 [cited 1998 Jul 16]; [4 screens]. Available from: URL:<http://www.healthy.net/library/books/hoffman/materiamedica/stjohns.htm>

9.3 Web Based/Online Databases

Example:

Kirkpatrick GL. Viral infections of the respiratory tract. In: Family Medicine. 5th ed. [Online]. 1998. Available from: Stat!Ref. Jackson (WY): Teton Data Systems; 2001. [cited 2001 Aug 31].

9.4 CD-ROM & Books on CD-ROM

Examples:

Clinical pharmacology 2000 [CD-ROM]. Version 2.01. [cited 2001 Aug 7]; Gainesville (FL): Gold Standard Multimedia; 2001.

The Oxford English dictionary [book on CD-ROM]. 2nd ed. New York (NY): Oxford University Press; 1992.

9.5 Journal on CD-Rom

Example:

Gershon ES. Antisocial behavior. Arch Gen Psychiatry [serial on CD-ROM]. 1995;52:900-901.

9.6 Other Software:

Example:

Epi Info [computer program]. Version 6. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention; 1994.

For further information see

URL: <http://www2.dmsc.go.th/Web/DMSC.LIB/page5.html>

URL: <http://www2.dmsc.go.th/Web/DMSC.LIB/VANCOUV.PDF>

Abbreviations should be based on the U.S. National Library of Medicine in Index Medicus. The body including tables and figures of original and review articles should not exceed 10-25 pages, and for other kinds of articles should not exceed 2-15 pages.

How to Submit Manuscripts

Two copies of the manuscript including the original one and a diskette should be sent to the editor at the below address. Papers which tend to have legal or ethical impact must be submitted accompanied by the guarantee letters from the authorized organizations.

All submissions will be acknowledged by the Editorial Board. Those unaccepted will also be notified. The Editorial Board reserves the right to edit any manuscripts for proper publication.

Following publication of an article, ten reprints will be supplied to the first author free of charge.

Editor, Bulletin of the Department of Medical Sciences

Department of Medical Sciences Library

88/7 Soi Bamrasnaradura Hospital, Tiwanond Rd.

Nonthaburi 11000, Thailand

Tel. 0-2589-0022 ext. 99701, 99662

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของ สารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.)

มาสเกียรติ บุญยฤทธิ์* สุธมนทา วัฒนสินธุ์** เรวดี บุตรภรณ์* นวชนิษฐ์ สัจจามนต์*

วริฐฐา สงวนเรือง* ทิฆัมพร แยมสอาด* และสมชาย แสงกิจพร*

*สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

**มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ อำเภอกองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12121

บทคัดย่อ

สารสกัดใบพลู (*Piper betle* L.) นำมาใช้กันแพร่หลายทั้งในผลิตภัณฑ์ที่ใช้กับมนุษย์และสัตว์ เพื่อเป็นการประเมินความปลอดภัย การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันในหนูเมชเพศเมียสายพันธุ์ไอซอร์ และพิษเรื้อรังในหนูแรททั้งสองเพศสายพันธุ์วีสตาร์ (เป็นเวลานาน 6 เดือน) โดยใช้สารสกัดใบพลูที่สกัดด้วยเทคนิคของไหลวิกฤตยิ่งยวดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม ผลการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันที่ขนาดป้อนอย่างละ 300 และ 2,000 มก./กก. ไม่พบอาการพิษแบบเฉียบพลันใดๆ ส่วนผลทดสอบพิษเรื้อรังพบว่าสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน ไม่ส่งผลกระทบต่ออาการป่วยพิษสะสม การเจริญเติบโตและการกินอาหาร อีกทั้งยังไม่พบการเปลี่ยนแปลงตามขนาดของสารสกัดที่ได้รับในค่าของน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์และค่าโลหิตวิทยาต่างๆ แต่พบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับโซเดียม คลอไรด์ แคลเซียม และฟอสฟอรัสในซีรัมตามขนาดสารสกัดที่เพิ่มขึ้นในหนูทั้งสองเพศ พบการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยของเอนไซม์ ALT ในหนูเพศเมียกลุ่ม recovery (300 มก./กก./วัน) และการอักเสบเล็กน้อยที่ตับในหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัด 300 มก./กก./วัน และในกลุ่ม recovery ดังนั้นการนำสารสกัดใบพลูมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและยาอย่างต่อเนื่อง จึงควรเฝ้าระวังสมดุลของระบบอิเล็กโทรไลต์และการทำงานของตับ

บทนำ

พลู (*Piper betle* L.) เป็นพืชสมุนไพรอยู่ในวงศ์ Piperaceae ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศอินเดีย ต่อมา มีการปลูกแพร่กระจายไปยังประเทศต่าง ๆ ทั่วทวีปเอเชียและแอฟริกา ส่วนของใบพลุนิยมนำมาใช้เป็นส่วนประกอบ ในการรักษาโรคต่าง ๆ ใช้เป็นยาทาภายนอกสำหรับแก้อาการคันแก้แสบ^(1, 2) สารสกัดจากใบพลูมีรายงานในการ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย^(3, 4) เชื้อรา^(5, 6, 7) และเชื้อมาลาเรีย⁽⁸⁾ ต้านฮีสตามีนที่ทำให้เกิดการหดเกร็งในหลอดลมและลำไส้เล็ก ของหนูตะเภา⁽⁹⁾ นอกจากนี้สารสกัดจากใบพลูยังมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging assay) กำจัดอนุมูลอิสระชนิดซูเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (Superoxide radical) และไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide)^(10, 11, 12)

จากการศึกษาวิจัยในองค์ประกอบทางเคมีของใบพลูพบสารสำคัญมีอยู่หลายชนิด Nalina T และคณะ⁽¹³⁾ พบว่าสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วยน้ำมีสาร hydroxychavicol ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus mutans* ในหลอดทดลอง ซึ่งเชื่อนี้มักก่อให้เกิดคราบหินปูนของฟันในช่องปาก ในทำนองเดียวกัน อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์ และคณะ⁽¹⁴⁾ ได้รายงานหาสารสกัดหยาบจากใบพลูด้วยเอทานอลมีสาร hydroxychavicol ที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา *Trichophyton mentagrophytes* และเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ได้ในหลอดทดลอง อีกทั้งสาร hydroxychavicol ยังพบว่ามีฤทธิ์ลดการจับกลุ่มของเกล็ดเลือดกระต่ายได้ในหลอดทดลอง (antiplatelet aggregation)⁽¹⁵⁾ Misra P และคณะ⁽¹⁶⁾ รายงานว่าสาร eugenol ในน้ำมันหอมระเหยจากใบพลูมีฤทธิ์ในการต้าน เชื้อโปรโตซัว *Leishmania donovani* ได้ในหลอดทดลอง นอกจากนี้สาร eugenol ที่ได้จากการสกัดใบพลูด้วย เอทานอลยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและลดระดับไขมันในเลือดในหนูแรท⁽¹⁷⁾ Majumdar B และคณะ⁽¹⁸⁾ พร้อมทั้ง Bhattacharya S และคณะ⁽¹⁹⁾ รายงานตรงกันว่าสาร allylpyrocatechol (APC) ที่ได้จากการสกัดใบพลูด้วย เอทานอลมีฤทธิ์ลดการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของหนูแรทที่เหนี่ยวนำด้วยสาร indomethacin มีรายงานพบว่า สาร APC และ chevibetol ที่อยู่ในสารสกัดใบพลูด้วยเอทานอลสามารถลดอันตรายจากการได้รับรังสีแกมมาที่ทดสอบ ในหนูแรทได้อีกด้วย⁽²⁰⁾ นอกจากนี้สาร hydroxychavicol และ chavibetol ที่ได้จากสารสกัดใบพลูด้วยเมทานอล ยังพบฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็งต่อมลูกหมากของมนุษย์ที่ทำการปลูกฝังในหนูไม่⁽²¹⁾

สำหรับข้อมูลด้านความเป็นพิษพบว่า สารสกัดใบพลูด้วยน้ำและอะซิโตนที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัม/จาน เพาะเชื้อ ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Salmonella typhimurium*⁽²²⁾ ในขณะที่การทดสอบด้วยน้ำที่กรองจาก การบดละเอียดของใบพลูกับน้ำกลั่นก็พบว่าไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* เช่นเดียวกัน⁽²³⁾ Ratnasooriya WD และคณะ⁽²⁴⁾ รายงานว่าสารสกัดใบพลูด้วยน้ำมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ในหนูแรทเพศผู้โดยไปลด การปฏิสนธิ (antifertility) นอกจากนี้ Sengupta A และคณะ⁽²⁵⁾ ยังพบว่าสารสกัดก้านใบของพลูด้วยเอทานอล ไม่พบความผิดปกติจากการทดสอบพิษเฉียบพลันในหนูไม่ซึ่งที่ขนาดสูงสุด 3,200 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และไม่พบความ เป็นพิษเรื้อรังต่อระบบร่างกายในหนูแรทที่ขนาดตั้งแต่ 300 ถึง 1,000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

ในบัญชียาจากสมุนไพรของบัญชียาหลักแห่งชาติ⁽²⁶⁾ พ.ศ. 2556 มีการระบุการใช้สารสกัดใบพลูสดด้วย เอทานอลในการบรรเทาอาการผิวหนังอักเสบ และการอักเสบจากแมลงกัดต่อย นอกจากนี้ยังมีรายงานการนำใบพลู มาใช้รักษาโรคต่าง ๆ เช่น ใช้ใบพลูสดตำผสมกับเหล้าแล้วใช้ทารักษาโรคเชื้อราที่ผิวหนังและแก้ลมพิษ⁽²⁷⁾ บางตำรายาไทย มีการใช้น้ำคั้นใบสดของพลูกับเหล้ากินเป็นยาขับลม⁽²⁸⁾ อีกทั้งมีการวิจัยพัฒนานำสารสกัดจากใบพลูมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ หม่าเชื้อในช่องปาก⁽²⁹⁾ และนำสารสกัดใบพลูไปใช้ทดแทนสารเคมีที่ใช้เป็นส่วนผสมในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus* ในผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและวัตถุดิบที่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร⁽³⁰⁾ อีกทั้งยังมีแนวโน้มที่จะนำสารสกัดใบพลู มาใช้เป็นส่วนประกอบเสริมในอาหารสัตว์เพื่อใช้ต้านเชื้อต้านจุลชีพต่าง ๆ และใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันที่ใช้ ปปรุงอาหารแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์อีกด้วย^(31, 32, 33) ดังนั้นการนำสารสกัดใบพลูไปประยุกต์เป็นส่วนประกอบของ

ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในมนุษย์และสัตว์ และการพัฒนาไปเป็นยาสำหรับบำบัดรักษาโรคตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่พบถือว่ามีความประโยชน์อย่างมาก แต่ปัจจุบันยังขาดข้อมูลด้านความปลอดภัยต่อระบบต่างๆ ของร่างกาย ดังนั้นผลจากการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันและพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในสัตว์ทดลองจะเป็นข้อมูลเบื้องต้นด้านความปลอดภัยสำหรับการพัฒนาและผลิตเป็นยา สมุนไพร ผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ หรือผลิตภัณฑ์ถนอมอาหารที่ใช้แทนวัตถุกันหืนสังเคราะห์ได้

วัสดุและวิธีการ

สารสกัดใบพลู

สารสกัดใบพลูควบคุมคุณภาพทางเคมีวิเคราะห์และได้รับจากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ สกัดด้วยเทคนิคของไหลวิกฤตยิ่งยวดยิ่ง (Supercritical Fluid Extraction-SFE) โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย และใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายร่วม หลังผ่านกระบวนการระเหยนำเอทานอลออก ได้สารสกัดหยาบสีเขียวน้ำตาลเข้ม เหลว หนืด สารสกัดหยาบที่มีความดัน 9 MPa และที่ 6 MPa นำมารวมกัน คิดเป็น % Yield เท่ากับ 8.6% เทียบกับผงของใบพลูแห้ง ทำการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ซึ่งพบว่ามีสารสำคัญคือ Allypyrocatechol (APC) และ Eugenol ในสัดส่วนร้อยละของปริมาณสารต่อน้ำหนักของสารสกัดเท่ากับ 46.95 และ 6.26 (% w/w) ตามลำดับ

สัตว์ทดลอง

หนูไมซ์สายพันธุ์ไอซีอาร์ (ICR Mice) เพศเมีย จำนวน 12 ตัว น้ำหนักตัว 30-35 กรัม อายุประมาณ 6 สัปดาห์ ซื้อจากศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ มหาวิทยาลัยมหิดล ใช้สำหรับการศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลัน เลี้ยงในกรงเลี้ยงสัตว์ภายในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่มีอุณหภูมิ 23 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $60 \pm 20\%$ ควบคุมความมืด/สว่าง 12/12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มตลอดการเลี้ยง ก่อนดำเนินการทดสอบ ปักหนูเพื่อให้ปรับตัว (Acclimatization) เป็นเวลาอย่างน้อย 5 วัน

หนูแรทสายพันธุ์วิสตา (Wistar Rat) อายุประมาณ 6 สัปดาห์ จำนวน 140 ตัว (เพศเมีย 70 ตัว เพศผู้ 70 ตัว) ซื้อจากบริษัท BioLASCO ประเทศไต้หวัน เลี้ยงในชุดกรงเลี้ยงสัตว์ทดลองแบบปลอดเชื้อ (Individually Ventilated Cage, IVC) ภายในห้องเลี้ยงสัตว์ทดลองที่มีอุณหภูมิ 23 ± 3 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $60 \pm 20\%$ ควบคุมความมืด/ความสว่างสลับกัน 12 ชั่วโมง ให้อาหารสำเร็จรูป และน้ำดื่มตลอดการเลี้ยง ก่อนดำเนินการทดสอบปักหนูเพื่อให้ปรับตัว (Acclimatization) เป็นเวลา 1 สัปดาห์

วิธีการทดสอบ

การศึกษาในสัตว์ทดลองนี้ ได้รับการพิจารณาอนุมัติจากคณะกรรมการการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลองของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ตามเลขที่อนุมัติการวิจัย 53-010 โดยการทดสอบความเป็นพิษเฉียบพลันด้วยวิธี OECD-423 Guideline (Acute Toxic Class Method)⁽³⁴⁾ ในหนูไมซ์โดยการป้อนทางปากในครั้งเดียวด้วยสารสกัดใบพลูที่เตรียมในรูปแบบสารแขวนตะกอนในสารละลาย Tragacanth 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) สังเกตอาการ บันทึกอาการผิดปกติจนครบ 14 วัน และทำการผ่าซากตรวจความผิดปกติของอวัยวะภายใน (Gross Lesions) โดยการทดสอบนี้เริ่มต้นการป้อนสารสกัดที่ขนาด 300 มก./กก. (มิลลิกรัม/กิโลกรัม) ต่อหนู 3 ตัว สังเกตอาการและจำนวนหนูทดลองตายอย่างใกล้ชิดภายใน 5 ชั่วโมง ของการทดสอบ 24 ชั่วโมงแรก และทุกวันจนครบ 14 วัน ทำการทดสอบเพิ่มเติมที่ขนาด 300 มก./กก. ต่อหนู 3 ตัว และประเมินผลการทดสอบตามที่กล่าวมา จากนั้นทดสอบหนูด้วยสารสกัดในขนาดที่สูงขึ้น 2,000 มก./กก. ต่อหนู 3 ตัว เพิ่มอีก 2 กลุ่มพร้อมกับการประเมินผลการทดสอบตามที่กล่าวมาข้างต้น

การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังในหนูแรชใช้วิธี OECD-452 Guideline (Chronic Toxicity studies)⁽³⁵⁾ และ ICH Guideline: M3(R2)⁽³⁶⁾ แบ่งหนูออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 28 ตัว (เพศผู้ 14 ตัว เพศเมีย 14 ตัว) โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร/น้ำหนักหนู 100 กรัม กลุ่มทดลองที่ 2-4 ได้รับสารสกัดใบพลูที่แขวนตะกอนในสารละลาย 1.0% Tragacanth ในขนาด 3, 30 และ 300 มิลลิกรัม/กิโลกรัม/วัน (มก./กก./วัน) ตามลำดับ ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 180 วัน ซึ่งขนาดสูงสุดที่ใช้สำหรับการทดสอบนี้ประมาณการว่าไม่ทำให้หนูตายระหว่างการทดลอง (Maximum Tolerated Dose, MTD) สารสกัด 300 มก./กก. นี้มีส่วนประกอบของสาร APC ในปริมาณ 140 มก. โดยปัจจุบันยังไม่มีรายงานความเป็นพิษของสาร APC พบแต่เพียงรายงานความเป็นพิษของสารที่คล้ายคลึงกันคือ Pyrocatechol ที่อาจนำมาเทียบเคียงได้โดยมีค่า LD₅₀ เท่ากับ 210 มก./กก. ในหนูตะเภา⁽³⁷⁾ นอกจากนี้สารสกัดที่ใช้ในการทดสอบยังพบว่ามีส่วนประกอบของสาร eugenol ซึ่งขนาดที่ใช้ในการทดสอบนี้ยังครอบคลุมอยู่ในช่วงประมาณ 0.1 ถึง 7.5 เท่าของสารสำคัญ eugenol ที่ยอมรับในการรับประทานของคน (Acceptable Daily Intake, ADI) ตาม WHO ซึ่งมีค่าไม่เกิน 2.5 มก./กก./วัน⁽³⁸⁾

สำหรับกลุ่มทดลองที่ 5 เป็นกลุ่ม recovery ได้รับสารสกัดใบพลูที่แขวนตะกอนในสารละลาย 1.0% Tragacanth ขนาด 300 มก./กก./วัน ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 180 วัน จากนั้นหยุดการให้สารละลาย 2 สัปดาห์ เพื่อศึกษาถึงการหายของความผิดปกติที่เกิดขึ้นระหว่างการทดสอบ สังเกตอาการที่แสดงออกภายนอกอย่างน้อยวันละ 1 ครั้ง บันทึกปริมาณอาหารและน้ำที่หนูกินและน้ำหนักตัวต่อสัปดาห์ เมื่อครบกำหนด 180 วัน ดมสลบหนูด้วย Isoflurane (AERRANE®, Baxter Healthcare Corporation) อิมมัลชันหมดความรู้สึก ทำการเปิดช่องท้อง เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดแดงใหญ่ dorsal aorta สำหรับตรวจค่าโลหิตวิทยาได้แก่ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Hematocrit) ความเข้มข้นของฮีโมโกลบิน (Hemoglobin concentration) จำนวนเม็ดเลือดแดง (Erythrocytes) จำนวนและชนิดของเม็ดเลือดขาว (Total and Differential leukocytes) จำนวนเกล็ดเลือด (Platelets) โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาอัตโนมัติ รุ่น Cell Dyne® 3700 (Abbot) และทำการตรวจค่าชีวเคมีได้แก่ ALP (Alkaline phosphatase), ALT (Alanine aminotransferase), AST (Aspartate transferase), Total protein, Albumin, BUN (Blood urea nitrogen), Creatinine, Glucose, Uric acid, Bilirubin, Triglyceride, Cholesterol, Sodium, Chloride, Calcium และ Phosphorus โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ค่าชีวเคมีอัตโนมัติ Johnson & Johnson Company รุ่น Vitros® 250 จากนั้นทำการผ่าซากตรวจสอบรอยโรคของอวัยวะต่างๆ ที่มองเห็นด้วยตาเปล่า (Gross lesion) ซึ่งน้ำหนักอวัยวะแล้วคำนวณค่าน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (% relative organ weight) และเก็บอวัยวะแช่ลงในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลิน 10% เพื่อนำไปเตรียมสไลด์สำหรับการตรวจหาการเปลี่ยนแปลงทางจุลพยาธิวิทยา (Histopathology)

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา และการทดสอบสมมติฐานด้วยสถิติวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทิศทางเดียว (one-way ANOVA ที่ $p < 0.05$) หากผลการวิเคราะห์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จะทดสอบความแตกต่างของกลุ่มทดลองกับกลุ่มควบคุมด้วย Dunnett's t test เมื่อความแปรปรวนมีค่าเท่ากัน หรือสถิติ Dunnett's T3 เมื่อความแปรปรวนมีค่าไม่เท่ากัน วิเคราะห์ความแตกต่างของสัดส่วนในกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมด้วยสถิติ Pearson Chi-Square Exact Test วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ของขนาดตัวอย่างที่ได้รับกับค่าทางโลหิตวิทยาหรือค่าโลหิตชีวเคมีด้วยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ Pearson Correlation Coefficient วิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพยาธิวิทยาและจุลพยาธิวิทยากับขนาดตัวอย่างที่ได้รับด้วยสถิติ Fisher's Exact Test ที่ $p < 0.05$

ผล

การทดสอบพิษเฉียบพลัน

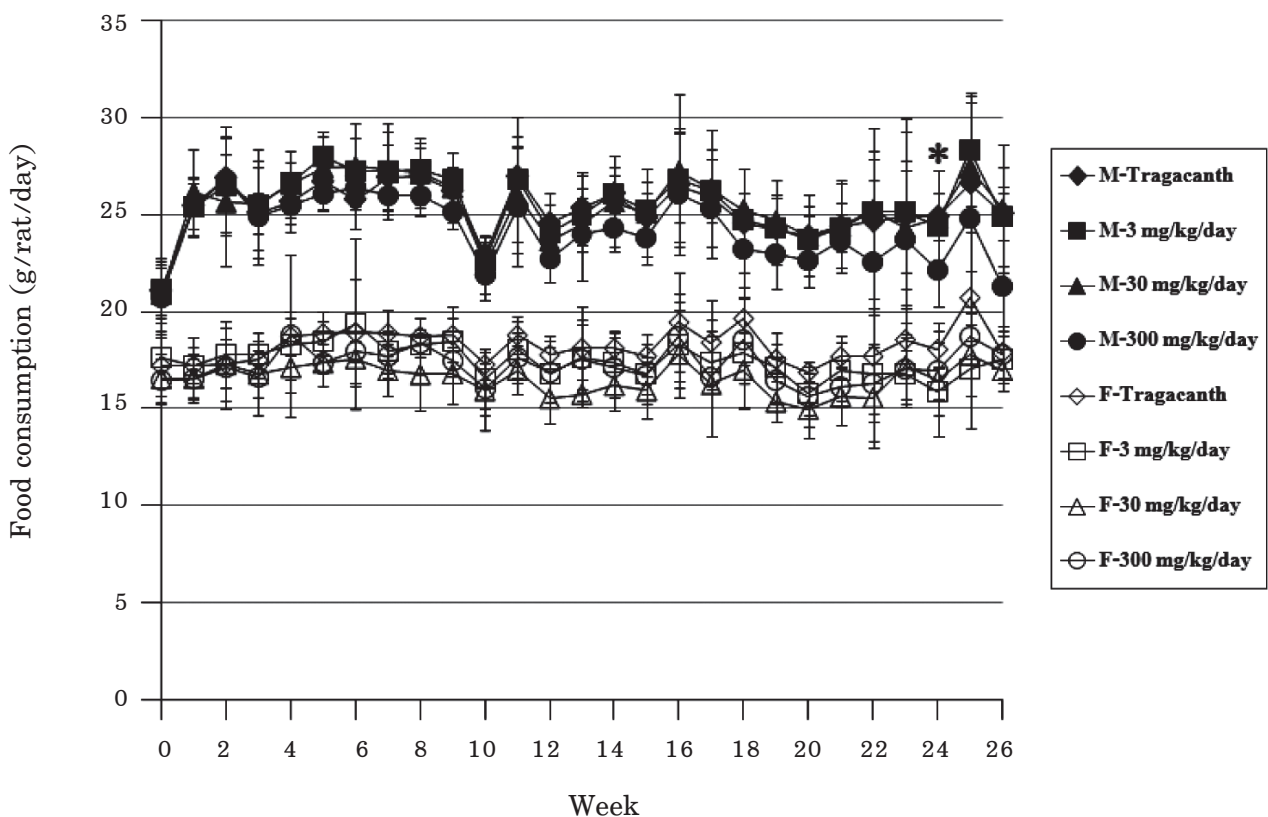
หนูสองกลุ่มแรกที่ได้รับสารสกัดใบพลูที่ขนาด 300 มก./กก. (จำนวน 6 ตัว) ภายหลังการป้อน ไม่พบอาการผิดปกติและไม่พบหนูตายเมื่อครบกำหนด 14 วันของการทดลอง หนูสองกลุ่มหลังที่ได้รับสารสกัดใบพลูที่ขนาด 2,000 มก./กก. พบว่าหนู 2 ตัวของการทดสอบครั้งแรก (จากจำนวน 3 ตัว) มีอาการขนบริเวณลำตัวตั้ง (Piloerection) เล็กน้อยที่สังเกตเห็นได้ โดยพบอาการต่างๆ นี้ที่ระยะเวลา 30 นาที ไปจนถึง 60 นาที ภายหลังจากการได้รับสารสกัด (ไม่ได้แสดงผล)

การทดสอบพิษเรื้อรัง

การกินอาหารและน้ำ

หนูแรทเพศเมียทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด เป็นเวลานาน 180 วัน (26 สัปดาห์) พบว่า ปริมาณอาหารที่หนูแรทกินเฉลี่ยต่อสัปดาห์ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ส่วนในหนูแรทเพศผู้พบปริมาณการกินอาหารเฉลี่ยต่อสัปดาห์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในสัปดาห์ที่ 24 ของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (p -value = 0.047) (ภาพที่ 1)

ผลต่อการกินน้ำพบว่าในกลุ่มทดสอบของหนูแรทเพศเมียและเพศผู้มีแนวโน้มของการกินน้ำที่ลดลง แต่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ไม่ได้แสดงผล)

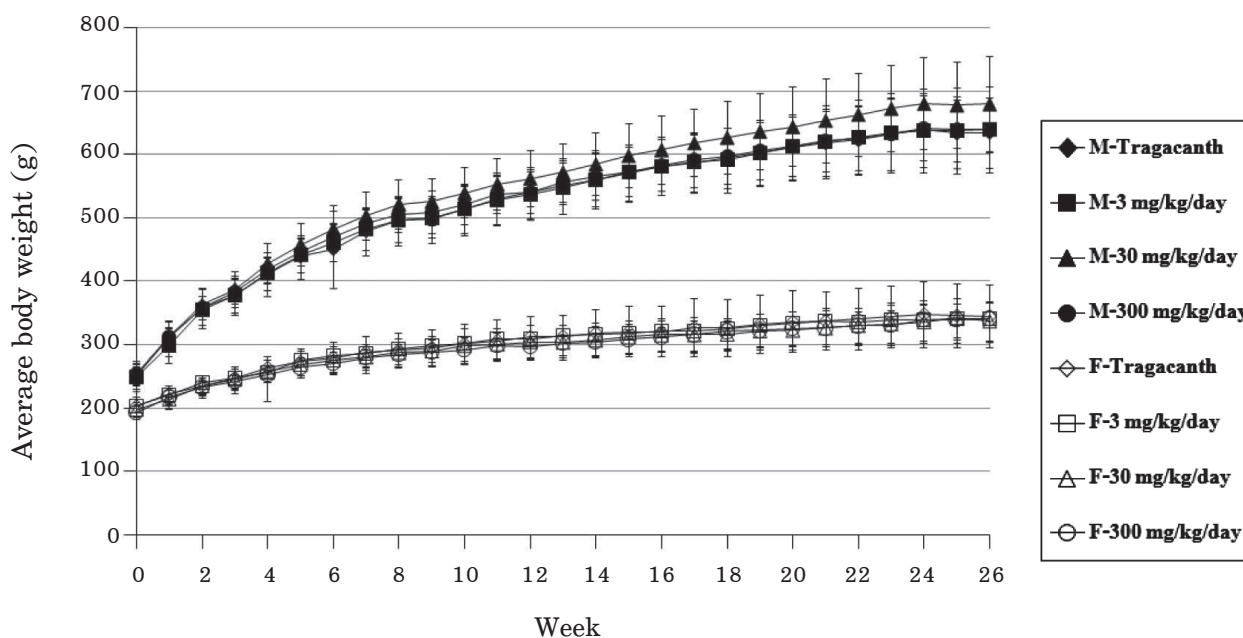


ภาพที่ 1 การกินอาหารของหนูแรทเพศผู้ (M) และเพศเมีย (F) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าในภาพแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อัตราการเจริญเติบโต

ผลต่อการเจริญเติบโตพบว่า หนูแรทเพศเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูตลอดการทดลอง 180 วัน มีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1% tragacanth ส่วนผลต่อการเจริญเติบโตในหนูแรทเพศผู้พบว่า หนูแรทกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูตลอดการทดลองทั้งสามขนาด มีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1% tragacanth เช่นเดียวกัน (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 การเจริญเติบโตของหนูแรทเพศผู้ (M) และเพศเมีย (F) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน ค่าในภาพแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

อาการหรือพฤติกรรมที่ผิดปกติ

จากการทดสอบเป็นระยะเวลา 180 วัน ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้งสองเพศ ไม่พบความผิดปกติของอาการหรือพฤติกรรมที่สังเกตได้ในด้านการเดิน การทรงตัว ดวงตา สีของเยื่อเมือก ระบบขับถ่ายปัสสาวะ สภาพขนและผิวหนัง

ผลต่อค่าโลหิตวิทยา

ผลต่อค่าโลหิตวิทยาต่างๆ ของกลุ่มหนูแรทเพศเมียและกลุ่มหนูแรทเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูในขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน (ตารางที่ 1 และ 2) ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth

ตารางที่ 1 ค่าโลหิตวิทยาของหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
RBC ($\times 10^6$ cells/ μ L)	7.87 $\pm$ 0.37	8.06 $\pm$ 0.60	8.00 $\pm$ 0.21	7.52 $\pm$ 0.42	7.78 $\pm$ 0.33
Hemoglobin (g/dL)	14.06 $\pm$ 0.54	14.79 $\pm$ 0.36	14.72 $\pm$ 0.52	14.06 $\pm$ 0.62	14.52 $\pm$ 0.71
Hematocrit (%)	44.29 $\pm$ 2.09	47.07 $\pm$ 1.98	46.50 $\pm$ 1.74	44.38 $\pm$ 2.63	45.73 $\pm$ 2.15
MCV (fL)	55.96 $\pm$ 1.74	58.39 $\pm$ 2.88	57.96 $\pm$ 3.24	58.83 $\pm$ 3.09	59.40 $\pm$ 3.89
MCH (pg)	18.52 $\pm$ 0.43	18.44 $\pm$ 0.69	18.21 $\pm$ 0.70	18.61 $\pm$ 0.53	18.52 $\pm$ 0.58
MCHC (g/dL)	32.76 $\pm$ 0.47	31.21 $\pm$ 1.02	31.34 $\pm$ 1.06	31.48 $\pm$ 1.32	31.38 $\pm$ 1.00
WBC (cells/ μ L)	1,864.29 $\pm$ 722.82	2,185.71 $\pm$ 903.72	2,042.86 $\pm$ 1,190.81	2,407.69 $\pm$ 1,049.18	2,890.91 $\pm$ 699.22
Neutrophil (%)	17.20 $\pm$ 3.27	16.43 $\pm$ 2.99	20.50 $\pm$ 5.39	18.88 $\pm$ 4.39	20.90 $\pm$ 5.82
Basophil (%)	1.4 $\pm$ 0.89	1.57 $\pm$ 0.95	1.00 $\pm$ 0.63	0.75 $\pm$ 0.46	3.14 $\pm$ 2.34
Lymphocyte (%)	76.60 $\pm$ 2.00	76.71 $\pm$ 1.98	73.00 $\pm$ 6.60	75.00 $\pm$ 5.61	72.50 $\pm$ 7.03
Enosinophil (%)	2.60 $\pm$ 0.96	2.71 $\pm$ 0.95	2.83 $\pm$ 1.33	2.88 $\pm$ 1.36	2.70 $\pm$ 0.95
Monocyte (%)	2.20 $\pm$ 0.87	2.57 $\pm$ 0.98	2.67 $\pm$ 1.51	2.50 $\pm$ 0.76	1.80 $\pm$ 0.92
Platelets ($\times 10^5$ cells/ μ L)	7.44 $\pm$ 1.55	8.28 $\pm$ 1.19	8.56 $\pm$ 1.14	8.67 $\pm$ 0.67	8.15 $\pm$ 0.83
Reticulocyte (%)	1.18 $\pm$ 0.85	1.27 $\pm$ 0.84	1.29 $\pm$ 0.74	1.10 $\pm$ 0.78	0.48 $\pm$ 0.39

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน R = Recovery group

ตารางที่ 2 ค่าโลหิตวิทยาของหนูแรพเทศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
RBC ($\times 10^6$ cells/ μ L)	8.40 $\pm$ 0.39	8.29 $\pm$ 0.42	8.49 $\pm$ 0.44	8.12 $\pm$ 0.22	8.06 $\pm$ 0.53
Hemoglobin (g/dL)	14.88 $\pm$ 0.53	14.99 $\pm$ 1.08	14.41 $\pm$ 0.81	14.35 $\pm$ 0.24	14.28 $\pm$ 0.90
Hematocrit (%)	45.08 $\pm$ 1.89	45.14 $\pm$ 2.66	45.93 $\pm$ 2.30	45.46 $\pm$ 1.71	44.67 $\pm$ 3.39
MCV (fL)	53.19 $\pm$ 1.96	53.69 $\pm$ 2.16	53.36 $\pm$ 4.46	55.38 $\pm$ 2.76	56.58 $\pm$ 4.61
MCH (pg)	17.62 $\pm$ 0.60	17.66 $\pm$ 0.43	21.25 $\pm$ 16.19	17.60 $\pm$ 0.46	17.70 $\pm$ 1.13
MCHC (g/dL)	32.72 $\pm$ 0.47	33.0 $\pm$ 2.34	31.11 $\pm$ 0.97	31.37 $\pm$ 1.27	31.71 $\pm$ 1.20
WBC (cells/ μ L)	3,961.54 $\pm$ 1,247.36	3,228.57 $\pm$ 1,5497.80	4,235.71 $\pm$ 1,576.56	3,751.38 $\pm$ 1,597.84	4,366.67 $\pm$ 1,603.59
Neutrophil (%)	17.25 $\pm$ 4.97	18.60 $\pm$ 4.12	20.25 $\pm$ 8.34	19.55 $\pm$ 3.96	23.68 $\pm$ 5.85
Basophil (%)	1.86 $\pm$ 1.21	1.50 $\pm$ 0.97	1.83 $\pm$ 1.03	1.44 $\pm$ 0.53	2.38 $\pm$ 1.06
Lymphocyte (%)	75.33 $\pm$ 6.21	73.30 $\pm$ 5.25	72.17 $\pm$ 9.50	73.45 $\pm$ 4.76	70.75 $\pm$ 5.38
Enosinophil (%)	3.67 $\pm$ 2.02	3.70 $\pm$ 1.64	3.25 $\pm$ 1.22	3.09 $\pm$ 1.04	2.83 $\pm$ 0.83
Monocyte (%)	2.67 $\pm$ 1.15	2.90 $\pm$ 0.99	2.50 $\pm$ 1.09	2.73 $\pm$ 1.01	1.75 $\pm$ 0.75
Platelets ($\times 10^5$ cells/ μ L)	8.30 $\pm$ 1.96	9.00 $\pm$ 1.16	8.41 $\pm$ 2.3	8.88 $\pm$ 1.61	9.19 $\pm$ 0.70
Reticulocyte (%)	1.24 $\pm$ 0.87	1.80 $\pm$ 0.69	1.25 $\pm$ 0.69	1.24 $\pm$ 0.57	1.05 $\pm$ 0.53

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน R = Recovery group

ผลต่อค่าชีวเคมี

ผลต่อค่าชีวเคมีของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ตารางที่ 3) พบว่ามีค่าเอนไซม์ ALT ของหนูแรทกลุ่ม Recovery ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.032$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Calcium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$; $p < 0.001$; $p = 0.011$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Cholesterol สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.010$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.003$) ส่วนหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Glucose สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.008$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.005$)

ตารางที่ 3 ค่าชีวเคมีของหนูแรทเพศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
AST (U/L)	79.77 ± 15.40	84.43 ± 16.64	88.43 ± 21.35	93.00 ± 48.31	119.27 ± 100.08
ALT (U/L)	39.23 ± 6.78	38.71 ± 6.96	40.07 ± 8.68	41.31 ± 8.86	64.09 ± 46.47*
ALP (U/L)	56.31 ± 13.06	55.21 ± 18.86	59.14 ± 23.16	57.23 ± 19.58	55.27 ± 12.58
Total Bilirubin (mg/dL)	0.12 ± 0.04	0.16 ± 0.16	0.16 ± 0.10	0.15 ± 0.07	0.12 ± 0.04
BUN (mg/dL)	17.08 ± 2.23	17.71 ± 2.76	17.21 ± 3.45	19.69 ± 3.47	16.36 ± 2.66
Creatinine (mg/dL)	0.35 ± 0.05	0.37 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.40 ± 0.07	0.35 ± 0.05
Cholesterol (mg/dL)	82.15 ± 11.38	93.86 ± 18.99	95.75 ± 14.96	107.62 ± 21.54*	101.36 ± 23.17
Triglyceride (mg/dL)	90.92 ± 37.04	93.29 ± 48.91	111.29 ± 93.31	73.23 ± 43.67	68.73 ± 28.40
Total protein (g/dL)	5.97 ± 0.78	6.59 ± 0.63	6.91 ± 0.50*	7.16 ± 0.43*	6.60 ± 0.44
Albumin (g/dL)	3.51 ± 0.35	3.90 ± 0.56	4.24 ± 0.55*	4.44 ± 0.34*	3.88 ± 0.41
Globulin (g/dL)	2.46 ± 0.72	2.69 ± 0.18	2.67 ± 0.09	2.72 ± 0.43	2.72 ± 0.09
Uric acid (mg/dL)	1.55 ± 0.20	1.42 ± 0.27	1.21 ± 0.26*	0.96 ± 0.30*	1.05 ± 0.22*
Glucose (mg/dL)	128.00 ± 23.05	136.79 ± 6.90	138.93 ± 19.71	152.15 ± 19.27*	147.64 ± 14.58
Sodium (mmol/L)	146.92 ± 3.07	151.71 ± 4.84*	156.50 ± 4.40*	160.54 ± 5.36*	154.91 ± 3.83*
Potassium (mmol/L)	3.98 ± 0.34	4.21 ± 0.78	4.14 ± 0.41	4.01 ± 0.38	3.75 ± 0.22
Chloride (mmol/L)	105.02 ± 3.70	109.86 ± 3.76	113.07 ± 3.69*	117.00 ± 4.43*	113.00 ± 2.14*
Calcium (mg/dL)	10.56 ± 0.36	10.89 ± 0.61	11.53 ± 0.53*	11.90 ± 0.64*	11.31 ± 0.57*
Phosphorus (mg/dL)	4.12 ± 0.93	4.76 ± 0.78	5.43 ± 0.81*	5.86 ± 0.93*	4.93 ± 1.14

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Uric acid ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.008$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่า Sodium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.033$, $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Phosphorus สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.009$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$) ส่วนหนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Total Protein และ Albumin สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$)

ผลต่อค่าชีวเคมีของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ตารางที่ 4) พบว่าค่าเอนไซม์ AST ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery มีค่าต่ำกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.007$; $p = 0.046$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.014$) หนูแรพเพคเมียกลุ่ม Recovery มีค่า BUN และค่า Creatinine ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.026$; $p = 0.045$ ตามลำดับ) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Calcium สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.003$; $p < 0.001$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$)

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Uric acid ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.026$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$) หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Sodium และ Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Sodium: $p = 0.003$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ; Chloride: $p = 0.025$, $p < 0.001$, $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p < 0.001$)

หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Total Protein และ Albumin สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.024$; $p < 0.001$ ตามลำดับ) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$) หนูแรพเพคเมียกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน มีค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.001$)

ผลต่อน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์และความผิดปกติของอวัยวะภายใน

จากการเปรียบเทียบน้ำหนักสัมพันธ์ของอวัยวะต่างๆ ระหว่างหนูแรพเพคเมีย (ตารางที่ 5) ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth พบมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของน้ำหนักสัมพันธ์กระเพาะอาหารในหนูกลุ่ม Recovery ($p = 0.012$) โดยสัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับ ($p = 0.016$) ส่วนน้ำหนักสัมพันธ์ของอวัยวะต่างๆ ของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดทั้ง 4 กลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 6) ผลการตรวจ

ความผิดปกติทางมหัพยาธิวิทยา (Gross Anatomy) ของอวัยวะภายในต่าง ๆ จากการผ่าซากหลังสิ้นสุดการทดลองของหนูแรพเพคเมีย ไม่พบลักษณะอาการที่เกิดจากการได้รับสารสกัดใบพลู ส่วนหนูแรพเพคเมียพบเพียงลักษณะ 1 จุดเล็ก ๆ (1 spotted lesion) ที่ผิวหนังในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน (จำนวนหนูที่พบอาการ 1 ตัว ต่อหนูทดสอบ 14 ตัว) โดยอาการหรือการเปลี่ยนแปลงทางมหัพยาธิวิทยาที่พบนี้ไม่สัมพันธ์กับขนาดของสารสกัดที่ได้รับ ส่วนหนูแรพเพคเมียและเพศผู้ที่ตายระหว่างการทดสอบของกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดในขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery เนื่องมาจากการสำลักยาเข้าปอดขณะป้อน

ตารางที่ 4 ค่าชีวเคมีของหนูแรพเพคเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
AST (U/L)	90.62 ± 27.64	74.21 ± 17.73	77.86 ± 12.38	65.85 ± 11.10*	70.25 ± 16.01*
ALT (U/L)	43.62 ± 13.49	41.64 ± 10.57	38.93 ± 9.38	34.31 ± 4.17	37.42 ± 10.31
ALP (U/L)	87.38 ± 25.44	101.57 ± 21.36	107.21 ± 30.60	86.08 ± 28.12	84.17 ± 17.02
Total Bilirubin (mg/dL)	0.12 ± 0.06	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.00
BUN (mg/dL)	20.54 ± 3.64	19.21 ± 2.75	19.57 ± 3.11	20.08 ± 3.88	16.67 ± 2.06*
Creatinine (mg/dL)	0.44 ± 0.07	0.39 ± 0.07	0.37 ± 0.06	0.41 ± 0.03	0.37 ± 0.05*
Cholesterol (mg/dL)	121.23 ± 85.79	149.57 ± 76.51	124.50 ± 39.60	132.23 ± 62.82	154.17 ± 83.66
Triglyceride (mg/dL)	160.38 ± 69.96	179.57 ± 59.56	192.71 ± 105.76	197.54 ± 78.49	200.00 ± 82.24
Total protein (g/dL)	5.87 ± 0.02	6.04 ± 0.24	6.24 ± 0.35*	6.51 ± 0.36*	5.84 ± 0.18
Albumin (g/dL)	2.95 ± 0.23	3.13 ± 0.20	3.26 ± 0.29*	3.52 ± 0.35*	2.88 ± 0.21
Globulin (g/dL)	2.92 ± 0.20	2.91 ± 0.17	2.98 ± 0.14	2.99 ± 0.19	2.97 ± 0.19
Uric acid (mg/dL)	1.82 ± 0.41	1.48 ± 0.28	1.36 ± 0.26*	1.12 ± 0.14*	1.45 ± 0.23
Glucose (mg/dL)	129.00 ± 28.80	127.21 ± 18.40	143.36 ± 25.65	146.08 ± 16.05	122.25 ± 10.49
Sodium (mmol/L)	144.00 ± 2.08	148.07 ± 2.87*	151.43 ± 4.67*	157.92 ± 5.57*	145.92 ± 3.18
Potassium (mmol/L)	4.75 ± 0.55	4.71 ± 0.39	4.64 ± 0.44	4.69 ± 0.38	4.27 ± 0.63
Chloride (mmol/L)	102.00 ± 2.48	105.29 ± 2.61*	108.36 ± 2.02*	133.38 ± 4.31*	104.92 ± 3.23
Calcium (mg/dL)	10.42 ± 0.30	10.92 ± 0.32*	11.21 ± 0.50*	11.81 ± 0.55*	10.65 ± 0.20
Phosphorus (mg/dL)	5.84 ± 0.65	6.04 ± 1.03	5.94 ± 1.10	5.95 ± 0.55	5.42 ± 0.63

ตารางที่ 5 น้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (กรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลู เป็นเวลา 180 วัน

อวัยวะ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
สมอง	0.582 ± 0.083	0.565 ± 0.072	0.601 ± 0.067	0.567 ± 0.077	0.573 ± 0.056
หัวใจ	0.292 ± 0.026	0.283 ± 0.035	0.291 ± 0.028	0.298 ± 0.033	0.301 ± 0.033
ต่อมไทมัส	0.102 ± 0.042	0.103 ± 0.034	0.100 ± 0.044	0.095 ± 0.044	0.081 ± 0.037
ปอด	0.374 ± 0.047	0.381 ± 0.051	0.362 ± 0.055	0.382 ± 0.081	0.398 ± 0.047
ตับ	2.730 ± 0.259	2.682 ± 0.396	2.908 ± 0.491	2.864 ± 0.392	2.929 ± 0.402
กระเพาะอาหาร	0.476 ± 0.051	0.480 ± 0.062	0.516 ± 0.053	0.551 ± 0.132	0.580 ± 0.060*
ม้าม	0.185 ± 0.016	0.193 ± 0.039	0.190 ± 0.017	0.177 ± 0.061	0.191 ± 0.035
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.003	0.014 ± 0.002	0.012 ± 0.003	0.013 ± 0.002
ต่อมหมวกไตขวา	0.013 ± 0.003	0.013 ± 0.002	0.013 ± 0.003	0.013 ± 0.003	0.012 ± 0.003
ไตซ้าย	0.303 ± 0.036	0.308 ± 0.039	0.310 ± 0.035	0.303 ± 0.039	0.323 ± 0.027
ไตขวา	0.317 ± 0.040	0.318 ± 0.034	0.317 ± 0.037	0.314 ± 0.040	0.333 ± 0.037
กระเพาะปัสสาวะ	0.029 ± 0.006	0.027 ± 0.006	0.028 ± 0.007	0.026 ± 0.037	0.031 ± 0.006
รังไข่ซ้าย	0.023 ± 0.006	0.026 ± 0.004	0.024 ± 0.005	0.026 ± 0.008	0.023 ± 0.006
รังไข่ขวา	0.021 ± 0.006	0.020 ± 0.005	0.021 ± 0.004	0.022 ± 0.005	0.020 ± 0.006
มดลูก	0.300 ± 0.126	0.203 ± 0.057	0.226 ± 0.049	0.233 ± 0.070	0.282 ± 0.049

ค่าในตารางแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

R = Recovery group

*แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p < 0.05)

ผลการตรวจอวัยวะทางจุลพยาธิวิทยา

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด และของกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 7) ไม่พบความผิดปกติของสมอง ปอด ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ตับอ่อน ต่อมไทมัส ต่อมทรอยด์ ต่อมหมวกไต รังไข่ มดลูก และไขกระดูก หนูแรพเทศเมียของกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 300 มก./กก./วัน พบหัวใจมีการอักเสบระดับอ่อนในลักษณะ 1 focal myocarditis ซึ่งมีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน การเสื่อมของเซลล์ตับชนิด lobular vacuolar degeneration ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 และ 30 มก./กก./วัน มีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน พบการอักเสบระดับอ่อนที่เซลล์ตับในลักษณะ 1-2 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน พบการอักเสบในระดับปานกลางที่เซลล์ตับในลักษณะ 3-6 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่ม recovery และพบการอักเสบระดับรุนแรงเป็นบริเวณกว้างที่เซลล์ตับ (large area of hepatitis) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน ใต้พบการอักเสบระดับอ่อนในลักษณะ 1 focal nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน พบลักษณะของตะกอนในท่อหน่วยไต (cast in renal tubules) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน นอกจากนี้ยังพบลักษณะเลือดออกที่ไตส่วนใน (medullary hemorrhage) ในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 มก./กก./วัน โดยทั้งนี้ลักษณะการพบจุลพยาธิสภาพที่หัวใจและไตไม่มี

ตารางที่ 6 น้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ (กรัม/น้ำหนักตัว 100 กรัม) ของหนูแรพเพคส์ที่ได้รับสารสกัดใบพลู เป็นเวลา 180 วัน (ต่อ)

Parameters	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
	1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
สมอง	0.345 ± 0.033	0.338 ± 0.038	0.323 ± 0.032	0.339 ± 0.031	0.343 ± 0.037
หัวใจ	0.226 ± 0.022	0.229 ± 0.029	0.230 ± 0.022	0.235 ± 0.020	0.225 ± 0.017
ต่อมไทมัส	0.083 ± 0.032	0.074 ± 0.026	0.079 ± 0.033	0.073 ± 0.033	0.065 ± 0.040
ปอด	0.290 ± 0.036	0.296 ± 0.049	0.257 ± 0.034	0.276 ± 0.020	0.288 ± 0.050
ตับ	2.899 ± 0.541	3.058 ± 0.399	2.756 ± 0.756	3.058 ± 0.390	3.047 ± 0.270
กระเพาะอาหาร	0.394 ± 0.044	0.402 ± 0.060	0.556 ± 0.605	0.493 ± 0.050	0.461 ± 0.044
ม้าม	0.166 ± 0.017	0.166 ± 0.031	0.182 ± 0.065	0.162 ± 0.019	0.176 ± 0.021
ต่อมหมวกไตซ้าย	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.006 ± 0.001	0.005 ± 0.001
ต่อมหมวกไตขวา	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001
ไตซ้าย	0.267 ± 0.034	0.281 ± 0.034	0.246 ± 0.072	0.282 ± 0.033	0.299 ± 0.030
ไตขวา	0.272 ± 0.035	0.290 ± 0.041	0.271 ± 0.025	0.291 ± 0.037	0.305 ± 0.029
กระเพาะปัสสาวะ	0.025 ± 0.005	0.021 ± 0.008	0.025 ± 0.004	0.027 ± 0.007	0.029 ± 0.008
อวัยวะชาย	0.297 ± 0.022	0.300 ± 0.038	0.273 ± 0.030	0.310 ± 0.038	0.289 ± 0.041
อวัยวะขวา	0.293 ± 0.025	0.296 ± 0.034	0.279 ± 0.029	0.304 ± 0.034	0.285 ± 0.040
ท่อน้ำเชื้อซ้าย	0.142 ± 0.022	0.124 ± 0.018	0.126 ± 0.023	0.138 ± 0.020	0.133 ± 0.025
ท่อน้ำเชื้อขวา	0.130 ± 0.016	0.130 ± 0.041	0.121 ± 0.026	0.136 ± 0.029	0.136 ± 0.019

ความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม ส่วนการพบเซลล์ตับที่มีการเสื่อมแบบ lobular vacuolar degeneration ก็ถือว่าไม่มี ความแตกต่างเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นลักษณะของการเกิดการอักเสบที่ตับโดยรวม (small foci of hepatitis and large area of hepatitis) จะพบได้อย่างมีนัยสำคัญในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน (p-value =0.015) และกลุ่ม recovery (p-value =0.031) เมื่อเทียบกับหนูกลุ่มควบคุม

ผลการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเพคส์ที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด และของกลุ่ม recovery ที่ได้รับสารสกัด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth (ตารางที่ 8) ไม่พบความผิดปกติของสมอง ปอด ม้าม กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับอ่อน ต่อมไทมัส ต่อมไพโรยด์ ต่อมหมวกไต ท่อน้ำเชื้อ อวัยวะ และไขกระดูก หนูแรพเพคส์ของกลุ่มที่ได้รับสารสกัดที่ขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน พบหัวใจมีการอักเสบระดับอ่อนเป็นหย่อมในลักษณะ 1 focal myocarditis ในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม ควบคุม การเสื่อมของเซลล์ตับชนิด lobular vacuolar degeneration ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับ สารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน มีสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน พบการอักเสบระดับอ่อนที่เซลล์ตับใน ลักษณะ 1-2 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มควบคุม หนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./ วัน และหนูกลุ่ม recovery พบการอักเสบระดับปานกลางที่เซลล์ตับในลักษณะ 3-5 small foci of hepatitis ในหนูกลุ่มควบคุมและกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน ไม่พบการอักเสบเป็นวงกว้างในลักษณะ

ตารางที่ 7 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาหนูแรพเทศเมียที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน

อวัยวะ	พยาธิสภาพที่พบ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
		1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 11
สมอง		N	N	N	N	N
ปอด		N	N	N	N	N
หัวใจ	1 Focal myocarditis	1/13	N	N	1/13	N
ตับ	Lobular vacuolar degeneration	2/13	1/14	3/14	N	N
	1-2 Small foci of hepatitis ^a	N	1/14	1/14	5/13a*	N
	3-6 Small foci of hepatitis ^a	N	N	N	N	4/11 a*
	Large area of hepatitis ^a	N	N	N	1/13 a*	N
ไต	1 Focal nephritis	N	2/14	N	N	N
	Cast in renal tubules	N	N	1/14	1/13	N
	Medullary hemorrhage	N	N	1/14	N	N
ม้าม		N	N	N	N	N
ตับอ่อน		N	N	N	N	N
กระเพาะอาหาร		N	N	N	N	N
ลำไส้		N	N	N	N	N
ต่อมไทมัส		N	N	N	N	N
ต่อมไทรอยด์		N	N	N	N	N
ต่อมหมวกไต		N	N	N	N	N
รังไข่		N	N	N	N	N
มดลูก		N	N	N	N	N
ไขกระดูก		N	N	N	N	N

N = No lesion ค่าในตารางแสดงในรูปจำนวนหนูที่พบพยาธิสภาพ/จำนวนหนูที่ทดสอบ

a* แตกต่างจากกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยคิดจากจุลพยาธิสภาพที่พบการอักเสบในตับโดยรวม (hepatitis) R = Recovery group

1 large focal nephritis ในหนูกลุ่มควบคุม พบการอักเสบของไตในลักษณะ 2 small foci of nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 และ 30 มก./กก./วัน พบการอักเสบของไตในลักษณะ 1 small focal interstitial nephritis ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3 มก./กก./วัน และพบการอักเสบที่มีเลือดออกที่เส้นเลือดในไต (a few foci of nephritis with hemolysis in vessels) ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน โดยทั้งนี้ลักษณะการพบจุลพยาธิสภาพต่าง ๆ ที่หัวใจ ตับ และไต ถือว่าไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุม และลักษณะของการอักเสบเป็นหย่อมเล็กๆ ที่ตับ (small foci of hepatitis) ยังพบได้ในหนูทดลองบางตัวทั้งในกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery

ตารางที่ 8 ผลการตรวจเนื้อเยื่ออวัยวะทางจุลพยาธิวิทยาหนูแรพเพคต์ที่ได้รับสารสกัดใบพลูเป็นเวลา 180 วัน (ต่อ)

อวัยวะ	พยาธิสภาพที่พบ	กลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลู (มก./กก./วัน)				
		1.0% Tragacanth n = 13	3 n = 14	30 n = 14	300 n = 13	300-R n = 12
สมอง		N	N	N	N	N
ปอด		N	N	N	N	N
หัวใจ	1 Focal myocarditis	N	1/14	1/14	1/13	N
ตับ	Lobular vacuolar degeneration	1/13	3/14	2/14	2/14	N
	1-2 Small foci of hepatitis	2/13	N	1/14	1/14	4/12
	3-5 Small foci of hepatitis	2/13	1/14	N	N	N
ไต	1 Large focal nephritis	1/13	N	N	N	N
	2 Small foci of nephritis	N	2/14	2/14	N	N
	1 Small focal interstitial nephritis	N	2/14	N	N	N
	A few foci of nephritis with hemolysis in vessels	N	N	N	1/14	N
ม้าม		N	N	N	N	N
ตับอ่อน		N	N	N	N	N
กระเพาะอาหาร		N	N	N	N	N
ลำไส้		N	N	N	N	N
ต่อมไทรอยด์		N	N	N	N	N
ต่อมไทมัส		N	N	N	N	N
ต่อมหมวกไต		N	N	N	N	N
ท่อน้ำเชื้อ		N	N	N	N	N
อวัยวะ		N	N	N	N	N

N = No lesion ค่าในตารางแสดงในรูปจำนวนหนูที่พบพยาธิสภาพ/จำนวนหนูที่ทดสอบ R = Recovery group

วิจารณ์

การศึกษาความเป็นพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบพลูในหนูไมซ์โดยป้อนสารสกัดที่ขนาด 300 และ 2,000 มก./กก. พบว่าสารสกัดใบพลูไม่ทำให้เกิดอาการพิษเฉียบพลัน และไม่พบการตายเมื่อครบกำหนด 14 วัน ผลจากการทดสอบประเมินได้ว่าสารสกัดใบพลูมีช่วงของค่าขนาดที่ทำให้หนูไมซ์ตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ที่มากกว่า 2,000 ถึง 5,000 มก./กก. ดังนั้นจากการจัดแบ่งประเภทความเป็นพิษตามหลักเกณฑ์ของ GHS (Globally Harmonized Classification System)⁽³⁴⁾ อาจถือได้ว่าสารสกัดใบพลูที่ใช้ในการศึกษานี้ จัดอยู่ในประเภทที่ 5 ที่มีความเป็นพิษต่ำ (relatively low acute toxicity hazard)

การศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในหนูแรพเพคต์เป็นระยะเวลา 180 วัน พบว่าการกินอาหารเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์ของหนูแรพเพคต์เมื่อยัง 3 กลุ่ม ที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด ตั้งแต่ 3 ถึง 300 มก./กก./วัน

มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ที่เป็นตัวทำละลายในหนูแรพเพศผู้พบเพียงการกินอาหารเฉลี่ยลดลงอย่างมีนัยสำคัญในสัปดาห์ที่ 24 ของกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ส่วนผลต่อการกินน้ำเฉลี่ยในแต่ละสัปดาห์พบว่า หนูแรพเพศเมียและเพศผู้ทั้ง 3 กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูมีแนวโน้มที่ลดลง แต่ก็มีค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมหนูแรพทั้งสองเพศในกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูทั้ง 3 ขนาด มีค่าน้ำหนักตัวเฉลี่ยที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงว่าสารสกัดใบพลูไม่ทำให้เกิดความผิดปกติของการเจริญเติบโตในหนูกลุ่มทดสอบทั้งสองเพศ

จากผลการตรวจค่าโลหิตวิทยาต่างๆ ของกลุ่มหนูแรพเพศเมียและกลุ่มหนูแรพเพศผู้ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน เป็นเวลา 180 วัน ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับสารละลาย 1.0% Tragacanth ดังนั้นสารสกัดใบพลูไม่น่าจะส่งผลกระทบต่อกระบวนการสร้างเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวในหนูกลุ่มทดสอบทั้งสองเพศ

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูแรพเพศเมียพบว่า หนูกลุ่ม Recovery ที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน เป็นเวลา 180 วัน พบมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าระดับเอนไซม์ ALT, Calcium และ Chloride ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แต่ค่าดังกล่าวยังคงอยู่ในช่วงปกติ ในขณะที่ค่าของ Sodium พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และสูงกว่าช่วงของค่าปกติ^(39,40) หนูแรพกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 300 มก./กก./วัน มีค่า Cholesterol, Calcium, Phosphorus, Glucose, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงถือว่าอยู่ในช่วงปกติ^(9, 40) ยกเว้นค่าของ Sodium และค่า Chloride ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมและค่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม Recovery พบมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40)

หนูแรพเพศเมียมกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 มก./กก./วัน มีค่า Calcium, Phosphorus, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40) ในขณะที่ค่าของ Sodium และค่า Chloride พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าที่สูงกว่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ในหนูกลุ่มนี้พบค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังคงอยู่ในช่วงปกติ^(39, 40) สำหรับหนูแรพเพศเมียมกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 มก./กก./วัน พบเพียงค่า Sodium ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและสูงกว่าช่วงปกติ^(39, 40)

ผลการตรวจทางชีวเคมีในหนูแรพเพศผู้พบว่า หนูกลุ่ม Recovery มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าระดับเอนไซม์ AST, BUN และค่า Creatinine ที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) หนูแรพกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน พบค่า Calcium, Total Protein และค่า Albumin ที่สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) ในขณะที่ค่าของ Sodium และค่า Chloride พบว่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าที่สูงกว่าช่วงของค่าปกติ^(39, 40) ส่วนค่า Uric acid ของหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 30 และ 300 มก./กก./วัน พบมีค่าที่ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40) พบการลดลงของค่าเอนไซม์ AST ในหนูกลุ่มที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน แต่ยังคงอยู่ในช่วงของค่าปกติ^(39, 40)

การลดลงของค่า Uric acid ในหนูแรพทั้งสองเพศที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 30 ถึง 300 มก./กก./วัน สอดคล้องกับผลการทดลองของ Murata K และคณะ⁽⁴¹⁾ ที่พบว่าพืชในวงศ์ Piperaceae มีฤทธิ์ในการยับยั้ง

การทำงานของเอนไซม์แซนทีนออกซิเดส (Xanthine oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ก่อให้เกิดอนุมูลอิสระไปละลายเบสพิวรีน (Purine) ส่งผลให้ไฮโปแซนทีน (Hypoxanthine) เปลี่ยนไปเป็นแซนทีน (Xanthine) และจากแซนทีนเป็นกรดยูริก ซึ่งนำไปสู่การเกิดโรคเกาต์ โดยสารสกัดใบพลูที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 200 นาโนกรัม/มิลลิลิตร สามารถยับยั้งเอนไซม์ดังกล่าวได้ร้อยละ 40.7 และ 77.7 ตามลำดับ นอกจากนี้ Murata K และคณะ⁽⁴¹⁾ ยังได้ทำการแยกสารประกอบจากสารสกัดหยาบของใบพลูให้บริสุทธิ์ขึ้น ซึ่งพบว่าสารอัลลิลไพโรแคททีซอล (Allylpyrocatechol-APC) มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แซนทีนออกซิเดสดีที่สุด โดยให้ค่า IC_{50} ที่ 16.7 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งน้อยกว่ายาอัลโลพูรีนอล (Allopurinol) ที่เป็นกลุ่มควบคุมถึงสองเท่า ส่วนเมทิลยูจีนอล (Methyleugenol) และไดไฮโดรมเมทิลยูจีนอล (Dihydromethyleugenol) ให้ค่า IC_{50} ที่ความเข้มข้นสูงกว่า 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังนั้น ควรมีการพัฒนาแยกสารสกัดใบพลูให้มีความบริสุทธิ์สูงขึ้นและศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเพิ่มเติม เพื่อที่จะนำมาใช้เป็นยารักษาโรคเกาต์ ซึ่งมีความปลอดภัยมากกว่ายาอัลโลพูรีนอลจากการสังเคราะห์

สำหรับหนูแรพเพคผู้กลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลูขนาด 3 มก./กก./วัน พบค่า Calcium, Sodium และค่า Chloride สูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าดังกล่าวถือว่ายังคงอยู่ในช่วงปกติตามที่เคยมีรายงานมา^(39, 40)

การเพิ่มขึ้นของระดับอิเล็กโทรไลต์ในซีรัมของค่า Sodium, Chloride และค่า Calcium ตามขนาดที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ (dose-dependent) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูนี้จะส่งผลต่อสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ดังกล่าวในเลือด (electrolyte imbalance) และระดับอิเล็กโทรไลต์ที่สูงขึ้นดังกล่าวจะมีค่าที่ลดลงหลังหยุดป้อนสารสกัดเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ซึ่งจะเห็นได้อย่างชัดเจนในกลุ่มหนูทดสอบเพศผู้ การตอบสนองที่แตกต่างกันในต่างเพศของระดับอิเล็กโทรไลต์ อาจเกิดจากอิทธิพลของฮอร์โมนเพศที่ส่งผลต่อการควบคุมสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ในไต^(42,43,44) ซึ่งส่งผลให้เพศผู้จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดความผิดปกติของสมดุลอิเล็กโทรไลต์ได้สูงกว่าเพศเมียจากการได้รับสารสกัดใบพลู ส่วนการเพิ่มขึ้นของระดับ Total protein และ Albumin ตามขนาดที่เพิ่มขึ้นของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ และค่าดังกล่าวจะลดลงหลังหยุดป้อนสารสกัดเป็นเวลา 2 สัปดาห์นั้น อาจเกิดจากหนูมีการกินน้ำที่ลดลงและสารสกัดใบพลูอาจส่งผลเพิ่มการสร้าง Albumin จากตับ⁽⁴⁵⁾

การพบค่าของน้ำหนักอวัยวะสัมพันธ์ของกระเพาะอาหารที่เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มหนูแรพเพคเมีย กลุ่ม Recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมโดยที่ไม่พบพยาธิสภาพใดๆ ถือว่าสารสกัดใบพลูในขนาดนี้ไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติต่อกระเพาะอาหาร แต่อาจเกิดจากน้ำหนักตัวหนูที่มีแนวโน้มที่ลดลง ซึ่งจะส่งผลให้การคำนวณน้ำหนักสัมพันธ์เพิ่มขึ้นได้

ผลทางจุลพยาธิวิทยาในกลุ่มหนูทดสอบเพศเมียทุกกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลู พบพยาธิสภาพที่หัวใจและไตที่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม อีกทั้งค่าระดับเอนไซม์ AST ที่จำเพาะกับหัวใจและค่า Creatinine หรือค่า BUN ที่จำเพาะกับการทำงานของไตยังคงอยู่ในช่วงปกติตามที่มียารายงานมา^(39,40) แสดงว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่ามีผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อหัวใจและไตในหนูแรพเพคเมีย ส่วนการพบเซลล์ตับที่มีการเสื่อมแบบ lobular vacuolar degeneration ที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ยกเว้นลักษณะของการเกิดการอักเสบเป็นหย่อมๆ ที่ตับ (small foci of hepatitis and large area of hepatitis) อย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มหนูที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ประกอบกับการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับเอนไซม์ ALT ที่จำเพาะต่อการทำงานของตับแต่ยังไม่สูงมากเมื่อเทียบกับช่วงของค่าปกติ²³ แสดงว่าสารสกัดใบพลูในขนาด 300 มก./กก./วัน อาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อตับในระดับเล็กน้อยในหนูเพศเมีย

ผลทางจุลพยาธิวิทยาในหนูแรพเพคผู้ทั้งสามกลุ่มที่ได้รับสารสกัดใบพลู พบการอักเสบระดับเล็กน้อยของหัวใจและตับ ในลักษณะ focal myocarditis และ small foci hepatitis ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ประกอบกับค่าระดับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับหัวใจและตับ ได้แก่ AST, ALT และ ALP ยังคงอยู่ในช่วงปกติ แสดงว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่าส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษที่หัวใจและตับในหนูแรพเพค ส่วนการอักเสบเล็กน้อยของไตในลักษณะ nephritis ที่พบในหนูทั้งสามกลุ่ม มีอัตราการเกิดที่ต่ำและไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้งค่า BUN และ Creatinine ยังคงอยู่ในช่วงปกติ จึงบ่งชี้ได้ว่าสารสกัดใบพลูขนาด 3 ถึง 300 มก./กก./วัน ไม่น่าส่งผลกระทบต่อความเป็นพิษต่อไตในหนูแรพเพค

สรุป

จากการศึกษาพิษเฉียบพลันของสารสกัดใบพลูในหนูไม่ซีโดยป้อนสารสกัดใบพลูครั้งเดียวที่ขนาด 300 ถึง 2,000 มก./กก. ไม่พบอาการพิษแบบเฉียบพลันใดๆ ซึ่งประเมินได้ว่าสารสกัดใบพลูนี้มีช่วงของค่าขนาดสารสกัดที่ทำให้หนูไม่ซีตายร้อยละ 50 (LD_{50}) ที่มากกว่า 2,000 ถึง 5,000 มก./กก. ซึ่งถือว่ามีความเป็นพิษต่ำ ส่วนผลของการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรัง 180 วัน ของสารสกัดใบพลูที่ป้อนในหนูแรพเพคทั้งสองเพศที่ขนาด 3, 30 และ 300 มก./กก./วัน ไม่พบทำให้เกิดอาการป่วยจากพิษสะสม ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าทางโลหิตวิทยาตามขนาดของสารสกัดใบพลูที่เพิ่มขึ้น แต่พบผลต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าซีรัมชีวเคมีที่เพิ่มขึ้นในระดับเล็กน้อยของค่า Total Protein, Albumin, Cholesterol, Glucose และการเปลี่ยนแปลงที่ลดลงในระดับเล็กน้อยของค่า Uric acid, BUN, Creatinine โดยค่าดังกล่าวยังอยู่ในช่วงปกติของหนูแรพเพค ประกอบกับการที่ไม่พบความผิดปกติทางพยาธิสภาพอย่างมีนัยสำคัญของไตเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงได้ว่าสารสกัดใบพลูไม่น่าจะเป็นพิษต่อไต ส่วนการพบการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญของระดับเอนไซม์ ALT ในหนูเพศเมียกลุ่ม recovery (แต่ยังไม่สูงมากเมื่อเทียบกับช่วงของค่าปกติ) พร้อมกับการพบลักษณะการอักเสบที่ตับโดยรวม (hepatitis) อย่างมีนัยสำคัญในหนูเพศเมียที่ได้รับสารสกัดขนาด 300 มก./กก./วัน และในกลุ่ม recovery เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม แสดงให้เห็นว่าสารสกัดใบพลูอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อตับเล็กน้อย นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของระดับอิเล็กโทรไลต์ในซีรัม ได้แก่ Sodium, Chloride และ Calcium เพิ่มขึ้นตามขนาดของสารสกัดใบพลูที่ได้รับในหนูทดสอบทั้งสองเพศ ช่วยบ่งชี้ว่าสารสกัดใบพลูน่าจะส่งผลกระทบต่อสมดุลของอิเล็กโทรไลต์ดังกล่าวในเลือด ดังนั้นสรุปผลจากการศึกษาความเป็นพิษเรื้อรังของสารสกัดใบพลูในครั้งนี้ได้ว่า ในหนูแรพเพคเมียที่ทดสอบนี้มีค่าขนาดต่ำสุดของสารสกัดที่ทำให้เกิดผลข้างเคียงหรือค่า LOAEL (the lowest observed adverse effect level) เท่ากับ 3 มก./กก./วัน ซึ่งพิจารณาจากผลกระทบต่อระดับ Sodium ในเลือดที่สูงกว่าช่วงปกติ ส่วนในหนูแรพเพคผู้มีค่า LOAEL เท่ากับ 3 มก./กก./วัน โดยพิจารณาจากผลกระทบต่อค่า Chloride ในเลือดที่สูงกว่าช่วงปกติ ดังนั้นการพัฒนานำสารสกัดใบพลูไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหรือยารักษาโรคตามฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในระยะเวลาติดต่อกัน ควรคำนึงถึงผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นที่ตับและประเมินค่าของอิเล็กโทรไลต์ในซีรัมเป็นระยะโดยเฉพาะอย่างยิ่งค่า Sodium และ Chloride

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผ่านมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 และขอขอบคุณ รศ. น.สพ. ดร.ทวีศักดิ์ ส่งเสริม คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่กรุณาตรวจสอบผลสไลด์ของเนื้อเยื่อสัตว์ทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. เพียงทอง นรากร. เจลพลูกับโรคผิวหนังอักเสบเรื้อรัง. องค์การเภสัชกรรม [ออนไลน์]. [สืบค้น 22 พ.ย. 2556]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.gpo.or.th/rdi/html/pieng.html>.
2. Alam B, Akter F, Parvin N, Pia RS, Akter S, Chowdhury J, et al. Antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activities of the methanolic extract of *Piper betle* leaves. *Avicenna J Phytomed* 2013; 3(2): 112-25.
3. Nalina T, Rahim ZHA. The crude aqueous extract of *Piper betle* L. and its antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*. *Am J Biochem & Biotech* 2007; 3: 10-5.
4. วันทนีย์ สว่างอารมณ์ และพาณีน จันทร์เล็ก. การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*. *ก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์* 2555; 12(2): 47-57.
5. Arambewela L, Kumaratunga KGA, Dias K. Studies on *Piper betle* of Sri Lanka. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka* 2005; 33(2): 133-9.
6. Trakranrungsie N, Chatchawanchonteera A, Khunkitti W. Ethnoveterinary study for antidermatophytic activity of *Piper betle*, *Alpinia galanga* and *Allium ascalonicum* extracts *in vitro*. *Res Vet Sci* 2008; 84: 80-4.
7. Patel RM, Jasrai YT. Evaluation of fungitoxic potency of *Piper betel* L. (mysore variety) leaf extracts against eleven phyto-pathogenic fungal strains. *CJBP* 2013; 2(2): 21-8.
8. Al-Adhroey AH, Nor ZM, Al-Mekhlafi HM, Amran AA, Mahmud R. Antimalarial activity of methanolic leaf extract of *Piper betle* L. *Molecules* 2011; 16: 107-18.
9. Jawale NM, Shewale AB, Nerkar GS, Patil VR. Evaluation of antihistaminic activity of leaves of *Piper betel* Linn. *Pharmacologyonline* 2009; 3: 966-77.
10. Swapna NL, Ammani K, Saripalli P. Antioxidant activity of Mekkathotapapada leaves of *Piper betel* L. Cv. Kapoori. *Free Rad Antiox* 2012; 2(4): 68-72.
11. Ganguly S, Mula S, Chattopadhyay S, Chatterjee M. An ethanol extract of *Piper betle* Linn. mediates its anti-inflammatory activity via down-regulation of nitric oxide. *J Pharm Pharmacol* 2007; 59(5): 711-8.
12. Arambewela L, Arawwawala M, Rajapaksa D. *Piper betle*: a potential natural antioxidant. *Int Food Sci Technol* 2006, 41 (Suppl 1): 10-4.
13. อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ยูพา มงคลสุข, งามผ่อง คงคาทิพย์, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, วิภารัตน์ รัตนะ และประภัสสร รักถาวร. การออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดพลูในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]; [6 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC4205035.pdf>.
15. Chang MC, Uang BJ, Tsai CY, Wu HL, Lin BR, Lee CS, et al. Hydroxychavicol, a novel betel leaf component, inhibits platelet aggregation by suppression of cyclooxygenase, thromboxane production and calcium mobilization. *Br J Pharmacol* 2007, 152: 73-82.
16. Misra P, Kumar A, Khare P, Gupta S, Kumar N, Dube A. Pro-apoptotic effect of the landrace Bangla Mahoba of *Piper betle* on *Leishmania donovani* may be due to the high content of eugenol. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1058-66.

17. Venkadeswaran K, Muralidharan AR, Annadurai T, Ruban VV, Sundararajan M, Anandhi R, et al. Antihypercholesterolemic and antioxidative potential of an extract of the Plant, *Piper betle*, and its active constituent, eugenol, in Triton WR-1339-induced hypercholesterolemia in experimental Rats. Evid Based Complement Alternat med [online]. 2014; [cited 2014 Aug 1]; [11 screens]. Available from: URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/478973>.
18. Majumdar B, Sinha AK, Yadav SC, Niroula DR. Upregulation of cyclooxygenase system and growth factors as plausible mechanism of antinuclear activity of leaf of *Piper Betle* Linn: a molecular insight. J Nobel Med Coll 2012; 1(2): 14-24. J Nobel Medical College.
19. Bhattacharya S, Banerjee D, Bauri AK, Chattopadhyay S, Bandyopadhyay SK. Healing property of the *Piper betel* phenol, allylpyrocatechol against indomethacin-induced stomach ulceration and mechanism of action. World J Gastroenterol 2007; 13(27): 3705-13.
20. Bhattacharya S, Subramanian M, Roychowdhury S, Bauri AK, Kamat JP, Chattopadhyay S, et al. Radioprotective property of the ethanolic extract of *Piper betel* Leaf. J Radiat Res 2005; 46(2): 165-71.
21. Paranjpe R1, Gundala SR, Lakshminarayana N, Sagwal A, Asif G, Pandey A, et al. Piper betel leaf extract: anticancer benefits and bio-guided fractionation to identify active principles for prostate cancer management. Carcinogenesis 2013; 34(7): 1558-66.
22. Nagabhushan M, Amonkar AJ, D'Souza AV, Bhide SV. Nonmutagenicity of betel leaf and its antimutagenic action against environmental mutagens. Neoplasma 1987; 34(2): 159-67.
23. Chughtai SR, Mohmand AS, Siddiqi BA. Assessment of possible mutagenicity of betel leaf in *Saccharomyces cerevisiae*. Pak J Bot 1988; 20(2): 265-72.
24. Ratnasooriya WD, Premakumara GAS. *Piper betle* leaves reversibly inhibits fertility of male rats. Vidyodaya J of Sci 1997; 7: 15-21.
25. Sengupta A, Adhikary P, Basak BK. Pre-clinical toxicity evaluation of leaf-stalk extractive of *Piper betle* Linn. in rodents. Indian J Exp Biol 2000; 38(4): 338-42.
26. บัญชียาหลักแห่งชาติ พ.ศ. 2556. [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.nlem.in.th/medicine/essential/list>.
27. องค์การเภสัชกรรม. สมุนไพรรักษาอาการกลากเกลื้อน. [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.gpo.or.th/rdi/TotalherThai/Eleven/plu.html>.
28. โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี พืชสมุนไพรแก้กลากเกลื้อน. [ออนไลน์]. [สืบค้น 1 ส.ค. 2557]. เข้าถึงได้จาก : URL: http://www.rspg.or.th/plants_data/use/herbs16.5.html.
29. Datta A, Ghoshdastidar S, Singh M. Antimicrobial property of *Piper betle* leaf against clinical isolates of bacteria. IJPSR 2011; 2(3): 104-9.
30. ปิยะวดี เจริญวัฒนา. ประสิทธิภาพของสารสกัดพลูในการยับยั้งเชื้อรา *Aspergillus flavus*. ว วิทยาศาสตร์เกษตร 2550; 38(6) (พิเศษ): 50-3.
31. วรณกนก สอนแก้วมณี. ผลของสารสกัดจากใบพลูต่อความคงตัวต่อความร้อนของน้ำมันที่ใช้ปรุงอาหาร. [วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต] สาขาวิชาการพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร. เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่; 2554.

32. สุมณฑา วัฒนสินธุ์, จิรดา สิงขรัตน์ และสมโภช พจนพิมล. การค้นหาสารต้านจุลินทรีย์ธรรมชาติจากพืชสมุนไพรไทย : รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ปทุมธานี : สำนักวิจัย มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; 2549.
 33. เบญจมาศ เกตุบพ, आयुวัฒน์ เล้าหิ่วพานิช และสุมณฑา วัฒนสินธุ์. เอกสารการประชุมนิทรรศการแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปัญญาตรี สกว. ครั้งที่ 6 เรื่อง การพัฒนาวัตถุเจือปนอาหารสัตว์ต้านจุลชีพจากพืชสมุนไพรไทย. วันที่ 28-30 มีนาคม 2551. กรุงเทพฯ : สยามพารากอน; 2551.
 34. Organization for Economic Cooperation & Development. OECD guidelines for testing of chemicals. Test no. 423: acute oral toxicity–acute toxic class method; French: OECD; 2002.
 35. Organization for Economic Cooperation & Development. OECD guidelines for the testing of chemicals. Test no. 452: chronic toxicity studies. French: OECD; 2009.
-

Acute and Chronic Toxicity Study of *Piper betle* L. Leaf Extract

Maskiet Boonyareth* Sumontha Vadhanasin** Raywadee Butraporn*
Navakanit Sachanonta* Waridtha Sa-Nguanruang* Ticomporn Yamsaad*
and Somchai Sangkitporn*

*Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000

**Thammasat University, Klong Luang District, Pathumthani 12121, Thailand.

ABSTRACT *Piper betle* leaf extract (*Piper betle* L.) is widely used in human and animal products. To determine the safety of the extract in terms of acute and chronic toxicity (6 months). The crude extract was prepared via the supercritical fluid extraction (SFE), using carbon dioxide and ethanol as a cosolvent. The oral administration was then performed in female ICR mice and both sexes of Wistar rats, respectively. The acute toxicity results revealed that the extract produced no acute toxicity in ICR mice when orally given at individual doses of 300 and 2,000 mg/kg. The chronic toxicity study at doses 3, 30 and 300 mg/kg/day showed that there were no effects on cumulative clinical signs, body weights, food consumption, relative organ weights and hematological values. The electrolyte imbalance showed significant increase in sodium, chloride, calcium and phosphorus in a dose-dependent manner in both sexes. In addition, there were a slight increase in serum ALT of female recovery group (300 mg/kg/day) and a remarkable mild hepatitis lesion in female rats receiving 300 mg/kg/day and in recovery group. Thus, the application of the so-called extract in food and drug should be surveillance on the electrolyte system as well as the hepatic function.

Key words: *Piper betle* L., acute and chronic toxicity, ICR mice, Wistar rat

การประเมินความเสี่ยงของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ในเขตภาคกลางและการสนับสนุนการกำหนด มาตรฐานควบคุมคุณภาพ

ลดาพรรณ แสงคล้าย กัญญา พุกสุ่น ปิยะมาศ แจ่มศรี กรุณา ตีรสมิทธิ์ และกรรณิกา จิตติยศรา
สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญมีปริมาณเพิ่มขึ้นมากในแหล่งชุมชนเขตเมือง โดยเฉพาะกรุงเทพมหานคร ในปี พ.ศ. 2554 มีจำนวนมากกว่า 20,000 ตู้ มีข้อมูลของหลายหน่วยงานระหว่าง พ.ศ. 2550-2555 รายงานว่าน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน โดยอ้างอิงตามเกณฑ์ของน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุปิดสนิท ผู้บริโภคจึงอาจมีความเสี่ยงที่จะได้รับอันตรายจากการดื่มน้ำตู้หยอดเหรียญได้ และในปี พ.ศ. 2555 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) มีความประสงค์ที่จะกำหนดมาตรฐานเฉพาะเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ดำเนินโครงการประเมินความเสี่ยงของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในเขตจังหวัดภาคกลางรวม 5 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี ระหว่างมกราคม ถึงตุลาคม 2555 เพื่อให้ได้ข้อมูลผลวิเคราะห์น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญสำหรับประเมินความเสี่ยงของผู้บริโภคต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ และเพื่อสนับสนุนการกำหนดมาตรฐาน ผลสำรวจข้อมูลของตู้น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ พบตั้งอยู่บริเวณหน้าอาคารร้อยละ 76.9 ตั้งอยู่ในที่แสงแดดส่องถึงร้อยละ 69.3 สภาพแวดล้อมไม่ถูกสุขลักษณะเพราะพบถังขยะ/เศษขยะร้อยละ 10.9 และมีน้ำขังแฉะรอบตู้ร้อยละ 9.3 ตู้มีอายุการใช้งานไม่เกิน 2 ปี และพบเพียง 3 ตู้ มีฉลากครบถ้วนตามประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2553) จากจำนวนทั้งหมด 69 ตู้ ที่ต้องติดฉลากให้ถูกต้องตามประกาศฯ (คิดเป็นร้อยละ 4.3) ระบบกรองน้ำภายในตู้ร้อยละ 94.6 เป็นระบบ Reverse osmosis (RO) ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญจำนวนทั้งหมด 430 ตัวอย่าง พบไม่ผ่านมาตรฐาน 121 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 28.1 จำแนกเป็น ไม่ผ่านมาตรฐานด้านฟิสิกส์และเคมี 43 ตัวอย่างหรือร้อยละ 10.0 สาเหตุจากค่าความกระด้างทั้งหมด ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณสารทั้งหมด ร้อยละ 6.5, 3.5 และ 1.6 ตามลำดับ ผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ไม่ผ่านมาตรฐาน 93 ตัวอย่างหรือร้อยละ 21.6 สาเหตุสูงสุดเนื่องจาก Coliforms เกินเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 20.5 รองลงมาพบ *E. coli* ร้อยละ 3.7 นอกจากนี้ ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษรวม 8 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 1.9 และพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมากกว่า 1,000 CFU ต่อมิลลิกรัมในตัวอย่างร้อยละ 71.8 ผลทดสอบด้วยสถิติ Chi square พบว่า ตู้ที่ติดตั้งในที่แสงแดดส่องถึง ไม่มีความสัมพันธ์กับการพบตะไคร่น้ำบริเวณช่องจ่ายน้ำและหัวจ่าย ($P > 0.05$, $P = 0.4673$) ค่าความกระด้างทั้งหมด ปริมาณสารทั้งหมดในน้ำ และผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ไม่มีความสัมพันธ์กับอายุการใช้งานของตู้น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ($P > 0.05$, $P = 0.6799$, 0.5829 และ 0.7753) ขณะที่ผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านมาตรฐานมีความสัมพันธ์กับตู้ที่ มีและไม่มีประตูปิดช่องจ่ายน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $P = 0.0281$) ค่าความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษคำนวณโดยใช้โปรแกรม “Risk Ranger” พบความน่าจะเป็นของการเกิดโรคต่อวันต่อคนในกลุ่มผู้บริโภค 5 จังหวัด เนื่องจากดื่มน้ำตู้หยอดเหรียญที่ปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. เท่ากับ 7.50×10^{-9} , 1.50×10^{-8} และ 7.50×10^{-8} ตามลำดับ และคาดว่าจะเกิดการเจ็บป่วยเนื่องจากเชื้อทั้งสามชนิดในกลุ่มผู้บริโภค 1,690,000 คน ในเขตภาคกลาง 5 จังหวัด เท่ากับ 14, 27 และ 133 ครั้งต่อปี โดยมีค่าลำดับความเสี่ยง (Risk ranking) ของ *S. aureus*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. อยู่ที่ 28, 29 และ 39 ตามลำดับ หลังการตรวจวิเคราะห์คุณภาพเสร็จสิ้น ได้สนับสนุนผลวิเคราะห์และข้อมูลสำรวจตู้ให้กับ อย. และในปี 2556 ได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 362) พ.ศ. 2556 เรื่อง น้ำบริโภคจากตู้จำหน่ายน้ำดื่มอัตโนมัติ มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 16 ตุลาคม พ.ศ. 2557

Accepted for publication, 9 February 2015

บทนำ

ผู้บริโภคที่ต้องการดื่มน้ำสะอาดและปลอดภัย นิยมดื่มน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทซึ่งมีการควบคุมคุณภาพตามกฎหมาย ปัจจุบัน ผู้บริโภคมีอีกทางเลือกหนึ่งคือ การใช้บริการน้ำบริโภคจากตู้จำหน่ายอัตโนมัติ หรือที่นิยมเรียกกันโดยทั่วไปว่า “น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ” ซึ่งมีราคาถูกเพียงลิตรละ 1-2 บาท ผู้ให้บริการได้ติดตั้งตู้จำหน่ายอยู่ทั่วไปในแหล่งชุมชนเขตเมืองที่มีประชาชนอยู่หนาแน่น อีกทั้งผู้ประกอบการผลิตน้ำดื่มบรรจุขวดหลายรายได้ขยายธุรกิจน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญด้วย ทำให้มีตู้จำหน่ายน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญจำนวนมาก โดยเฉพาะในเขตกรุงเทพมหานคร (กทม.) ในปี 2554 มีตู้จำหน่ายน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญมากกว่า 20,000 ตู้⁽¹⁾ มีข้อมูลของหลายหน่วยงานที่แสดงว่าน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน เช่น ผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ในปี พ.ศ. 2550 พบว่า ค่าความกระด้างทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 2 และ 18.29 ตามลำดับ ด้านจุลินทรีย์พบการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* ร้อยละ 5.43 และ 0.57 ตามลำดับ⁽²⁾ ในปี 2553 สำนักงานผดุงครรภ์ กทม. สุ่มตรวจตัวอย่างน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญจำนวน 618 ตัวอย่างทั้ง 50 เขตใน กทม. พบการปนเปื้อน Coliforms ในน้ำดื่มจำนวน 44 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.2⁽³⁾ และในปี 2554 วิทยานิพนธ์ของพิชยากร มาพะเนาว์⁽⁴⁾ รายงานว่า ผลวิเคราะห์น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในเขตคลองสามวา กทม. พบค่าความเป็นกรด-ด่างไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 24.14 ค่าความกระด้างทั้งหมดไม่ผ่านร้อยละ 3.45 ด้านจุลินทรีย์พบการปนเปื้อน Coliforms และ *E. coli* ร้อยละ 8.05 และ 1.15 ตามลำดับ การศึกษาคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญดังกล่าว อ้างอิงมาตรฐานของน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข⁽⁵⁾ และบางส่วนใช้เกณฑ์ของชุดทดสอบอย่างง่ายที่ใช้ตรวจสอบคุณภาพน้ำ เนื่องจากยังไม่มีมาตรฐานควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญเพื่อใช้บังคับตามกฎหมาย ผู้ให้บริการจึงมีโอกาที่จะละเลย หรือขาดความเอาใจใส่ในการให้บริการน้ำดื่มที่สะอาด ปลอดภัยแก่ผู้บริโภค ถึงแม้ได้มีประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลากฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2553) เรื่อง ให้น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญอัตโนมัติเป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก⁽⁶⁾ แต่ไม่ได้ครอบคลุมการควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ในปี 2555 สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้จัดตั้งคณะทำงานแก้ไขปัญหาคุณภาพความปลอดภัยของน้ำบริโภคที่ผลิตจากเครื่องจำหน่ายอัตโนมัติแบบครบวงจร และประสงค์จะกำหนดมาตรฐานเฉพาะเพื่อควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ในช่วงเวลาเดียวกันนี้ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำโครงการประเมินความปลอดภัยของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญโดยหน่วยงานทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค คณะผู้วิจัยรับผิดชอบดำเนินโครงการในเขตจังหวัดภาคกลาง รวม 5 จังหวัด ได้แก่ กรุงเทพมหานคร นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี วัตถุประสงค์ของโครงการเพื่อให้ได้ข้อมูลผลวิเคราะห์น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญสำหรับประเมินความเสี่ยงของผู้บริโภคจากอันตรายที่มีผลกระทบต่อสุขภาพ และใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนการกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญของประเทศ รวมทั้งใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับหน่วยงานที่รับผิดชอบการเฝ้าระวังความปลอดภัยของผู้บริโภคที่ดื่มน้ำจากตู้หยอดเหรียญ

วัสดุและวิธีการ

การประสานงานและวางแผน

คณะผู้วิจัยวางแผนการดำเนินงานตามวัตถุประสงค์ของโครงการในส่วนพื้นที่รับผิดชอบ 5 จังหวัด คือ กรุงเทพมหานคร (กทม.) นนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี โดยประสานงานกับหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง คือ สำนักงานเขตพื้นที่ กทม. สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี เพื่อชี้แจงโครงการและวางแผนการเก็บตัวอย่าง

ตัวอย่าง

1. การเก็บตัวอย่าง

ระหว่างเมษายน ถึงตุลาคม 2555 คณะผู้วิจัยและเจ้าหน้าที่ของสำนักงานเขต กทม. สำนักงานสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี ร่วมกันเก็บตัวอย่างน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญแบบ ไม่ทำความสะอาดหัวจ่ายน้ำและกดน้ำใส่ขวดเก็บตัวอย่างทันที เพื่อให้ได้ตัวอย่างลักษณะเดียวกับน้ำที่ผู้บริโภคมาใช้บริการ เก็บ 1 ตัวอย่าง/ตู้ ระหว่างเก็บตัวอย่างได้จัดบันทึกข้อมูลลงในแบบสำรวจข้อมูลด้วยการสังเกต และสอบถาม เจ้าของตู้หรือผู้ดูแล ข้อมูลที่เก็บ ได้แก่ สถานที่ตั้ง สภาพแวดล้อมโดยรอบ ลักษณะของตู้ น้ำ แหล่งน้ำดิบที่ผ่านเข้าตู้ ระบบกรองน้ำและฆ่าเชื้อ การบำรุงรักษา อายุการใช้งาน และฉลาก จากนั้นนำส่งตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รวมตัวอย่างทั้งสิ้น 430 ตัวอย่าง แบ่งเป็น

- กรุงเทพมหานคร สุ่มเก็บตัวอย่างกระจายในพื้นที่ 15 เขต เขตละ 12 ตัวอย่าง ได้แก่ เขตจตุจักร ดุสิต ประเวศ ปทุมวัน ยานนาวา จอมทอง บางกอกใหญ่ ดุสิต ชลบุรี บางนา บางเขน บางแค ดินแดง ลาดกระบัง มีนบุรี และบางกะปิ รวมทั้งสิ้น 180 ตัวอย่าง

- จังหวัดนนทบุรี ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา และสระบุรี สุ่มเก็บตัวอย่างในทุกอำเภอ ที่มีตู้จำหน่ายน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ รวมทั้งสิ้น 250 ตัวอย่าง

2. การตรวจวิเคราะห์

ด้านฟิสิกส์และเคมี

- ความเป็นกรด-ด่าง (pH) วัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) วิธีตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 4500-H⁺B

- ความกระด้างทั้งหมด (Total hardness) หมายถึงผลรวมของแคลเซียมและแมกนีเซียม คำนวณเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Titration ตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 2340 C

- ปริมาณสารทั้งหมด (Total solids) เป็นผลรวมของสารแขวนลอยและสารที่ละลายน้ำทั้งหมด ตรวจวิเคราะห์โดยการระเหยน้ำจนแห้งแล้วอบที่อุณหภูมิ 103-105°C จนน้ำหนักคงที่มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตร วิธีตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 2540 B

ด้านจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Heterotrophic plate count, HPC) หมายถึงปริมาณแบคทีเรียที่ดำรงชีวิตโดยใช้สารอินทรีย์เป็นอาหาร มีหน่วยเป็น CFU ต่อมิลลิลิตร ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี pour plate ตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 9215 A-B

- Coliforms ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี เอ็มพีเอ็น (MPN = Most Probable Number) โดยใช้ตาราง MPN ที่กำหนดหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 หลอด แต่ละหลอดใส่ตัวอย่างน้ำ 10 มิลลิลิตร รายงานผลเป็นค่า MPN ต่อ 100 มิลลิลิตร วิธีตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 9221 A-C

- *Escherichia coli* หรือ *E. coli* ตรวจหาด้วยวิธีต่อเนื่องจากการตรวจ Coliforms ตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾ ข้อ 9221 A-C, E, G และ 9225 C-D รายงานผลว่า พบหรือไม่พบต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

- จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค หรือเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Membrane filtration รายงานผลว่า พบหรือไม่พบ ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร ได้แก่

- *Staphylococcus aureus* หรือ *S. aureus* วิธีวิเคราะห์ตามเอกสารอ้างอิง APHA (2012)⁽⁷⁾

ข้อ 9213 B

- *Salmonella* spp. วิเคราะห์ตามเอกสาร ISO 19250 : 2010⁽⁸⁾
- *Clostridium perfringens* หรือ *C. perfringens* วิเคราะห์ตามเอกสารอ้างอิง EA (2010)⁽⁹⁾

เกณฑ์มาตรฐาน

ขณะดำเนินงานวิจัย ยังไม่มีมาตรฐานเฉพาะสำหรับน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ จึงอ้างอิงมาตรฐานน้ำบริโภคในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 61) พ.ศ. 2524 ซึ่งมีข้อกำหนดดังนี้

คุณสมบัติด้านฟิสิกส์และเคมี

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง ต้องอยู่ระหว่าง 6.5 ถึง 8.5
- ปริมาณสารทั้งหมด (Total solid) ไม่เกิน 500.0 มิลลิกรัม ต่อน้ำบริโภค 1 ลิตร
- ความกระด้างทั้งหมด โดยคำนวณเป็นแคลเซียมคาร์บอเนต ไม่เกิน 100.0 มิลลิกรัม ต่อน้ำบริโภค 1 ลิตร

คุณสมบัติด้านจุลินทรีย์

- ตรวจพบแบคทีเรียชนิด Coliforms น้อยกว่า 2.2 ต่อน้ำบริโภค 100 มิลลิลิตรโดยวิธีเอ็มพีเอ็น

(Most Probable Number)

- ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *E. coli*
- ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

(ประกาศฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) นี้ ไม่มีเกณฑ์กำหนดสำหรับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด)

การประเมินผล

คำนวณผลวิเคราะห์เป็นค่าร้อยละ (%) พร้อมทั้งสร้างกราฟวงกลมและกราฟแท่งแสดงผลวิเคราะห์ตัวอย่างน้ำใช้สถิติ Chi square⁽¹⁰⁾ ทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และประเมินค่าความเสี่ยงของผู้บริโภคต่อการได้รับอันตรายจากเชื้อโรคอาหารเป็นพิษ 3 ชนิดคือ *S. aureus*, *Salmonella* spp. และ *C. perfringens* ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป “Risk Ranger” เวอร์ชัน 2⁽¹¹⁾ ซึ่งใช้ Microsoft® Excel spreadsheet software ในการคำนวณ

Risk Ranger

เป็นโปรแกรมสำเร็จรูปพัฒนาโดย Ross and Sumner เผยแพร่ครั้งแรกในปี ค.ศ. 2002⁽¹²⁾ ปัจจุบันพัฒนาเป็นเวอร์ชัน 2 ใช้สำหรับประเมินความเสี่ยงในการเกิดโรคจากการบริโภคอาหารชนิดหนึ่ง โปรแกรมจะประมวลข้อมูลผลวิเคราะห์เชิงคุณภาพ แล้วแปลงผลเป็นค่าความเสี่ยงเชิงปริมาณ โดยใช้การคำนวณทางคณิตศาสตร์ที่สัมพันธ์กับข้อมูลพื้นฐานที่กรอกกับปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบกับความเสี่ยงตั้งแต่ขั้นตอนการผลิตจนถึงผู้บริโภค ปัจจัยดังกล่าวรวมถึงความรุนแรงของการเกิดโรค ความน่าจะเป็นของการเกิดโรคจากการบริโภค และโอกาสของการได้รับสัมผัสเชื้อในหนึ่งช่วงเวลา ผู้ใช้โปรแกรมต้องบันทึกข้อมูลลงในกล่องข้อมูล (List box) ใน Microsoft® Excel spreadsheet รวม 11 ข้อ ภายใต้ 3 หัวข้อหลักคือ Dose and severity, Probability of exposure to food และ Probability of infective dose โปรแกรมจะใช้ข้อมูลทั้งหมดในการคำนวณแล้วแสดงผลลัพธ์เป็นค่าความเสี่ยง ได้แก่

1. Risk estimate (ค่าประมาณของความเสี่ยง) ประกอบด้วย

- Probability of illness per day per consumer of interest (ความน่าจะเป็นหรือโอกาสของการเกิดโรคต่อวันต่อคน)
- Total predicted illness/annum in population of interest (จำนวนการเจ็บป่วยที่คาดว่าจะเกิดในกลุ่มประชากรเป้าหมายต่อปี)

- Comparative risk in population of interest (ความเสี่ยงเปรียบเทียบในกลุ่มประชากรเป้าหมาย) โปรแกรมใช้ค่า Comparative risk นี้ในการคำนวณค่า Risk ranking (ลำดับความเสี่ยง)

2. Risk ranking (ลำดับความเสี่ยง) เป็น log scale มีค่าอยู่ระหว่าง 0 – 100 เมื่อ 0 หมายถึง ไม่มีความเสี่ยง ขณะที่ 100 มีความเสี่ยงสูงสุด นั่นคือผู้บริโภคทุกคนในกลุ่มประชากรเป้าหมายเกิดอาการเจ็บป่วยทุกครั้งที่มีบริโภคอาหาร ลำดับความเสี่ยงที่ 0 หมายถึงความเสี่ยงของการเกิดโรคกับผู้บริโภค 1 คนใน 10 พันล้านคนในรอบ 100 ปี และเทียบเท่า Comparative risk ที่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.75×10^{-17} โปรแกรมจะคำนวณลำดับความเสี่ยงจากสมการ ดังนี้

$$\text{Risk ranking} = (100/17.56) \times (17.56 + \text{LOG}_{10} (\text{Comparative Risk}))$$

Risk ranking ที่สูงขึ้น หมายถึงผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมามากขึ้น และค่าลำดับความเสี่ยงที่สูงขึ้นทุก 6 ลำดับ หมายถึงความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมามากขึ้น 10 เท่า เช่น ลำดับที่เปลี่ยนจาก 36 เป็น 48 หมายความว่า ความเสี่ยงจะเพิ่มมากขึ้น 100 เท่า

การสนับสนุนการกำหนดมาตรฐาน

คณะผู้วิจัยเป็นผู้แทนของหน่วยงาน เข้าร่วมประชุมแบบบูรณาการตามโครงการแก้ไขปัญหาคูณภาพความปลอดภัยของน้ำบริโภคจากตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญ และการพิจารณากำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ ณ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ในเดือนมีนาคม พฤษภาคม และกรกฎาคม 2555 หลังจากนั้นได้สนับสนุนผลวิเคราะห์ของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญและข้อมูลจากแบบสำรวจรายละเอียดของตู้ น้ำดื่มในเขตภาคกลาง รวมทั้งผลจากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์เป็นข้อมูลผลวิเคราะห์ทั้งประเทศให้แก่ อย. เพื่อใช้ประกอบการกำหนดมาตรฐาน

ผล

ข้อมูลจากแบบสำรวจตู้น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ จำนวน 430 ชุด

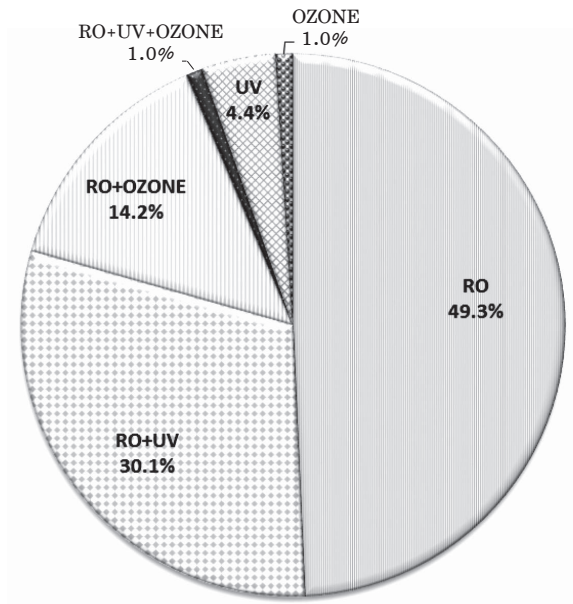
1. สถานที่ตั้ง ตู้น้ำดื่มร้อยละ 76.9 ตั้งอยู่บริเวณใต้ชายคาหน้าอาคารหอพัก/ร้านค้า และร้อยละ 10.2 ตั้งอยู่กลางแจ้งในบริเวณสถานบริการเชื้อเพลิง/วัด/ตลาด ในสถานที่เหล่านี้มีตู้ น้ำดื่ม ตั้งอยู่ริมถนนที่มีรถยนต์ผ่านร้อยละ 52.6 และแสงแดดส่องถึงร้อยละ 69.3

2. สภาพแวดล้อมโดยรอบ สภาพแวดล้อมรัศมีไม่เกินหนึ่งเมตร พบถึงสี่ขยะ/เศษขยะร้อยละ 10.9 มีน้ำขังและรอบตู้ร้อยละ 9.3

3. ลักษณะของตู้ น้ำดื่ม พบตะไคร่น้ำในบริเวณช่องจ่ายน้ำและที่หัวจ่าย 98 ตู้ คิดเป็นร้อยละ 22.8 ในจำนวนนี้ เป็นตู้ที่ถูกแสงแดดส่องถึง 65 ตู้ และไม่ถูกแสงแดดส่องถึง 33 ตู้ พบสายยางต่อจากหัวจ่ายน้ำร้อยละ 3.5 ไม่มีประตูปิดช่องจ่ายน้ำร้อยละ 8.6 มีประตูปิดช่องจ่ายน้ำร้อยละ 91.4 ในจำนวนที่มีประตูปิด พบว่าประตูชำรุด 11 ตู้

4. แหล่งน้ำดิบ น้ำดิบที่ผ่านเข้าตู้ จำแนกเป็นน้ำประปานครหลวงและภูมิภาคร้อยละ 81.4 ระบบประปาหมู่บ้าน/เทศบาลร้อยละ 14.6 ประปาน้ำบาดาลร้อยละ 2.1 และไม่ทราบแหล่งน้ำร้อยละ 1.9

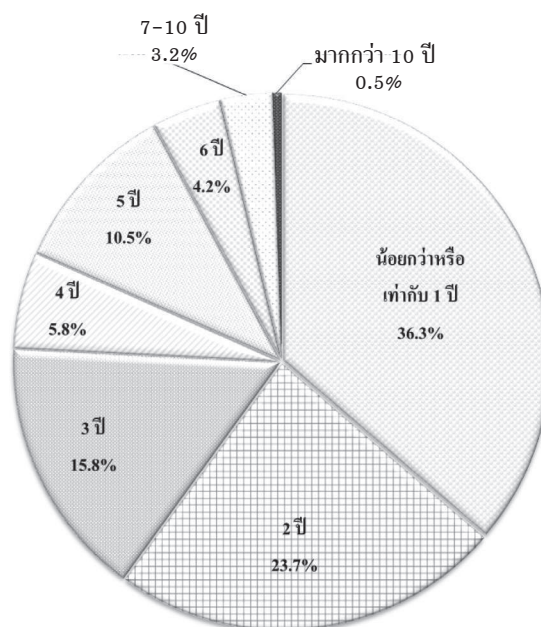
5. ระบบกรองน้ำและฆ่าเชื้อ ผู้วิจัยได้ข้อมูลจากผู้ดูแลและไม่สามารถเปิดตู้ น้ำดื่ม เพื่อตรวจสอบระบบเครื่องกรองน้ำภายในได้ทั้งหมด จากข้อมูลที่ได้ 296 ตู้ พบว่าตู้ น้ำดื่มเกือบทั้งหมดจำนวน 280 ตู้หรือร้อยละ 94.6 ใช้ระบบกรองน้ำแบบ Reverse osmosis (RO) จำแนกเป็น ระบบ RO อย่างเดียว ระบบ RO กับแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet, UV) ระบบ RO กับ Ozone และระบบ RO กับ UV และ Ozone คิดเป็นร้อยละ 49.3, 30.1, 14.2 และ 1.0 ตามลำดับ ส่วนตู้ น้ำดื่ม ที่เหลือใช้ UV หรือ Ozone อย่างเดียว (ร้อยละ 4.4 และ 1.0) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ระบบการกรองและฆ่าเชื้อในตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญ (RO = Reverse osmosis, UV = Ultraviolet)

6. การบำรุงรักษา มีการทำความสะอาดเครื่องกรองน้ำภายในตู้ร้อยละ 23.7 และเคยมีการเปลี่ยนไส้กรองร้อยละ 42.3

7. อายุการใช้งาน ผู้วิจัยไม่สามารถสอบถามอายุการใช้งานของตู้น้ำ จากผู้ดูแล หรือจากฉลากติดข้างตู้ได้ทั้งหมด ข้อมูลที่สำรวจได้จำนวน 190 ตู้ พบตู้น้ำ ร้อยละ 60.0 มีอายุการใช้งานไม่เกิน 2 ปี ตู้น้ำ ที่มีอายุการใช้งานน้อยกว่าหรือเท่ากับ 1 ปี มีจำนวนมากที่สุดคือ 69 ตู้ คิดเป็นร้อยละ 36.3 และยังพบตู้ที่มีอายุใช้งานถึง 10 ปี และมากกว่า 10 ปี (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 อายุการใช้งานของตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญ

8. จลาก ไม่มีจลากใดๆ ติดบนตู้ น้ำ 152 ตู้ (ร้อยละ 35.3) และพบตู้ น้ำ 3 ตู้ มีจลากครบถ้วน ตามประกาศคณะกรรมการว่าด้วยจลาก ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2553)⁽⁶⁾ จากจำนวนทั้งหมด 69 ตู้ที่ต้องติดจลากให้ถูกต้อง ภายหลังประกาศฯ มีผลใช้บังคับ (คิดเป็นร้อยละ 4.3) นอกจากนี้ พบจลากโฆษณา “น้ำแร่ธรรมชาติพลังแม่เหล็ก” “น้ำแร่พลังสนามแม่เหล็ก” และ “น้ำแร่พลังแม่เหล็ก” รวม 28 ตู้ คิดเป็นร้อยละ 6.5 ของตู้ น้ำ ทั้งหมด 430 ตู้

ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

จำนวนน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญทั้งสิ้น 430 ตัวอย่าง ไม่ผ่านมาตรฐาน 121 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 28.1 (ตารางที่ 1) จำแนกเป็น ไม่ผ่านมาตรฐานด้านเคมี 43 ตัวอย่างหรือร้อยละ 10.0 สาเหตุจากค่าความกระด้างเกินเกณฑ์ มาตรฐาน 28 ตัวอย่าง (ร้อยละ 6.5) ปริมาณสารทั้งหมดเกิน 7 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.6) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่ำกว่าเกณฑ์ 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 3.5) ทุกตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าน้อยกว่า 6.5 (อยู่ระหว่าง 5.8-6.4)

สำหรับผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ พบไม่ผ่านมาตรฐาน 93 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 21.6 สาเหตุที่ไม่ผ่านสูงสุด เนื่องจากพบเชื้อ Coliforms เกินมาตรฐาน 88 ตัวอย่าง รองลงมาคือพบ *E. coli* 16 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20.5 และ 3.7 ตามลำดับ ตรวจพบเชื้อโรคอาหารเป็นพิษรวม 8 ตัวอย่างหรือร้อยละ 1.9

ผลวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Heterotrophic plate count) พบตัวอย่างส่วนใหญ่ร้อยละ 45.1 มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 1,001-10,000 CFU/มิลลิลิตร และพบมากกว่า 1,000 CFU ต่อมิลลิลิตร ในตัวอย่างร้อยละ 71.8 (ภาพที่ 3)

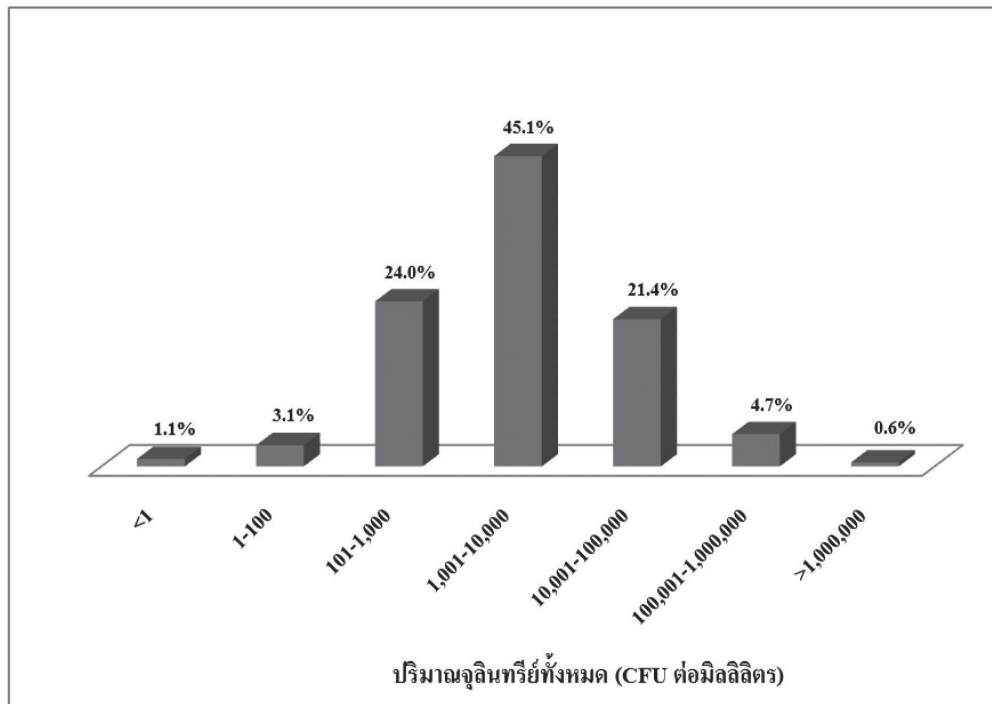
ผลวิเคราะห์จำแนกตามจังหวัด (ตารางที่ 1) พบว่า จังหวัดสระบุรีมีตัวอย่างไม่ผ่านมาตรฐานสูงสุด คือ ร้อยละ 43.9 รองลงมาคือจังหวัดพระนครศรีอยุธยา พบตัวอย่างไม่ผ่านมาตรฐานร้อยละ 41.3

ตารางที่ 1 ผลวิเคราะห์น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในเขตภาคกลางรวม 5 จังหวัด^a

จังหวัด	จำนวน ตัวอย่าง ทั้งหมด	จำนวน ตัวอย่างไม่ผ่าน มาตรฐาน ทั้งหมด (%)	จำนวนตัวอย่างที่ไม่ผ่านมาตรฐานแยกตามรายการวิเคราะห์									
			รวมไม่ผ่าน มาตรฐาน ด้านเคมี	ความ กระด้าง ทั้งหมด	ความ กรด-ด่าง	ปริมาณ สารทั้งหมด	รวมไม่ผ่าน มาตรฐาน ด้านจุลินทรีย์	Coliforms	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> spp.	<i>C.</i> <i>perfringens</i>
นนทบุรี	51	6 (11.8%)	0	0	0	0	6	6	1	0	0	0
ปทุมธานี	53	13 (24.5%)	3	3	0	1	10	9	1	0	1	1
พระนครศรีอยุธยา	80	33 (41.3%)	14	11	2	4	25	25	4	1	1	0
สระบุรี	66	29 (43.9%)	13	12	2	2	21	20	7	0	0	0
กรุงเทพฯ	180	40 (22.2%)	13	2	11	0	31	28	3	1	0	3
รวม	430	121	43	28	15	7	93	88	16	2	2	4
ร้อยละของจำนวน ตัวอย่างทั้งหมด (430 ตัวอย่าง)		28.1	10.0	6.5	3.5	1.6	21.6	20.5	3.7	0.5	0.5	0.9

^a ผลวิเคราะห์ Heterotrophic plate count (HPC) นำไปแสดงในภาพที่ 3

^b แต่ละตัวอย่างอาจมีผลวิเคราะห์ไม่ผ่านมาตรฐานมากกว่า 1 รายการ



ภาพที่ 3 ผลวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Heterotrophic plate count) ในน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ

ผลทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

1. ตู้ น้ำ ที่ตั้งอยู่ในที่แสงแดดส่องถึง ไม่มีความสัมพันธ์กับการพบตะไคร่น้ำในบริเวณช่องจ่ายน้ำและที่หัวจ่ายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $P = 0.4673$)
2. ค่าความกระด้างทั้งหมด ปริมาณสารทั้งหมดในน้ำ และผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ไม่มีความสัมพันธ์กับอายุการใช้งานของตู้หยอดเหรียญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $P = 0.6799$, 0.5829 และ 0.7753 ตามลำดับ) (ผู้วิจัยใช้ข้อมูลอายุของตู้ น้ำ ตั้งแต่ 2 ปีลงมา และมากกว่า 2 ปีในการทดสอบ เนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่สอกระดับนี้ใกล้เคียงกัน)
3. ผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านมาตรฐานไม่มีความสัมพันธ์กับตู้ น้ำ ที่ตั้งอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่ถูกสุขลักษณะ (มีเศษขยะและน้ำขังแฉะใกล้ตู้) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $P = 0.9377$)
4. ผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านมาตรฐานมีความสัมพันธ์กับตู้ น้ำ ที่มีประตูปิดและไม่มีประตูปิดช่องจ่ายน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$, $P = 0.0281$)

การประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษ

ค่าความเสี่ยงต่อการเกิดโรคอาหารเป็นพิษในกลุ่มผู้บริโภคในเขตภาคกลางรวม 5 จังหวัด ที่คำนวณจากข้อมูลที่บันทึกในโปรแกรม Risk Ranger (ตารางที่ 2) พบว่า ความน่าจะเป็นหรือโอกาสของการเกิดโรคต่อวันต่อคน เนื่องจากการดื่มน้ำจากตู้หยอดเหรียญที่ปนเปื้อนเชื้อ *S. aureus*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. เท่ากับ 7.50×10^{-9} , 1.50×10^{-8} และ 7.50×10^{-8} ตามลำดับ และคาดว่าจะเกิดการเจ็บป่วยในกลุ่มผู้บริโภคน้ำดื่มหยอดเหรียญ 1,690,000 คน ในเขตภาคกลาง 5 จังหวัด โดยมีสาเหตุจาก *S. aureus* มีจำนวน 14 ครั้งต่อปี ในขณะที่เกิดจาก *C. perfringens* 27 ครั้งต่อปี และเกิดจาก *Salmonella* spp. 133 ครั้งต่อปี

ค่าลำดับความเสี่ยง (Risk ranking) ของ *S. aureus* อยู่ที่ลำดับที่ 28 ต่ำกว่า *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. ซึ่งอยู่ลำดับที่ 29 และ 39 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 แสดงข้อมูลพื้นฐานที่บันทึกในโปรแกรม Risk Ranger และผลการประเมินความเสี่ยง

หัวข้อความเสี่ยง (Risk criteria)	ข้อมูลพื้นฐานที่บันทึกใน List box		
	<i>S. aureus</i>	<i>C. perfringens</i>	<i>Salmonella</i> spp.
Dose and severity			
1. Hazard severity	Minor hazard	Minor hazard	Mild hazard
2. Susceptibility	General-all population	General-all population	General-all population
Probability of exposure to food			
3. Frequency of consumption	Daily	Daily	Daily
4. Proportion consuming	Some (25%)	Some (25%)	Some (25%)
5. Size of consuming population ^a	1,690,000 คน	1,690,000 คน	1,690,000 คน
Probability of infective dose			
6. Probability of contamination ^b	0.01 (1%)	0.02 (2%)	0.01 (1%)
7. Effect of process	Usually (99%)	Usually (99%)	Usually (99%)
8. Possibility of recontamination ^c	15%	30%	15%
9. Post process control	Not controlled	Not controlled	Not controlled
10. Increase to infective dose ^d	2.0×10^8	2.0×10^8	2.0×10^7
11. Effect of preparation ^e	No effect	No effect	No effect
ผล			
Probability of illness per day per consumer of interest (ความน่าจะเป็นหรือโอกาสของการเกิดโรคต่อวันต่อคน)	7.50×10^{-9}	1.50×10^{-8}	7.50×10^{-8}
Total predicted illness/annum in population of interest (จำนวนการเจ็บป่วยที่คาดว่าจะเกิดในกลุ่มประชากรเป้าหมายต่อปี)	1.33×10^1 (= 14 ครั้ง)	2.67×10^1 (= 27 ครั้ง)	1.33×10^2 (= 133 ครั้ง)
Comparative risk in population of interest (ความเสี่ยงเปรียบเทียบกับในกลุ่มประชากรเป้าหมาย)	1.88×10^{-13}	3.75×10^{-13}	1.88×10^{-11}
Risk ranking (ลำดับความเสี่ยง)	28	29	39

^a คำนวณจาก 13.54% ของประชากรไทยที่บริโภคน้ำดื่มหยอดเหรียญ⁽²⁴⁾ จากจำนวนประชากรรวมทั้งสิ้น 12,475,637 คน ใน 5 จังหวัดที่ศึกษา⁽²⁵⁾

^b คำนวณจากการปนเปื้อนจุลินทรีย์ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (200 มิลลิลิตร)

^c ข้อมูลจาก อร์สา จวรกุล 2551⁽²⁾ ระบุ 85% ของผู้บริโภคล้างภาชนะใส่น้ำดื่มก่อนซื้อน้ำจากตู้หยอดเหรียญ ในที่นี้ โอกาสของการปนเปื้อนซ้ำคำนวณจาก $100 - 85 = 15\%$ และผลการศึกษานี้พบ *C. perfringens* ปนเปื้อนเป็นสองเท่า ดังนั้นโอกาสของการปนเปื้อนของ *C. perfringens* คำนวณจาก $15 \times 2 = 30\%$

^d คำนวณจากปริมาณที่ทำให้เกิดโรค⁽²⁰⁾ คือ *S. aureus* และ *C. perfringens* = 10^6 เซลล์/กรัมหรือมิลลิลิตร, *Salmonella* spp. = 10^5 เซลล์/กรัมหรือมิลลิลิตร คูณด้วยปริมาณหนึ่งหน่วยบริโภค (200 มิลลิลิตร)

^e ผู้บริโภคไม่ต้มหรือกรองน้ำก่อนดื่ม

การสนับสนุนการกำหนดมาตรฐาน

หลังการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญเสร็จสิ้นแล้ว ได้นำเสนอข้อมูลผลวิเคราะห์รวมทั้งข้อมูลจากแบบสำรวจให้ อย. เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาเกณฑ์มาตรฐานสำหรับควบคุมคุณภาพของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญในประเทศ

วิจารณ์

ข้อมูลจากแบบสำรวจตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญ

ตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญที่ตั้งบริเวณริมถนนและที่โล่งแจ้ง เพิ่มโอกาสให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมบริเวณโดยรอบรวมทั้งฝุ่นละอองปนเปื้อนในน้ำดื่มมากขึ้น ในบางจุดถูกแสงแดดส่องถึงและพบตะไคร่น้ำที่ห้วยจ่ายตะไคร่น้ำเป็นสิ่งมีชีวิตประเภทเดียวกับสาหร่าย บางชนิดเจริญได้ด้วยการสังเคราะห์แสงโดยใช้สารคลอโรฟิลล์ภายในเซลล์แพร่พันธุ์ด้วยสปอร์และกระจายอยู่ในอากาศ เมื่อสปอร์ไปตกอยู่ในแหล่งที่มีแสงแดดส่องถึงก็จะเจริญเติบโตได้ ถึงแม้ไม่ถูกแสงแดดจัดโดยตรงหรือถูกแสงแดดเล็กน้อย ตะไคร่น้ำก็เจริญได้เช่นกัน^(2, 13) บริเวณที่ปนเปื้อนตะไคร่น้ำมักเห็นเป็นสีเขียว ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเขียว จัดเป็นสิ่งปนเปื้อนที่น่ารังเกียจถ้าพบในน้ำบริโภค แม้ว่าผลทดสอบทางสถิติ แสดงว่าตู้น้ำ ที่ตั้งอยู่ในที่แสงแดดส่องถึงไม่มีความสัมพันธ์กับการพบตะไคร่น้ำในช่องจ่ายน้ำและที่ห้วยจ่าย จากข้อมูลแบบสำรวจ ตู้น้ำ ที่ถูกแสงแดดส่องถึงและพบตะไคร่น้ำในช่องจ่ายน้ำและที่ห้วยจ่าย มีจำนวนเป็นสองเท่าของตู้ที่ไม่ถูกแสงแดดส่องถึง (65 ตู้ และ 33 ตู้ ตามลำดับ) นอกจากนี้ ผลสำรวจสภาพแวดล้อมรอบตู้น้ำ รัศมีไม่เกินหนึ่งเมตร พบถังใส่ขยะ/เศษขยะร้อยละ 10.9 และมีน้ำขังและรอบตู้ร้อยละ 9.3 ซึ่งไม่ถูกสุขลักษณะและไม่ถูกต้องตามหลักเกณฑ์เกี่ยวกับสถานที่ตั้งของตู้น้ำ ตามคำแนะนำของคณะกรรมการสาธารณสุข เรื่อง แนวทางการควบคุมการประกอบกิจการตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญ พ.ศ. 2553⁽¹⁴⁾

ผลสำรวจการแสดงฉลากบนตู้น้ำดื่ม พบเพียง 3 ตู้ (ร้อยละ 4.3) มีฉลากครบถ้วนตามประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2553)⁽⁶⁾ จากจำนวนทั้งหมด 69 ตู้ ที่ต้องติดฉลากให้ถูกต้องภายหลังประกาศฯ มีผลใช้บังคับตั้งแต่เดือนเมษายน ปี 2554 ซึ่งกำหนดไว้ 3 หัวข้อ คือ 1. ข้อเสนอแนะในการใช้ 2. ระบุวัน เดือน ปี ที่เปลี่ยนไส้กรอง 3. คำเตือน “ระวังอันตราย” จากผลสำรวจข้อมูลในงานวิจัยนี้ดำเนินการในปี 2555 แสดงว่าภายหลังประกาศมีผลใช้บังคับ ผู้ประกอบการผลิตและจำหน่ายตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญจำนวนมาก ยังไม่ดำเนินการตามข้อบังคับซึ่งกำหนดให้ตู้น้ำดื่มหยอดเหรียญอัตโนมัติเป็นสินค้าที่ควบคุมฉลาก นอกจากนี้ พบฉลากโฆษณา “น้ำแร่ธรรมชาติพลังแม่เหล็ก” “น้ำแร่พลังสนามแม่เหล็ก” และ “น้ำแร่พลังแม่เหล็ก” ติดบนตู้น้ำ รวม 28 ตู้ ซึ่งหากไม่เป็นจริงจะเป็นการโฆษณาที่ไม่ถูกต้องตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522⁽¹⁵⁾ มาตรา 27(4) ซึ่งระบุอาหารที่มีลักษณะเป็นอาหารปลอมประเภทอาหารที่มีฉลากเพื่อลวงหรือพยายามลวงผู้ซื้อให้เข้าใจผิดในเรื่องคุณภาพ ปริมาณ ประโยชน์ หรือลักษณะพิเศษอย่างอื่น

ผลวิเคราะห์คุณภาพน้ำ

ทุกตัวอย่างที่ไม่ผ่านเกณฑ์เพราะค่าความเป็นกรด-ด่าง พบว่ามีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 6.5 และเป็นน้ำจากตู้ที่ใช้ระบบกรองน้ำชนิด Reverse osmosis (RO) มีรายงานว่า น้ำที่ผ่านระบบ RO มีสัดส่วนของคาร์บอนไดออกไซด์สูงขึ้น ทำให้ค่า pH ของน้ำลดลงหรือมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น สามารถปรับสภาพน้ำได้โดยให้น้ำผ่านไส้กรองถ่านกัมมันต์ซึ่งจะดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ค่า pH สูงขึ้นได้⁽¹⁶⁾ ผลวิเคราะห์ด้านเคมี มีค่าความกระด้างทั้งหมดไม่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 6.5 น้ำที่มีความกระด้างไม่มีผลเชิงลบต่อสุขภาพ และไม่ทำให้เกิดตะกอนอุดตันอวัยวะต่าง ๆ ที่อุณหภูมิปกติของร่างกายมนุษย์ จึงไม่มีการกำหนดค่าสูงสุดของความกระด้างในเกณฑ์แนะนำองค์การอนามัยโลก แต่เป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของเครื่องกรองน้ำและบ่งบอกระยะเวลาการเปลี่ยนไส้กรอง⁽¹⁷⁾ ปริมาณสาร

ทั้งหมดที่ไม่ผ่านมาตรฐานร้อยละ 1.6 เป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของเครื่องกรองน้ำเช่นเดียวกัน จากผลวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Heterotrophic plate count, HPC) ในน้ำดื่มฯ 430 ตัวอย่าง พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ร้อยละ 71.8 มีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า 1,000 CFU ต่อมิลลิตร ถึงแม้มาตรฐานน้ำดื่มในประเทศไทยไม่กำหนดเกณฑ์ของ HPC แต่หากเทียบกับเกณฑ์มาตรฐานน้ำดื่มจากตู้อัตโนมัติของสหภาพยุโรป (EU) ซึ่งกำหนดไม่เกิน 1,000 CFU ต่อมิลลิตร⁽¹⁸⁾ จะมีตัวอย่างไม่ผ่านตามเกณฑ์ของ EU ถึงร้อยละ 71.8 มีการใช้ค่า HPC บ่งบอกประสิทธิภาพในระบบการบำบัดน้ำ (Water treatment) เพื่อผลิตน้ำบริโภค เพราะ HPC แสดงปริมาณจุลินทรีย์ที่อาศัยสารอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon) ในน้ำเป็นอาหารหลักเพื่อการเจริญเติบโต ถ้าพบปริมาณ HPC สูง แสดงว่าในน้ำมีสารอินทรีย์คาร์บอนสูง การเพิ่มปริมาณของ HPC จึงอาจทำให้น้ำมีกลิ่นและรสเปลี่ยนแปลง จุลินทรีย์บางประเภททำให้เกิดคราบเมือกสีเรียกว่า ไบโอฟิล์ม (Biofilm) บนพื้นผิวที่สัมผัสน้ำ⁽¹⁹⁾ ในกรณีนี้ จึงอาจเกิดไบโอฟิล์มบนพื้นวางภาชนะในช่องจ่ายน้ำ ที่หัวจ่ายน้ำหรือตามท่อน้ำหรือในระบบเครื่องกรองของตู้ น้ำที่ขาดการบำรุงรักษา นอกจากนี้ การตรวจพบ Coliforms และ *E. coli* บ่งบอกคุณภาพน้ำว่าไม่สะอาด และสุ่มลักษณะการผลิตน้ำบริโภคไม่ดีพอ การตรวจพบ *E. coli* ยังแสดงว่าอาจมีการปนเปื้อนสิ่งปนเปื้อนรวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคด้วย น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญที่มีคุณภาพไม่ผ่านมาตรฐานด้านจุลินทรีย์ อาจมีสาเหตุจากการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ บริเวณช่องจ่ายน้ำ/หัวจ่าย และสิ่งแวดล้อมรอบตู้ หรือมีจุลินทรีย์สะสมในเครื่องกรองน้ำ

ผลทดสอบทางสถิติพบว่า ค่าความกระด้างทั้งหมด ปริมาณสารทั้งหมดในน้ำ และคุณภาพด้านจุลินทรีย์ไม่มีความสัมพันธ์กับอายุการใช้งานของตู้ น้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$, $P = 0.6799$) อาจเป็นเพราะตู้ น้ำที่มีการบำรุงรักษาระบบการกรองและฆ่าเชื้ออย่างมีประสิทธิภาพและสม่ำเสมอจะช่วยให้มีคุณภาพดี ถึงแม้จะมีอายุการใช้งานมากขึ้น และพบว่าผลวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ที่ไม่ผ่านมาตรฐานมีความสัมพันธ์กับตู้ น้ำ ที่มีและไม่มีประตูปิดบริเวณช่องจ่ายน้ำ อาจกล่าวได้ว่า น้ำจากตู้ น้ำดื่มตู้หยอดเหรียญที่ไม่มีประตูปิดบริเวณช่องจ่ายน้ำมีโอกาสปนเปื้อนจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมรอบตู้ น้ำ สูงกว่าน้ำจากตู้ ที่มีประตูปิดช่องจ่ายน้ำ และประตูปิดช่องจ่ายน้ำช่วยป้องกันการปนเปื้อนจุลินทรีย์จากสิ่งแวดล้อมรอบตู้ น้ำ ได้

การประเมินค่าความเสี่ยง

ลำดับความเสี่ยง (Risk ranking, RR) ของการเกิดโรคอาหารเป็นพิษเนื่องจาก *S. aureus*, *C. perfringens* และ *Salmonella* spp. อยู่ที่ลำดับ 28, 29 และ 39 ตามลำดับ ค่า RR ที่สูงขึ้นทุก 6 ลำดับ หมายถึงผู้บริโภคมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมามากขึ้น 10 เท่า สรุปได้ว่า ค่าความเสี่ยงที่จะเกิดโรคเนื่องจาก *S. aureus* และ *C. perfringens* ใกล้เคียงกัน แต่ความเสี่ยงจาก *Salmonella* spp. จะมากกว่าทั้งสองเชื้อเกือบ 100 เท่า อาจเป็นเพราะ *Salmonella* spp. เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทำให้ผู้ป่วยมีอาการรุนแรงกว่า และปริมาณที่ทำให้เกิดโรคในคนสุขภาพปกติต่ำกว่า *S. aureus* และ *C. perfringens* ค่าความเสี่ยงของ *C. perfringens* อยู่ที่ลำดับ 29 ซึ่งมากกว่า *S. aureus* เพียงลำดับเดียว แต่จำนวนครั้งที่คาดว่าจะเกิดการเจ็บป่วยจากการบริโภคน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญที่ปนเปื้อน *C. perfringens* ต่อปีมากกว่า *S. aureus* เกือบเท่าตัว อาจเป็นผลเนื่องจากข้อมูลการปนเปื้อนของ *C. perfringens* จากการศึกษาครั้งนี้สูงกว่า *S. aureus*

รายงานวิจัยของ Ross และ Sumner ในปี 2002⁽¹²⁾ ระบุว่า RR เป็นค่าความเสี่ยงสัมพัทธ์ (Relative risk) ที่นำมาเปรียบเทียบกันได้ และถ้าได้ค่า RR หลายค่าก็สามารถนำมาจัดเรียงลำดับเป็นชุดข้อมูล (Risk profile) ของลำดับความเสี่ยงได้ Ross และ Sumner ได้จัดทำ Risk profile ของค่า RR ของการเกิดโรคเนื่องจากจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารทะเลในประเทศออสเตรเลีย ที่เกิดกับกลุ่มผู้บริโภคหลายกลุ่ม เช่น จัดทำลำดับความเสี่ยงจากเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในอาหารทะเลรมควันแช่เย็น ที่ทำให้เกิดโรคในกลุ่มผู้บริโภค 3 กลุ่มคือ กลุ่มคนทั่วไป กลุ่มเด็ก/คนชรา และกลุ่มผู้ป่วยโรคเรื้อรัง (เอ็ดส์ มะเร็ง ฯลฯ) ได้ค่า RR ที่ 39, 45 และ 47 ตามลำดับ^(20, 21) และ

หน่วยงานด้านอุตสาหกรรมอาหารทะเลของออสเตรเลียได้นำค่าลำดับความเสี่ยงนี้ไปใช้ประโยชน์ในการจัดลำดับความสำคัญในการจัดการความเสี่ยง (Risk management) และจัดระดับความเข้มงวดในการเฝ้าระวังโรค ดังนั้น หากนำรูปแบบนี้มาประยุกต์ใช้ในประเทศไทย ก็จะมีประโยชน์เช่นเดียวกัน

การสนับสนุนการกำหนดมาตรฐาน

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556) เรื่อง น้ำบริโภคจากตู้จำหน่ายน้ำดื่มอัตโนมัติ⁽²²⁾ มีผลใช้บังคับตั้งแต่วันที่ 16 ตุลาคม พ.ศ. 2557 อย่างไรก็ตาม ประกาศฉบับนี้ใช้ควบคุมเฉพาะคุณภาพของน้ำดื่มที่ออกจากตู้ ซึ่งถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทหนึ่ง จึงต้องมีการบูรณาการระหว่างหลายหน่วยงานเพื่อควบคุมการประกอบธุรกิจตู้จำหน่ายน้ำดื่มอัตโนมัติแบบครบวงจร และจัดการปัญหาความปลอดภัยของน้ำดื่ม⁽²³⁾ นับตั้งแต่การขออนุญาตประกอบกิจการตู้จำหน่ายน้ำ การกำหนดคุณภาพตู้จำหน่ายน้ำ และอุปกรณ์ที่เป็นบทบาทหน้าที่ของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (สมอ.) การควบคุมฉลากและรับเรื่องร้องเรียนจากผู้บริโภคเป็นความรับผิดชอบของสำนักงานคุ้มครองผู้บริโภค (สคบ.) การกำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพน้ำดื่มโดย อย. และการเฝ้าระวังคุณภาพน้ำดื่ม และตรวจติดตามโดยหน่วยงานของกระทรวงสาธารณสุข หน่วยงานท้องถิ่น หรืออื่นๆ หน่วยงานทุกแห่งที่มีหน้าที่ดังกล่าวนี้ ควรมีการประชาสัมพันธ์เรื่องกฎระเบียบ/ข้อบังคับ รวมทั้งคำแนะนำต่างๆ ในส่วนที่เกี่ยวข้อง ให้ทั้งผู้ประกอบการและผู้บริโภคได้ทราบโดยทั่วถึง และเข้มงวดกับบทลงโทษตามกฎหมาย

สรุป

การดำเนินโครงการประเมินความเสี่ยงของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญใน 5 จังหวัด ในเขตพื้นที่ภาคกลางทำให้ได้ข้อมูลผลวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและจุลินทรีย์ของน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ พร้อมด้วยค่าความเสี่ยงของผู้บริโภคที่ดื่มน้ำ และข้อมูลสำรวจรายละเอียดของตู้จำหน่ายน้ำ ซึ่งได้สนับสนุนข้อมูลดังกล่าวนี้ร่วมกับผลของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์อีก 14 แห่ง เป็นข้อมูลรวมทั้งประเทศให้กับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เพื่อประกอบการพิจารณา กำหนดมาตรฐานควบคุมคุณภาพน้ำดื่มตู้หยอดเหรียญ จนกระทั่งในปี 2556 ได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556) เรื่อง น้ำบริโภคจากตู้จำหน่ายน้ำดื่มอัตโนมัติ มีผลบังคับใช้ตั้งแต่วันที่ 16 ตุลาคม พ.ศ. 2557 ประกาศฉบับนี้ใช้ควบคุมเฉพาะคุณภาพของน้ำที่ออกจากตู้ ซึ่งถือว่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารประเภทหนึ่ง จึงต้องมีการบูรณาการระหว่างหลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้องทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อควบคุมตู้จำหน่ายน้ำดื่มอัตโนมัติแบบครบวงจร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางสาวทิพวรรณ นิงน้อย ที่กรุณาสับสนุนและให้คำปรึกษา ขอขอบคุณนางณัฐชลัยย์ บุญไทย จากศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 5 (สมุทรสงคราม) นายบัณฑิต พานิชกุล และพนักงานกระทรวงสาธารณสุข ในสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ที่ได้ช่วยเหลือในการเก็บและตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง จนคณะผู้วิจัยสามารถดำเนินโครงการจนลุล่วงและสำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. กองบรรณาธิการ น้ำดื่มจากตู้จำหน่ายน้ำหยอดเหรียญกับเรื่องที่ต้องระวัง. จลาตซ้อ [ออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 7 ก.ย. 2557]; 117 : [3 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://chaladsue.com/index.php/เรื่องเด่นในเล่ม/743-117-drink-water.html>
2. อรสา จวงกุล. การวิจัยสถานการณ์ความปลอดภัยของการบริโภคน้ำที่ผลิตจากเครื่องผลิตน้ำดื่มหยอดเหรียญ. นนทบุรี: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข; 2551.
3. ตู้จำหน่ายน้ำดื่มปนเปื้อนแบคทีเรีย กทม. สุ่มตรวจด้วยคุณภาพ 7%. ไทยโพสต์ [ออนไลน์]. มกราคม 2554; [สืบค้น 7 ก.ย. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.thaipost.net/Node/32675>

4. พิษณุกร มาพะเนาว์. การประเมินคุณภาพและสภาพแวดล้อมของตู้จำหน่ายเครื่องดื่มหยอดเหรียญในเขตคลองสามวา กรุงเทพมหานคร [วิทยานิพนธ์สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต]. คณะสาธารณสุขศาสตร์. ชลบุรี : มหาวิทยาลัยบูรพา; 2554.
5. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 61 (พ.ศ. 2524) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 136 ง (วันที่ 16 ตุลาคม 2556)
6. ประกาศคณะกรรมการว่าด้วยฉลาก ฉบับที่ 31 (พ.ศ. 2553) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 127 ตอนพิเศษ 140 ง (วันที่ 8 ธันวาคม 2553)
7. Rice EW, Baird RB, Clesceri LS, Eaton AD. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA); 2012.
8. ISO 19250, Water quality -- detection of *Salmonella* spp. Geneva: International Organization Standard; 2010.
9. Environment Agency (EA). The microbiology of drinking water (2010) - Part 6 - methods for the isolation and enumeration of sulphite-reducing clostridia and *Clostridium perfringens* by membrane filtration. Bristol: Environmental Agency; 2010.
10. สรชัย พิศาลบุตร. หลักสถิติ. กรุงเทพฯ : วิทยพัฒน์; 2554. หน้า 298-311.
11. Food Safety Centre (FSC). Risk Ranger [ออนไลน์]. [สืบค้น 11 ส.ค. 2556]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: <http://www.foodsafetycentre.com.au/riskranger.php>
12. Ross T, Sumner, J. A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. Int J Food Microbiol 2002; 77(1-2): 39-53.
13. การประปานครหลวง. ตะไคร่น้ำ. [ออนไลน์]. 2551; [สืบค้น 11 ส.ค. 2556]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: http://www.mwa.co.th/ewtadmin/ewt/mwa_internet/ewt_w3c/index_answer.php?wcad=4&wtid=1608&t=&filename=eigzpnij
14. ศูนย์บริหารกฎหมายสาธารณสุข กรมอนามัย. คำแนะนำของคณะกรรมการสาธารณสุข เรื่องแนวทางการควบคุมการประกอบกิจการตู้จำหน่ายเครื่องดื่มหยอดเหรียญ พ.ศ. 2553. [ออนไลน์]. 2553; [สืบค้น 11 ส.ค. 2556]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: <http://laws.anamai.moph.go.th/download/laws/suggest-2-53.pdf>
15. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวง และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุงปี 2556). นนทบุรี : สำนักอาหาร กระทรวงสาธารณสุข; 2556. หน้า 12-13.
16. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. ทำไมน้ำที่ผ่านการกรองด้วยระบบ RO จึงมีความเป็นกรดมากขึ้น. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 7 ก.ย. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: <http://www.tistr.or.th/ed/?p=486>
17. วุฒิพล เล้าอรุณ. ความกระด้างของน้ำ (Water hardness) [ออนไลน์]. [สืบค้น 7 ก.ย. 2557]; [15 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: http://www.mwa.co.th/ewt_dl_link.php?nid=506
18. Barrell RA, Hunter PR, Nichols G. Microbiological standards for water and their relationship to health risk. Commun Dis Public Health 2000; 3: 8-13.
19. World Health Organization. Heterotrophic plate count measurement in drinking water safety management: report of an expert meeting. 2002 Apr. 24-25; Geneva: WHO; 2002.
20. Sumner J, Ross T, Ababouch L. Application of risk assessment in the fish industry (FAO fisheries technical paper 442). Rome: Food and Agriculture Organization; 2004.
21. Sumner J, Ross T. A semi-quantitative seafood safety risk assessment. Int J Food Microbiol 2002; 77(1-2): 55-9.
22. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 362 (พ.ศ. 2556) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 136 ง (วันที่ 16 ตุลาคม 2556)
23. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. คู่มือการตรวจสอบและบำรุงรักษาตู้จำหน่ายเครื่องดื่มอัตโนมัติ. นนทบุรี : สำนักอาหาร กระทรวงสาธารณสุข; 2556. หน้า 26-28.
24. กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. สถานการณ์คุณภาพน้ำบริโภคในประเทศไทย ปี 2551-2556 [ออนไลน์]. [สืบค้น 23 ส.ค. 2557]; [10 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: http://foodsafety.anamai.moph.go.th/ewt_dl_link.php?nid=349&filename=index
25. ศูนย์วิจัยกสิกรรมไทยเผยผลสำรวจกรุงเทพฯ ศูนย์รวมด้านเศรษฐกิจของไทยและอาเซียน. กรุงเทพธุรกิจออนไลน์ [ออนไลน์]. 2556; [สืบค้น 23 ส.ค. 2557]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้จาก URL: <http://www.bangkokbiznews.com/home/detail/business/business/20130226/492092>

Risk Assessment of Drinking Water From Vending Machines in the Central Area and Support of Establishment of the Quality Standard

Ladapan Saengklai Piyamas Jamsri Kanya Puksun Karuna Teerasamit and Kannika Jittiyossara

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

ABSTRACT The drinking water from vending machines greatly increased in the urban community, in particular, in 2011 Bangkok had more than 20,000 machines. During 2008–2012, data of many agencies showed that the quality of drinking water from vending machines failed to meet the standard based on the regulation of drinking water in sealed containers. As a result, consumers are vulnerable to hazards from the vended drinking water. In 2012, the Food and Drug Administration (FDA) intended to establish a certain quality standard of drinking water from vending machine. Consequently, a risk assessment of vended drinking water in five provinces in the central region of Thailand including Bangkok, Nonthaburi, Pathum Thani, Phra Nakorn Sri Ayutthaya and Saraburi was carried out during January to October 2012. The objectives were to obtain analytical data of vended water quality used for assessing the risk of foodborne illness and to support establishment of the national quality standard. Survey results of the water vending machines revealed that 76.9% of the machines were located in front of buildings and 69.3% were exposed to sunlight. Unhygienic surroundings of the water vending machines were found due to trash buckets/garbage and dirty water around the machine base at 10.9% and 9.3%, respectively. It was found that 60.0% of the vending machines were used not over than two years and only 3 (4.3%) from 69 legally enforced machines showed complete labelling conforming to the Commission on Labels No. 31 (B.E. 2553). Most water filtration systems inside the machines presenting 94.6% were reverse osmosis (RO) type. The analytical results showed that 121 (28.1%) of total 430 water samples from vending machines failed to meet the standard. For chemical results, 43 (10%) samples failed due to total hardness, pH and total solids presenting 6.5%, 3.5% and 1.6%, respectively. For microbiological data, 93 (21.6%) samples failed mainly due to Coliforms at 20.5% followed by *E. coli* at 3.7%. In addition, food poisoning bacteria were found in 8 (1.9%) samples and the heterotrophic plate count (HPC) greater than 1,000 CFU/ml was found at 71.8%. The Chi square test results showed that water vending machines upon sunlight exposure were not

significantly related to the algae growth in dispensing chambers ($P > 0.05$, $P = 0.4673$), the analytical results of total hardness, total solids and microbiological data were not significantly related to working time of the water vending machines ($P > 0.05$, $P = 0.6799$, 0.5829 and 0.7753) whereas the poor quality microbiological results were significantly related to water vending machines with and without dispensing-chamber doors ($P < 0.05$, $P = 0.0281$). The risk of foodborne illness was calculated by the "Risk Ranger" program and the results indicated that the probability of illness per person per day among consumers in 5 provinces due to vended drinking water contaminated with *S. aureus*, *C. perfringens* and *Salmonella* spp. were 7.50×10^{-9} , 1.50×10^{-8} and 7.50×10^{-8} , respectively. The expectation of illness incidents among 1,690,000 consumers in five provinces in the central area because of those three food poisoning bacteria were 14, 27 and 133 times per year with the risk ranking of *S. aureus*, *C. perfringens* and *Salmonella* spp. at 28, 29 and 39, respectively. The data and survey results were subsequently proposed to the FDA and in 2013, a notification of the Ministry of Public Health (No. 362) B.E. 2556 focusing on quality control of the drinking water from automatic machine was launched and was initially effective on 16 October, 2014.

Key words: water vending machine, risk assessment, quality standard

การวิเคราะห์ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม ที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม

ศศิธร หอมดำรงวงศ์ จตุรงค์ สีนแก้ว และอุมา บริบูรณ์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม ทดสอบโดยใช้สารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 4 โดยปริมาตร ต้มให้เดือด 2 ชั่วโมง วัดปริมาณตะกั่วและแคดเมียมโดยใช้เครื่อง Flame-AAS วัดปริมาณอะลูมิเนียมด้วย GF-AAS จากการทดสอบความถูกต้องของวิธีพบว่าความเป็นเส้นตรงของช่วงการวัดระหว่างค่าการดูดกลืน (absorbance) กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม ในช่วงความเข้มข้น 0-3.00 0-0.8 และ 0-0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.9999 0.9993 และ 0.9995 ตามลำดับ ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.05, 0.001 และ 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.1, 0.01 และ 0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยการเติมสารละลายมาตรฐานตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมลงในสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 3 ระดับ พบว่า % recovery ของตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมอยู่ในช่วง 92-99, 101-103 และ 98-108 ตามลำดับ และค่า % RSD ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม อยู่ในช่วง 5.5-7.5, 2.3-3.3 และ 2.8-5.9 ตามลำดับ จากการสำรวจปริมาณตะกั่ว แคดเมียม อะลูมิเนียมในภาชนะหุงต้มราคาถูก ที่วางขายในตลาดกรุงเทพฯ และปริมณฑล จำนวน 32 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีวิเคราะห์นี้ ตรวจพบตะกั่ว ร้อยละ 56 ปริมาณที่พบน้อยกว่า 0.1-3.35 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคดเมียมพบร้อยละ 16 ปริมาณที่พบน้อยกว่า 0.01-0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีตัวอย่างใดเกินค่ามาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 92 (2528) พบว่า ภาชนะที่ทำด้วยอะลูมิเนียม มีตะกั่วละลายออกมามากกว่าวัสดุอื่นทั้งปริมาณและจำนวนตัวอย่าง และตรวจพบว่าภาชนะหุงต้มทุกตัวอย่างมีอะลูมิเนียมละลายออกมาโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 232 มิลลิกรัมต่อลิตร ในปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดของอะลูมิเนียมในภาชนะหุงต้ม แต่อะลูมิเนียมเป็นโลหะที่อันตรายเพราะอาจก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบประสาทได้ เนื่องจากอะลูมิเนียมสามารถสะสมที่สมองกระดูกและตับ JECFA (1989) ได้กำหนดค่าสูงสุดที่สามารถรับได้ต่อสัปดาห์ (PTWI) ไว้ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว ดังนั้นหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรกำหนดค่ามาตรฐานของอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มด้วย เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคให้ปลอดภัย และผู้บริโภคควรดูแลตนเองให้ปลอดภัยโดยไม่เก็บอาหารที่มีสภาพเป็นกรดในภาชนะหุงต้มที่เป็นโลหะ

บทนำ

ภาชนะหุงต้ม มีความหมายตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ว่า ภาชนะซึ่งผลิตขึ้นให้ทนต่อความร้อนที่ใช้ในการประกอบอาหาร⁽¹⁾ วัสดุที่นิยมนำมาใช้ผลิตเป็นภาชนะหุงต้มส่วนใหญ่ทำมาจากโลหะ เพราะโลหะมีความสามารถในการนำความร้อนได้ดี โลหะที่นำมาใช้ผลิตมีหลายชนิดเช่น เหล็ก เหล็กกล้าไร้สนิม (สแตนเลส) และอะลูมิเนียม เป็นต้น ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันเช่น เหล็กนำความร้อนได้ดีแต่เป็นสนิมง่าย อะลูมิเนียมนำความร้อนได้ดี ราคาถูกแต่ไม่ทนกับอาหารประเภทกรด สแตนเลส สวย ราคาแพง แต่นำความร้อนได้ไม่ดีเท่าวัสดุอื่น เป็นต้น

ภาชนะหุงต้มที่ทำด้วยโลหะต้องมีการควบคุมคุณภาพของวัสดุที่ใช้ในการผลิตเพื่อป้องกันโลหะอื่นที่เป็นอันตรายเช่น ตะกั่ว แคดเมียม ละลายลงสู่อาหารได้ ดังรายงานการสำรวจของกรมควบคุมโรคร่วมกับโรงพยาบาลอุ้มผาง จังหวัดตากพบว่าเด็กร้อยละ 60 ที่อาศัยในพื้นที่พักพิงชั่วคราว ชายแดนไทย-พม่า มีตะกั่วในเลือดสูง และสรุปสาเหตุหลัก การได้รับตะกั่วมาจากภาชนะที่ใช้ประกอบอาหารประจำวัน เนื่องจากมีข้อมูลการตรวจพบตะกั่วสูงถึง 800 ส่วนต่อล้านส่วน ภาชนะที่ใช้ประกอบอาหารมีลักษณะเป็นโลหะผสม ราคาถูก นำเข้ามาจากประเทศเพื่อนบ้าน⁽²⁾ ปัจจุบันภาชนะหุงต้มราคาถูกมีวางจำหน่ายทั่วไปไม่ใช่เฉพาะพื้นที่แถบชายแดนและเป็นที่ยอมรับเพราะปัจจัยด้านราคาถูก และยังไม่มีข้อมูลของโลหะอันตรายที่อาจละลายออกมาปนเปื้อนกับอาหารได้

จากการสำรวจภาชนะหุงต้มราคาถูกส่วนใหญ่ผลิตมาจากอะลูมิเนียมซึ่งอาจมีโลหะอื่นผสมอยู่ด้วย มีการศึกษาการละลายออกมาของอะลูมิเนียมจากภาชนะหุงต้มที่ใช้ในการปรุงอาหาร พบว่าอะลูมิเนียมละลายลงสู่อาหารเพิ่มมากขึ้นในสภาวะที่เป็นกรด⁽³⁾ ขณะที่ Al Zubaidy EAH, et.al.⁽⁴⁾ รายงานว่าอะลูมิเนียมสามารถละลายออกมาจากภาชนะได้ทุกสภาวะที่ใช้ปรุงอาหาร นอกจากนี้ Al Juhaiman L.⁽⁵⁾ ศึกษาปริมาณอะลูมิเนียมในอาหารพบว่าปริมาณอะลูมิเนียมในอาหารเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปรุงอาหารโดยใช้ภาชนะอะลูมิเนียม

พิษของโลหะตะกั่วและแคดเมียมมีอันตรายต่อสุขภาพและจัดเป็นสารก่อมะเร็ง ผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ ตะกั่วมีผลให้เกิดอาการอ่อนเพลีย เบื่ออาหาร น้ำหนักลด ปวดเกร็งท้อง กล้ามเนื้ออ่อนแรง เป็นพิษต่อระบบประสาทและสมอง ประสาทหลอน ชัก หมดสติ สำหรับทารกในครรภ์มารดาและเด็กเล็ก ตะกั่วจะมีผลต่อการพัฒนาทางด้านสมอง ทำให้ไอคิวต่ำ⁽⁶⁾ แคดเมียมจะสะสมที่ตับ ไต กล้ามเนื้อและเนื้อเยื่อ มีพิษทำลายอวัยวะที่ไปสะสม ทำให้ไตวายได้ และเป็นสารก่อมะเร็ง⁽⁷⁾ อะลูมิเนียมอาจก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบประสาทได้ เนื่องจากพบว่าการสะสมที่สมอง กระดูกและตับ⁽³⁾

ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 92 (พ.ศ. 2528)⁽¹⁾ เรื่อง กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของภาชนะบรรจุ กำหนดปริมาณโลหะที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม เมื่อวิเคราะห์โดยวิธีตามที่กำหนดในวารสารเอโอเอซี (1983)⁽⁸⁾ (Association of Official Analytical Chemists) ดังนี้ ตะกั่วและแคดเมียมไม่เกิน 5.0 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งต่อมาวิธีดังกล่าวได้ถูกยอมรับให้เป็น WHO-AOAC Method⁽⁹⁾ ทั้งนี้ไม่มีข้อกำหนดด้านการละลายของโลหะอื่น

จากการสำรวจพบว่าภาชนะหุงต้มราคาถูกส่วนใหญ่ผลิตมาจากอะลูมิเนียมซึ่งอาจมีโลหะอื่นผสมอยู่ด้วย ผู้วิจัยจึงเห็นว่าควรมีการสำรวจปริมาณอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาด้วย แต่เนื่องจากวิธี AOAC^(8, 9) ไม่ได้ครอบคลุมการวิเคราะห์ปริมาณอะลูมิเนียมจึงนำวิธีดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ พร้อมทั้งได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เพื่อยืนยันว่ามีความเหมาะสมกับวัตถุประสงค์ และทำการสำรวจปริมาณโลหะที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มที่จำหน่ายในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล เพื่อเป็นการเฝ้าระวังการได้รับโลหะอันตรายจากการใช้ภาชนะหุงต้ม และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถนำข้อมูลที่ได้นำไปใช้ในการกำหนดค่ามาตรฐานของภาชนะหุงต้มเพิ่มเติม นอกเหนือจากที่กำหนดไว้แล้ว จึงได้ศึกษาปริมาณตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม ที่วางจำหน่ายในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

- เครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer ของ Varian รุ่น Spectr AA-640, hollow cathode lamp (ตะกั่วและแคดเมียม) ก๊าซอะเซทิลีนและปั๊มอากาศ (Air pump)
- เครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer ของ Varian รุ่น Spectr AA-800 Zeeman background correction, hollow cathode lamp (อะลูมิเนียม) ระบบฉีดสารอัตโนมัติ Partitioned tube part no. 6310001200 Cooling water สำหรับ furnace และ ก๊าซอาร์กอนความบริสุทธิ์ 99.999%
- เตาแก๊สและ hot plate
- เครื่องแก้วและอุปกรณ์พลาสติก ก่อนใช้งานแช่ด้วยสารละลายกรดไนตริก ร้อยละ 40 โดยปริมาตร ทิ้งค้างคืนแล้วล้างกรดออกด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง ผึ่งให้แห้งในภาชนะปิดสนิท

สารมาตรฐานและสารเคมี

- สารเคมี (AR Grade) : กรดอะซีติกเข้มข้น 100% (Merck) กรดไนตริกเข้มข้น 65% สารละลายแมกนีเซียมไนเตรท 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร
- สารมาตรฐาน: สารละลายมาตรฐาน ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร (Perkin Elmer) (สามารถสอบย้อนกลับได้)

การเตรียมสารเคมี

- สารละลายกรดอะซีติก 4% โดยปริมาตร เตรียมโดยเจือจางกรดอะซีติกเข้มข้น 40 มิลลิลิตร ในน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร
- สารละลายแมกนีเซียมไนเตรท 25 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารละลายแมกนีเซียมไนเตรท จำนวน 0.25 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยน้ำ deionized และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

- สารละลายมาตรฐานตะกั่วและแคดเมียมสำหรับเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer
 - สารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Intermediate) : ปิเปตสารละลายมาตรฐานตะกั่ว 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 2 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยสารละลายกรดอะซีติก 4% โดยปริมาตร และปรับปริมาตรเป็น 20 มิลลิลิตร ใช้สร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
 - สารละลายมาตรฐานแคดเมียมความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (Intermediate) : ปิเปตสารละลายมาตรฐานแคดเมียม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 1 มิลลิลิตร แล้วเจือจางด้วยสารละลายกรดอะซีติก 4% โดยปริมาตร และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ใช้สร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ
- สารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียมสำหรับเครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer

- สารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม 0.250 มิลลิกรัมต่อลิตร: จากสารละลายมาตรฐานอะลูมิเนียม 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตรให้เจือจางลงด้วยสารละลายกรดอะซิติก 4% โดยปริมาตร จนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ ใช้สร้างกราฟมาตรฐานความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ตั้งระบบการทำงานของเครื่องแบบ auto mix

ตัวอย่าง

ภาชนะหุงต้มได้แก่ กระทะ หม้อ จานร้อน กาต้มน้ำ จำนวน 32 ตัวอย่าง ซื้อมาจากร้านค้าส่งและค้าปลีก ในเขตกรุงเทพฯ นนทบุรี และปทุมธานี ระหว่างเดือน เมษายน-พฤษภาคม 2555 แบ่งตามวัสดุที่ใช้ผลิตเป็น 3 ชนิด คือ เหล็ก 4 ตัวอย่าง อะลูมิเนียม 22 ตัวอย่าง และสแตนเลส 6 ตัวอย่าง

วิธีวิเคราะห์

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

วัดความจุของตัวอย่างโดยการเติมน้ำให้ถึงระดับน้ำล้นบนที่กั้นปริมาตรของน้ำ ทำความสะอาดตัวอย่างโดยล้างตัวอย่างด้วยสารละลาย detergent เจือจาง ตามด้วยน้ำประปาหลาย ๆ ครั้งจนสะอาดแล้วล้างด้วยน้ำ deionized นำไปผึ่งให้แห้งในภาชนะปิดสนิท ใส่ น้ำ deionized ลงในตัวอย่างปริมาตร 2 ใน 3 ของความจุทั้งหมด ปิดฝาหรือใช้แผ่นทนความร้อนปิด นำไปวางบนเตาให้ความร้อนจนน้ำเริ่มเดือด เติมกรดอะซิติกเข้มข้นให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 4 โดยปริมาตร แล้วต้มต่อไปอีก 2 ชั่วโมง เมื่อครบ 2 ชั่วโมง หยุดให้ความร้อนวางทิ้งไว้ให้เย็นเติมสารละลายกรดอะซิติก ร้อยละ 4 โดยปริมาตร ลงในภาชนะจนได้ปริมาตรเท่าเดิม คนสารละลายเบา ๆ ถ่ายสารละลายออกจากภาชนะใส่ขวดพลาสติก

การเตรียมสารละลายแปลงค์

ปฏิบัติเช่นเดียวกับตัวอย่างเปลี่ยนจากภาชนะหุงต้มเป็นบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

การวิเคราะห์

วิเคราะห์ตะกั่วและแคดเมียมใช้เครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer⁽¹⁰⁾ (Flame-AAS), วิเคราะห์อะลูมิเนียมใช้เครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer (GF-AAS)

สภาวะของเครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrophotometer

ปฏิบัติตามคู่มือการตรวจวิเคราะห์โดยเครื่อง Varian Spectr-640 ดังนี้ ตะกั่ววัดที่ความยาวคลื่น 283.3 นาโนเมตร slit width 0.5 นาโนเมตร Flame type Air-acetylene และแคดเมียมวัดที่ความยาวคลื่น 228.8 นาโนเมตร, slit width 0.5 นาโนเมตร, Flame type Air-acetylene

สภาวะของเครื่อง Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometer

ปฏิบัติตามคู่มือการตรวจวิเคราะห์โดยเครื่อง Varian SpectrAA-800 Zeeman graphite furnace⁽¹¹⁾ ดังนี้

อะลูมิเนียมวัดที่ความยาวคลื่น 257.4 นาโนเมตร slit width 0.5 นาโนเมตร, Zeeman Background Correction, ใช้แมกนีเซียมไนเตรทความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็น modifier, total volume 22 ไมโครลิตร, sample volume 20 ไมโครลิตร และ modifier volume 2 ไมโครลิตร ฉีดสารแบบ co injection

ก่อนทำการวิเคราะห์จะต้องปรับเครื่องมือ โดยการทำ sensitivity check ให้ได้สัญญาณพีคที่สมมาตร มีพื้นที่ใต้พีคสูงสุดและได้ค่า absorbance อยู่ในช่วง $\pm 20\%$ ของค่าที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนดไว้

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)⁽¹²⁾**ทดสอบช่วงการวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง (Working range and linearity)**

วัดสารละลายเบลงค์และสารละลายมาตรฐานตะกั่วความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียมความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียมความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับสารมาตรฐานตะกั่วและแคดเมียม แต่ละความเข้มข้นวัดซ้ำ 6 ครั้ง สารมาตรฐานอะลูมิเนียม แต่ละความเข้มข้นวัดซ้ำ 2 ครั้ง แล้วสร้างกราฟมาตรฐานของแต่ละธาตุแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและค่าการดูดกลืน คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เพื่อศึกษาความเป็นเส้นตรง ซึ่งควรมีค่าไม่ต่ำกว่า 0.995

วัดสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ระดับ 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียมที่ระดับ 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกัน เพื่อทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์

การหาขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และการหาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

เตรียมสารละลาย sample blank 10 ขั้ว อ่านค่าความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียม คำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) แล้วคำนวณค่า $LOD = \text{mean blank} \pm 3SD$ และคำนวณค่า $estimated LOQ = \text{mean blank} \pm 10SD$

เตรียมสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานที่ระดับ $estimated LOQ$ จำนวน 10 ขั้ว วัดความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม คำนวณค่าร้อยละการกลับคืน (% recovery) และ ค่า relative standard deviation (%RSD) เพื่อหาค่า LOQ ที่ยอมรับได้

การทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision)

เตรียมสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 3 ระดับ ดังนี้ ตะกั่ว 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียม 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียม 0.100, 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ระดับละ 10 ขั้ว วัดปริมาณตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม คำนวณค่าร้อยละการกลับคืน ควรอยู่ในช่วง 80-110 และคำนวณค่า relative standard deviation โดยใช้ Horwitz's equation ประเมินด้วย HORRAT

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty)⁽¹³⁾

การประเมินค่าความไม่แน่นอนใช้แนวทางของ EURACHEM

ผล**การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)****ทดสอบช่วงการวิเคราะห์และความเป็นเส้นตรง (Working range and linearity)**

จากการวัดค่าสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียมความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และอะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 0, 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนกับความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียม ได้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมเท่ากับ 0.9999 0.9993 และ 0.9995 ตามลำดับ

จากการวัดสารละลายตัวอย่างที่เติมสารละลายมาตรฐานตะกั่วที่ความเข้มข้น 0.25, 0.50, 1.00, 1.50, 2.00, 2.50 และ 3.00 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียมที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียมที่ความเข้มข้น 0.025, 0.050, 0.075, 0.100, 0.125, 0.150, 0.175 และ 0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร และผ่านกระบวนการเตรียมตัวอย่าง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมเท่ากับ 0.9978, 0.9975 และ 0.9984 ตามลำดับ

ทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (Limit of detection, LOD) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation, LOQ)

ผลการทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.05, 0.001 และ 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ และค่า estimated LOQ ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.10, 0.010 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการหาขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 0.1, 0.01 และ 0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยมีค่าเฉลี่ย %recovery ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 93, 100 และ 94 ตามลำดับ ค่า % RSD ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม เท่ากับ 9.6, 8.0 และ 8.6 ตามลำดับ

ทดสอบความแม่นยำและความเที่ยง (Accuracy and Precision)

จากการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ โดยการเติมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 3 ระดับ ระดับละ 10 ข้างต้นคือ ตะกั่วความเข้มข้น 2.5, 5.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียมความเข้มข้น 0.25, 0.50 และ 1.00 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียมความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า % recovery เฉลี่ยของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมอยู่ในช่วงร้อยละ 92-99, 101-103 และ 98-108 ตามลำดับ ค่า % RSD ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมอยู่ในช่วง 5.5-7.5, 2.3-3.3 และ 2.8-5.9 ตามลำดับ ซึ่งไม่เกิน predicted RSD_r ที่คำนวณจาก Horwitz's equation และ HORRAT มีค่าน้อยกว่า 2 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การทดสอบขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ความแม่นยำและความเที่ยงของการวิเคราะห์

ปริมาณโลหะที่เติม (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ยปริมาณที่พบ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าเฉลี่ย % recovery	% RSD	Predicted RSD _r	HORRAT
- ตะกั่ว					
0.1 (LOQ)	0.09	93	9.6	14.9	0.6
2.5	2.4	96	7.5	9.2	0.8
5.0	4.6	92	5.5	8.3	0.7
10.0	9.9	99	6.8	7.4	0.9
- แคดเมียม					
0.01 (LOQ)	0.01	100	8.0	21.1	0.4
0.25	0.25	103	3.3	13.0	0.3
0.50	0.51	102	2.3	11.7	0.2
1.00	0.98	101	3.0	10.5	0.3
- อะลูมิเนียม					
0.010 (LOQ)	0.009	94	8.6	21.1	0.4
0.100	0.103	103	2.8	14.9	0.2
1.000	1.080	108	3.1	10.5	0.3
10.000	9.803	98	5.9	7.4	0.8

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty)

การประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัด โดยคำนวณค่าความไม่แน่นอนที่เกิดจากแต่ละแหล่งแล้วคำนวณหาความไม่แน่นอนรวม (Combined standard uncertainty) และคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยาย (Expanded uncertainty) โดยใช้ค่า $K=2$ ผลการวิเคราะห์ของตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมเท่ากับ 3.35, 0.10 และ 11.0 มิลลิกรัมต่อลิตร การคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายของการวิเคราะห์ ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม มีค่าเท่ากับ ± 0.31 , ± 0.01 และ ± 0.9 ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มีค่า Relative standard uncertainty ไม่เกิน 10%

การสำรวจปริมาณตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม

จากข้อมูลของผลิตภัณฑ์ที่แจ้งไว้ในฉลากพบว่า กระดาษจำนวน 13 ตัวอย่าง ทำจากเหล็ก 3 ตัวอย่าง อะลูมิเนียม 10 ตัวอย่าง หม้อจำนวน 13 ตัวอย่าง ทำจากอะลูมิเนียม 7 ตัวอย่าง และสแตนเลส 6 ตัวอย่าง จานร้อนจำนวน 4 ตัวอย่าง ทำจากเหล็ก 1 ตัวอย่าง อะลูมิเนียม 3 ตัวอย่าง กาต้มน้ำจำนวน 2 ตัวอย่าง ทำจากอะลูมิเนียม 2 ตัวอย่าง ทุกตัวอย่าง ไม่มีฉลาก ยกเว้นตัวอย่างจานร้อนที่ทำจากเหล็กมีฉลากแจ้งรายละเอียด วิธีใช้ ข้อแนะนำ ผู้ผลิตและสถานที่ผลิต

ผลการวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมจากภาชนะหุงต้ม 32 ตัวอย่าง พบการละลายออกมาของตะกั่ว 18 ตัวอย่าง (ร้อยละ 56) ปริมาณที่พบอยู่ในช่วงน้อยกว่า 0.1 – 3.35 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียม พบ 5 ตัวอย่าง (ร้อยละ 16) ปริมาณที่พบอยู่ในช่วงน้อยกว่า 0.01 – 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร และอะลูมิเนียม พบ 32 ตัวอย่าง (ร้อยละ 100) ปริมาณที่พบอยู่ในช่วงน้อยกว่า 0.010 – 953 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การสำรวจปริมาณ ตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมที่แพร่กระจายออกมาจากภาชนะหุงต้ม

ชนิดภาชนะหุงต้ม	พบ	ตะกั่ว (มิลลิกรัมต่อลิตร)		แคดเมียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)			อะลูมิเนียม (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
		ปริมาณที่พบ	median	พบ	ปริมาณที่พบ	median	พบ	ปริมาณที่พบ	median
เหล็ก 4 ตัวอย่าง	4 ตัวอย่าง	< 0.1–0.2	< 0.1	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	4 ตัวอย่าง	0.120–0.400	0.262
สแตนเลส 6 ตัวอย่าง	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	6 ตัวอย่าง	< 0.010–0.395	1.905
อะลูมิเนียม 22 ตัวอย่าง	14 ตัวอย่าง	< 0.1–3.35	0.2	5 ตัวอย่าง	< 0.01–0.01	< 0.01	22 ตัวอย่าง	11–953	275
รวม 32 ตัวอย่าง	18 ตัวอย่าง	< 0.1–3.35	0.15	5 ตัวอย่าง	< 0.01–0.01	< 0.01	22 ตัวอย่าง	< 0.010–953	154

วิจารณ์

การทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์หาปริมาณตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้ม โดยใช้ Flame-AAS และ GF-AAS ตามลำดับ พบว่ากราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนและความเข้มข้นของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียม มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงตลอดช่วงความเข้มข้น ดังนี้ ตะกั่ว ความเข้มข้น 0–3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียม 0–0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และอะลูมิเนียม 0–0.200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีค่า $r \geq 0.995$ และใช้เป็นช่วงการวัดของโลหะทั้ง 3 ชนิด วิธีวิเคราะห์นี้มีขีดจำกัดการตรวจพบ (LOD) ของตะกั่วเท่ากับ 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร แคดเมียม 0.001 มิลลิกรัมต่อลิตร อะลูมิเนียม 0.004 มิลลิกรัมต่อลิตร และขีดจำกัดการวัดเชิงปริมาณ (LOQ) ของตะกั่ว แคดเมียม และอะลูมิเนียมเท่ากับ 0.1, 0.01 และ 0.010 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งได้ผ่านการยืนยันโดยการประเมินความแม่นยำและความเที่ยง จากการประเมินด้วย %recovery,

% RSD และ HORRAT พบว่าทุกค่าผ่านเกณฑ์ยอมรับตามที่ระบุใน AOAC⁽¹⁴⁾ จากการประเมินความไม่แน่นอนของการวัดที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่ามีค่า Relative standard uncertainty ไม่เกิน 10% ของค่าที่วิเคราะห์ได้ และเมื่อเปรียบเทียบค่า %RSD ของตะกั่วและแคดเมียมที่ความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าที่ใช้ในการทำ collaborative study ที่ดำเนินการโดย FDA USA⁽⁸⁾ พบว่ามีค่าไม่เกิน repeatability within-laboratory standard deviation ดังนั้นวิธี Hot leaching ของ AOAC ซึ่งผ่านการทำ collaborative study จนทำให้ WHO-AOAC ยอมรับเป็น Official method นี้ จึงมีความเหมาะสม สามารถนำไปใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มได้

ภาชนะหุงต้มใช้ปรุงอาหารหลากหลายประเภทที่มีส่วนประกอบต่างๆ เช่น ไขมัน กรด กรดเกลือ เป็นต้น และมีการใช้ความร้อนหลายช่วงเวลา ในการทดสอบจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยที่ครอบคลุมการใช้งาน เนื่องจากในชีวิตประจำวัน การใช้ภาชนะหุงต้มมีการใช้ซ้ำๆ จนกระทั่งภาชนะนั้นไม่สามารถใช้งานได้ อีกวิธีวิเคราะห์การละลายออกมาของโลหะจากภาชนะหุงต้มตามวิธี AOAC (1984)⁽⁹⁾ กำหนดให้ใช้สารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร เป็นตัวแทนอาหารประเภทกรดหรืออาหารที่มีค่า pH ไม่เกิน 5 ซึ่งจากการศึกษาพบว่าความเข้มข้นของกรดอะซิติก ร้อยละ 2-6 ให้ผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกัน ขณะที่ระยะเวลาที่ใช้หุงต้มกำหนดไว้ 2 ชั่วโมงนั้น กำหนดจากระยะเวลาโดยประมาณของการปรุงอาหารในภาชนะประเภทโลหะเคลือบ (enameled ware)⁽⁸⁾

ผลการสำรวจภาชนะหุงต้มที่วางจำหน่ายในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล จำนวน 32 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่มีตะกั่วและแคดเมียมละลายออกมาคิดเป็นร้อยละ 56 และ 16 ตามลำดับ ปริมาณที่ละลายอยู่ในช่วง น้อยกว่า 0.1 – 3.35 และ น้อยกว่า 0.01–0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ไม่มีตัวอย่างใดเกินค่ามาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 92 (พ.ศ. 2528)⁽¹⁾ ซึ่งกำหนดปริมาณตะกั่วไว้ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร และแคดเมียม 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

จากการศึกษาพบว่าภาชนะอะลูมิเนียมมีการละลายออกมาของโลหะทั้ง 3 ชนิดมากที่สุดเพราะวัสดุชนิดนี้ไม่ทนต่อสภาวะที่เป็นกรด สังเกตได้จากผิวของภาชนะภายหลังการทดสอบถูกกัดกร่อน พื้นผิวขรุขระไม่เรียบ ไม่มันวาว สภาพเปลี่ยนไปจากก่อนทำการทดสอบ ถึงแม้ว่าปริมาณการละลายออกมาของตะกั่วและแคดเมียมจะไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด แต่ก็มีการละลายออกมาในภาชนะชนิดนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุ อื่นที่ใช้ในการศึกษา นี้ และมีปริมาณการละลายออกมาของอะลูมิเนียมสูงที่สุดถึง 953 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อใช้ภาชนะหุงต้มชนิดนี้ปรุงอาหารจึงมีโอกาสได้รับอะลูมิเนียมออกมาสู่อาหารได้ เนื่องจากอะลูมิเนียมไม่มีมาตรฐานกำหนดทั้งต่างประเทศ และในประเทศ อาจเป็นเพราะต่างประเทศไม่นิยมใช้ภาชนะอะลูมิเนียม ในขณะที่ประเทศไทยนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพราะราคาถูก หาซื้อง่าย จึงควรกำหนดค่ามาตรฐานของอะลูมิเนียม เพราะอะลูมิเนียมมีผลกระทบต่อสุขภาพโดยอาจก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบประสาทได้ ดังนั้นเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคหน่วยงานที่เกี่ยวข้องจึงควรกำหนดค่ามาตรฐานของอะลูมิเนียม

ภาชนะสแตนเลส มีความคงทนต่อการกัดกร่อนของกรดได้มาก สังเกตได้จากผิวที่ยังคงความมันวาวภายหลังการทดสอบ ทั้งนี้เนื่องจากสแตนเลสเป็นโลหะผสมของเหล็กกับโลหะอื่น เช่น โครเมียม นิกเกิล ไทเทเนียม เป็นต้น โดยมีอัตราส่วนที่แตกต่างกันไปตามคุณสมบัติเชิงกลที่ผู้ผลิตต้องการ อีกทั้งโครเมียมช่วยทำให้เกิดฟิล์มออกไซด์เคลือบผิวภาชนะซึ่งช่วยป้องกันการกัดกร่อนได้⁽¹⁵⁾ แต่ยังมีมีการตรวจพบอะลูมิเนียมละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มชนิดสแตนเลส ทั้งนี้อาจเป็นเพราะภาชนะที่ทดสอบมีราคาถูกอาจมีการปนมาของโลหะชนิดอื่นนอกเหนือจากวัสดุหลัก เช่นเดียวกับการตรวจพบอะลูมิเนียมละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มทำด้วยเหล็ก

สรุป

วิธีวิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว แคดเมียมและอะลูมิเนียมที่ละลายออกมาจากภาชนะหุงต้มนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมสามารถนำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณทางห้องปฏิบัติการและงานวิจัยได้

จากการสำรวจหาปริมาณตะกั่ว แคดเมียม ที่แพร่กระจายออกมาจากภาชนะหุงต้มราคาถูกที่วางจำหน่ายในตลาดกรุงเทพฯ และปริมณฑล พบว่าอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 92 (พ.ศ. 2528) สำหรับอะลูมิเนียมพบว่ามีกระจายออกมาจากทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะภาชนะที่ทำด้วยอะลูมิเนียมที่คนไทยนิยมใช้กันแพร่หลายตรวจพบการละลายออกมาในปริมาณสูง การได้รับอะลูมิเนียมจากอาหารที่บริโภคประจำวันเป็นประจำ อาจสะสมจนถึงระดับที่อันตรายต่อร่างกายได้ สำหรับประเทศไทยยังไม่มีข้อกำหนดของอะลูมิเนียมเกี่ยวกับภาชนะหุงต้ม แต่ JECFA⁽¹⁶⁾ (1989) ได้กำหนดค่าสูงสุดที่สามารถรับได้ต่อสัปดาห์ (PTWI) ไว้ไม่เกิน 7 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่อสัปดาห์แล้ว ดังนั้นประเทศไทยควรพิจารณากำหนดค่ามาตรฐานของอะลูมิเนียมในอาหารและภาชนะหุงต้มสำหรับผู้บริโภค เพื่อความปลอดภัยจากการได้รับโลหะที่อาจปนเปื้อนสู่อาหาร ในการใช้ภาชนะหุงต้มควรหลีกเลี่ยงการใช้ภาชนะอะลูมิเนียมกับอาหารที่มีสถานะที่เป็นกรดและไม่ควรเก็บรักษาอาหารที่มีสถานะเป็นกรดไว้ในภาชนะหุงต้มที่เป็นโลหะทุกชนิดเป็นเวลานาน ๆ เช่น เก็บข้ามคืน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางลัดดาวัลย์ โรจนพรณทิพย์ อดีตผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร นางกนกพร อธิสุข ผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านมาตรฐานของอาหาร ช่วยตรวจต้นฉบับและเจ้าหน้าที่ฝ่ายวัสดุสัมผัสอาหารทุกท่านที่ให้การดำเนินงานสำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 92 (พ.ศ. 2528) ราชกิจจานุเบกษา ฉบับพิเศษ เล่มที่ 102 ตอนที่ 117 (ลงวันที่ 2 กันยายน พ.ศ. 2528)
2. กรมควบคุมโรค. อีพพบสารตะกั่วในแนวตะเข็บชายแดนสูงวอนเปลี่ยนภาชนะประกอบอาหาร ลดความเสี่ยง. [ออนไลน์]. 2555; [สืบค้น 2 มี.ค. 2557]; [1หน้า]. เข้าถึงได้ที่ : URL: http://dpc9.ddc.moph.go.th/crd/news/2555/03_17_Lead.html.
3. Mohammad FS, Al Zubaidy EAH, Bassioni G. Effect of aluminium leaching process of cooking wares on Food. Int. J. Electrochem. Sci. 2011; (6): 222-230.
4. Al Zubaidy EAH, Mohammad FS, Bassioni G. Effect of pH, salinity and temperature on aluminum cookware leaching during food preparation. Int. J. Electrochem. Sci. 2011; (6): 6424-6441.
5. Al Jahaiman LA. Estimating Aluminium leching from Aluminum cook wares in different meat extracts and milk. Journal of Saudi Chemical Society 2010; (14): 131-137.
6. วิชา คงดี. ระดับสารตะกั่วในเลือดกลุ่มผู้ประกอบการอาชีพสัมผัสสารตะกั่วใน 3 จังหวัดภาคใต้. ว กรรมวิทย์ พ 2541; 40 (2) : 223-8.
7. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Public health statement: Cadmium. Atlanta: Department of Health and Human Services; 2012.
8. Gould JH, Butler SW, Boyer KW, Steele EA. Hot leaching of ceramic and enameled cookware: Collaborative study. J Assoc Off Anal Chem. 1983; 66(3): 610-619.
9. Boyer KW, editor. Cadmium and Lead in Cookware Hot Leach Atomic Absorption Method. In: Williams S. editor. Official Method of Analysis of AOAC International 14 th ed. Virginia: The William Byrd Press, Inc.; 1984: 447-448.
10. Analytical methods. Flame atomic absorption spectrometry. Australia: Varian Australia Pty Ltd.; 1989. (Publication No 85-100009-00)
11. Rothery E. editor. Analytical methods for graphite tube atomizers. Australia: Varian Australia Pty Ltd.; 1988. (Publication No 85-100848-00)

12. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียวนนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2549.
 13. EURACHEM/CITAC Guide CG 4. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2nd ed; 2000.
 14. AOAC Guidelines for single-laboratory validation of chemical methods, 2002.
 15. Cunat PJ. Alloying elements in stainless steel and other chromium-containing alloys. 2004; [สืบค้น 2 มี.ค. 2557]; [24 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: http://www.euro-inox.org/pdf/map/Alloying Elements_EN.pdf.
 16. JECFA (1989). Evaluation certain food additives and contaminants. Thirty-third report of the joint FAO/ WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization, Technical Report Series 776.
-

Determination of Lead, Cadmium and Aluminium Leached from Cooking Utensils

Sasitorn Homdumrongvong Jaturong Sinkheaw and Uma Boriboon

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

ABSTRACT The analysis of lead, cadmium and aluminium, which is leached from cooking utensils, was performed by heating with a 4% v/v acetic acid solution at boiling temperature for 2 hours. The leached solutions were quantitation analyzed for lead and cadmium by Flame-AAS and GF-AAS for aluminium. The results of method validation showed that the linearity of calibration ranges correlated between absorbance and the concentration of lead, cadmium and aluminium at a range of 0–3.00, 0–0.8 and 0–0.200 mg/L, with correlation coefficients (r) of 0.9999, 0.9993 and 0.9995, respectively. There were linear relationships between added and discovered amounts of these metals at the working range. The limits of detection (LOD) of lead, cadmium and aluminium were 0.05, 0.001 and 0.004 mg/L, respectively. Further, the limits of quantitation (LOQ) were 0.1, 0.01 and 0.010 mg/L, respectively. Accuracy and precision were studied as % recovery of spiked samples and %RSD under repeatability conditions. The recoveries for 3 levels of lead, cadmium and aluminium were 92–99%, 101–103% and 98–108%, respectively. The %RSD of the levels was 5.5–7.5, 2.3–3.3 and 2.8–5.9, respectively. Using these methods, a total of 32 cooking utensil distributions were analyzed. The results showed that 56% of samples were leached lead at a level <0.1–3.35 mg/L and 16% of samples were leached cadmium at a level <0.10–0.10 mg/L. None of the samples leached lead or cadmium over the legal limit as set forth by the Notification of Public Health No. 92 (B.E. 2528). All samples showed the presence of aluminium in the leaching solution at an average level of 232 mg/L. According to Thai law, there are no specified legal limitations for aluminium content in utensils. However, aluminium is regarded as a neurotoxin agent due to its accumulation in the brain, bones and liver. JECFA (1989) established a PTWI at 7 mg/kg of body weight for total intake. In order to protect consumers from aluminium intake, related organizations should establish limitations for aluminium leaching. As a result, storage of acidic foods with these cooking utensils is not recommended.

Key words: lead cadmium aluminium leaching, cooking utensils, Flame-AAS, GF-AAS

การสำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม

อัจฉรา อยู่คง กมลวรรณ กันแต่ง รัชฎาพร สุวรรณรัตน์ และลดาวัลย์ จิงสมานกุล

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-2556 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้ดำเนินการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมที่ส่งโดยผู้ผลิตทั่วประเทศและที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เก็บจากเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล รวม 375 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ ไอศกรีมหวานเย็น 92 ตัวอย่าง และกลุ่มที่ 2 คือ ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสม 283 ตัวอย่าง พบคุณภาพของไอศกรีมไม่ได้มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 354 พ.ศ. 2556 เรื่อง ไอศกรีม และประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 364 พ.ศ. 2556 เรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค จำนวน 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.20 โดยมีสาเหตุจากปริมาณแบคทีเรียและปริมาณ *Bacillus cereus* เกินเกณฑ์มาตรฐาน และพบ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* spp. (*Salmonella* serovar Weltevreden) จำนวน 7, 9, 7, 3 และ 1 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 1.87, 2.40, 1.87, 0.80 และ 0.27 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อแยกตามประเภทไอศกรีม พบไอศกรีมหวานเย็นมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาดีกว่าไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง และไอศกรีมผสม 8 เท่า เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ($p > 0.05$) จำแนกไอศกรีมตามผู้ส่งพบไอศกรีมที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาส่งตรวจมีคุณภาพดีกว่ไอศกรีมที่ผู้ผลิตส่ง แต่เมื่อทดสอบโดยใช้สถิติพบว่าคุณภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ($p > 0.05$)

บทนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ตั้งอยู่ในเขตร้อน ไอศกรีมจึงเป็นผลิตภัณฑ์ยอดนิยมของผู้บริโภค โดยเฉพาะในฤดูร้อนทำให้มีความต้องการบริโภคได้ตลอดทั้งปีแสดงว่ามีผู้ผลิตและผู้บริโภคไอศกรีมเป็นจำนวนมาก ซึ่งถ้าไอศกรีมที่ผลิตมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ปริมาณมาก จากขั้นตอนการผลิตและการเก็บรักษาที่ไม่ดี เชื้อที่ปนเปื้อนจะเจริญเติบโตได้เร็ว ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและมักพบบ่อยในฤดูร้อน จะทำให้คุณภาพหรือคุณค่าของสารอาหารในไอศกรีมต่ำลงและหรือถ้ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นดัชนีชี้สุขภาพลักษณะ เช่น *Escherichia coli* แสดงว่ากระบวนการผลิตยังไม่ถูกต้องเพราะมีจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ปนเปื้อนอยู่ ซึ่งเป็นสัญญาณว่าอาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคทางเดินอาหารหรือเชื้อโรคอาหารเป็นพิษอื่นๆ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* หรือ *Salmonella* spp. หากได้รับเชื้อนี้เข้าสู่ร่างกายอาจทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน และโรคอุจจาระร่วง ดังนั้น สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร จึงได้ศึกษาคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคในการเลือกรับประทานหรือซื้อไอศกรีมที่ปลอดภัยและใช้เป็นสิ่งแสดงสุขภาพลักษณะการผลิต ซึ่งจะมีประโยชน์ในการแนะนำผู้ผลิตและผู้ควบคุมคุณภาพของโรงงานให้ปรับปรุงสุขภาพลักษณะการผลิตให้ดีขึ้น ถูกสุขภาพลักษณะตามมาตรฐานประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 354) พ.ศ. 2556 เรื่อง ไอศกรีม⁽¹⁾ และ (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค⁽²⁾ รวมทั้งเป็นข้อมูลประเมินความเสี่ยงของการเกิดโรคเนื่องจากการรับประทานไอศกรีมต่อไป

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างทดสอบ

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้รับตัวอย่างไอศกรีมจำนวน 375 ตัวอย่าง ระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2556 (ตุลาคม พ.ศ. 2553 – กันยายน พ.ศ. 2556) ที่ส่งโดยผู้ผลิตทั่วประเทศและที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) เก็บตัวอย่างจากเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑล แบ่งเป็น ไอศกรีมหวานเย็น 92 ตัวอย่าง ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง และไอศกรีมผสม 283 ตัวอย่าง

จุลินทรีย์มาตรฐาน

จุลินทรีย์มาตรฐานใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์เป็นจุลินทรีย์จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมสายพันธุ์จุลินทรีย์ทางการแพทย์ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จำนวน 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* DMST 24373, *Staphylococcus aureus* DMST 8840 (ATCC 25923), *Salmonella* Typhimurium DMST 562 (ATCC 13311), *Listeria monocytogenes* DMST 17303, *Bacillus cereus* DMST 6228, *Bacillus cereus var mycoides* DMST 24370 (G16), *Bacillus thuringiensis* DMST 7987 (ATCC 10792), *Bacillus thuringiensis* DMST 22974 (F)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ดังนี้

1. จำนวนแบคทีเรีย : plate count agar (PCA)
2. *E. coli*: EC broth, Koser's citrate broth, lauryl sulphate tryptose (LST) broth, levine's eosin - methylene blue (L-EMB) agar, methyl red-voges proskauer (MRVP) medium, tryptone broth

3. *S. aureus*: Baird-Parker medium (BP), brain heart infusion broth (BHI), trypticase soy broth 10% NaCl + 1% sodium pyruvate (TSB 10% NaCl), coagulase rabbit plasma with EDTA

4. *Salmonella* spp.: buffered peptone water (BPW), hektoen enteric (HE) agar, lysine indole motility medium or motility indole lysine medium (MIL), Muller-Kauffmann tetrathionate-novobiocin (MKTTn) broth, Rappaport-Vassiliadis medium with soya (RVS) broth, triple sugar iron agar (TSI), urea agar, xylose lysine desoxycholate (XLD) agar

5. *L. monocytogenes*: agar Listeria according to Ottaviani and Agosti (ALOA), frazer broth, half frazer broth, motility medium, oxford agar, trypticase soy agar with 0.6% yeast extract (TSAYE), blood agar, น้ำตาล (mannitol, rhamnose, xylose)

6. *B. cereus* : mannitol-egg yolk-polymyxin (MPY) agar, motility media, nutrient agar (NA), nitrate broth, phenol red glucose broth, trypticase soy agar (TSA), trypticase soy polymyxin broth (TSB-P), tyrosine agar, sheep blood agar, modified Voges-Proskauer (VP) medium

น้ำยาและสารเคมี

butterfield's phosphate-buffered dilution water, carbolfuchsin staining solution, gram's stain reagent, 3% hydrogen peroxide solution, iodine-iodide solution, Kovacs' reagent, methyl red solution, malachite green staining solution, nitrite detection reagents, *Salmonella* polyvalent O antisera, *Salmonella* individual O antisera group, VP reagent

เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์

Autoclave, balance (sensitivity 0.1 กรัม), glass bottle with screw cap, glass spreading rod, glass slide, incubator ($25 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$, $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$), loop, needle, pH-meter, petri-dishes, pipette (1, 5 และ 10 มิลลิลิตร), stomacher, stomacher bag, test tube, vortex mixer, water bath ($41.5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ และ $45.5 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$)

วิธีทดสอบและเกณฑ์ที่ใช้ตัดสิน

ไอศกรีมแต่ละตัวอย่างตรวจหาจุลินทรีย์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ (222) พ.ศ. 2544 เรื่อง ไอศกรีม และประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคประกาศในราชกิจจานุเบกษา ลงวันที่ 19 มีนาคม 2552 ซึ่งต่อมาประกาศกระทรวงสาธารณสุข ทั้งสองฉบับถูกยกเลิกโดยให้ใช้ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 354) พ.ศ. 2556 เรื่อง ไอศกรีม⁽¹⁾ และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค⁽²⁾ แทน โดยทั้ง 2 ฉบับ ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเกณฑ์ทางด้านจุลินทรีย์ที่กำหนดดังนี้

รายการ	มาตรฐาน	วิธีทดสอบ
จำนวนแบคทีเรียต่อกรัม	ไม่เกิน 600,000 หรือในไอศกรีมชนิดแข็งหรือผง ไม่เกิน 100,000	APHA, Compendium 2001, chapter 6&7 ⁽³⁾
<i>E. coli</i> ต่อ 0.01 กรัม	ไม่พบ	FDA BAM (Bacteriological Analytical Manual) 2013, Chapter 4 ⁽⁴⁾
<i>S. aureus</i> ต่อ 0.1 กรัม	ไม่พบ	FDA BAM2001, chapter 12 ⁽⁵⁾
<i>Salmonella</i> spp. ต่อ 25 กรัม	ไม่พบ	ISO 6579: 2002/ Cor.1: 2004 ⁽⁶⁾
<i>L. monocytogenes</i> ต่อ 25 กรัม*	ไม่พบ	ISO 11290-1: 1996/Amd.1: 2004 ⁽⁷⁾
<i>B. cereus</i> ต่อกรัม*	ไม่เกิน 500 หรือในไอศกรีมชนิดแข็งหรือผง ไม่เกิน 100	FDA BAM 2012, chapter 14 ⁽⁸⁾

หมายเหตุ *ตรวจเฉพาะในไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสม

สูตรการคำนวณ หาความสัมพันธ์ (ความแตกต่าง) ทางสถิติของไอศกรีม กับผลการตรวจทางจุลชีววิทยาได้มาตรฐานหรือไม่ได้มาตรฐาน^(1, 2) โดยใช้ไคสแควร์ (χ^2 - test) สำหรับข้อมูลตารางขนาด 2×2 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05⁽⁹⁾ ดังนี้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ (ความแตกต่าง) ระหว่างคุณลักษณะที่หนึ่งกับคุณลักษณะที่สอง

คุณลักษณะที่สอง (ผลการตรวจทางจุลชีววิทยา)	คุณลักษณะที่หนึ่ง (ชนิดของตัวอย่าง)			รวม
	ไอศกรีมหวานเย็น	ไอศกรีมนม	ไอศกรีมดัดแปลง และไอศกรีมผสม	
ไม่ได้มาตรฐาน	<i>a</i>		<i>b</i>	<i>a + b</i>
ได้มาตรฐาน	<i>c</i>		<i>d</i>	<i>c + d</i>
รวม	<i>a + c</i>		<i>b + d</i>	<i>n</i>

$$\chi^2_{cal} = \frac{n(ad - bc)^2}{(a + c)(b + d)(a + b)(c + d)}$$

- a* = จำนวนตัวอย่างไอศกรีมหวานเย็นที่ตรวจพบว่าไม่ได้มาตรฐาน
b = จำนวนตัวอย่างไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสมที่ตรวจพบว่าไม่ได้มาตรฐาน
c = จำนวนตัวอย่างไอศกรีมหวานเย็นที่ตรวจพบว่าได้มาตรฐาน
d = จำนวนตัวอย่างไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสมที่ตรวจพบว่าได้มาตรฐาน
n = จำนวนตัวอย่างทั้งหมด
df = ค่าชั้นแห่งความอิสระ = $(r-1)(c-1)$
r = จำนวนแถว = 2
c = จำนวนสดมภ์ = 2
 $\therefore df = (2 - 1)(2 - 1) = 1$

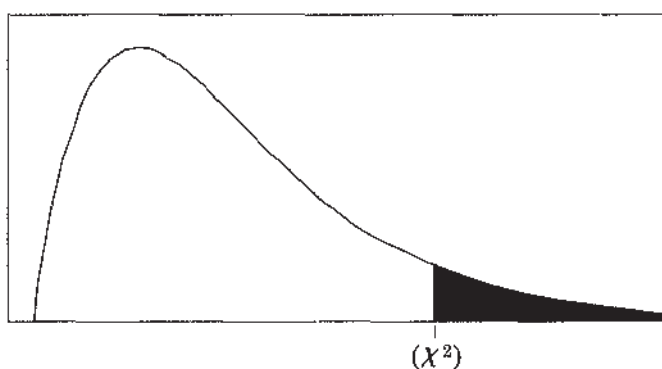
จากตารางไคสแควร์ (χ^2) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 df = 1 มีค่าเท่ากับ 3.84 (ตารางที่ 2)

• ถ้า χ^2_{cal} ที่คำนวณได้มีค่ามากกว่า 3.84 ($p < 0.05$) แสดงว่าไอศกรีมทั้ง 2 กลุ่มพบจำนวนตัวอย่างที่ไม่ได้มาตรฐาน

• ถ้า χ^2_{cal} น้อยกว่า 3.84 ($p > 0.05$) แสดงว่าไอศกรีมทั้ง 2 กลุ่ม มีผลการตรวจฯ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 2 ตารางไคสแควร์ (Chi-Square Distribution) Right tail areas for the *Chi-square* Distribution

df/area	.995	.990	.975	.950	.900	.775	.500	.250	.100	.050	.025	.010	.005
1	0.00004	0.00016	0.00098	0.00393	0.01579	0.10153	0.45494	1.32330	2.70554	3.84145	5.02389	6.63490	7.87944
2	0.01003	0.02010	0.05064	0.10259	0.21072	0.57536	1.38629	2.77259	4.60517	5.99146	7.37776	9.21034	10.59663
3	0.07172	0.11483	0.21580	0.35185	0.58437	1.21253	2.36597	4.10834	6.25139	7.81473	9.34840	11.34487	12.83816
4	0.20699	0.29711	0.48442	0.71072	1.06362	1.92256	3.35669	5.38527	7.77944	9.48773	11.14329	13.27670	14.86026
5	0.41174	0.55430	0.83121	1.14548	1.61031	2.67460	4.35146	6.62568	9.23636	11.07050	12.83250	15.08627	16.74960



ผล

ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ถึง 2556 สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ได้สำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม จำนวน 375 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก คือ ไอศกรีมหวานเย็น ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยใช้น้ำตาลหรืออาจมีวัตถุดิบที่เป็นอาหารเป็นส่วนผสม จำนวน 92 ตัวอย่าง กลุ่มที่สอง คือ ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลง และไอศกรีมผสม ได้แก่ ไอศกรีมที่ทำขึ้นโดยมีส่วนของไขมันนมหรือไขมันอื่นหรืออาหารอื่นๆ เป็นองค์ประกอบ จำนวน 283 ตัวอย่าง พบไอศกรีมไม่ได้มาตรฐานทางจุลชีววิทยาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข^(1, 2) 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.20 โดยไอศกรีมหวานเย็นไม่ได้มาตรฐาน 3 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 0.80 ของตัวอย่างทั้งหมดสาเหตุเนื่องจากพบปริมาณแบคทีเรียมากกว่ามาตรฐาน 1 ตัวอย่าง ตรวจพบ *E. coli* 1 ตัวอย่าง และ *S. aureus* 1 ตัวอย่าง ส่วนไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสมพบไม่ได้มาตรฐาน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 6.40 ของตัวอย่างทั้งหมดโดยมีสาเหตุคือ พบปริมาณแบคทีเรียมากกว่ามาตรฐาน 6 ตัวอย่าง และปริมาณ *B. cereus* มากกว่ามาตรฐาน 9 ตัวอย่าง พบ *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* spp. (*Salmonella* serovar Weltevreden) อย่างละ 6, 2 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างตรวจไม่พบ *L. monocytogenes* (ตารางที่ 3) และพบว่าไอศกรีมหวานเย็นมีคุณภาพดีกว่าไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสม 8 เท่า ($6.40/0.80$) เมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติโดยใช้ไคสแควร์ (χ^2 test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 พบ χ^2_{cal} มีค่าเท่ากับ 2.83 (ตารางที่ 4) น้อยกว่า 3.84 ($p > 0.05$) แสดงว่าไอศกรีมทั้ง 2 กลุ่มนี้มีคุณภาพไม่แตกต่างกัน⁽⁹⁾

เมื่อแยกตามประเภทของผู้ส่งพบไอศกรีมที่ส่งตรวจโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา 45 ตัวอย่าง ไม่ได้มาตรฐาน 1 ตัวอย่าง ส่วนที่ส่งโดยผู้ผลิต 330 ตัวอย่าง ไม่ได้มาตรฐาน 26 ตัวอย่าง จะเห็นได้ว่าไอศกรีมที่ส่ง

โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยามีคุณภาพดีกว่าไอศกรีมที่ผู้ผลิตส่งซึ่งเมื่อนำมาหาความสัมพันธ์ทางสถิติโดยใช้ไคสแควร์ที่ $p = 0.05$ พบ χ^2_{cal} มีค่าเท่ากับ 1.90 ซึ่งน้อยกว่า 3.84 ($p > 0.05$) (ตารางที่ 5) แสดงว่าไอศกรีมที่ส่งโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยากับไอศกรีมที่ส่งโดยผู้ผลิตมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์ไอศกรีมระหว่างปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-2556

กลุ่มของไอศกรีม	ผู้ส่ง	ตรวจ	จำนวนตัวอย่าง		สาเหตุที่ตัวอย่างไม่ได้มาตรฐาน				
			ไม่ได้มาตรฐานร้อยละ	จำนวนแบคทีเรีย CFU/กรัม $\leq 6.0 \times 10^6$	<i>B. cereus</i> CFU/กรัม ≤ 500	<i>E. coli</i> 0.01/กรัม ไม่พบ	<i>S. aureus</i> 0.1/กรัม ไม่พบ	<i>Salmonella</i> spp. /25 กรัม ไม่พบ	<i>L. mono cytogenes</i> /25 กรัม ไม่พบ
1. หวานเย็น	ผู้ผลิต	87	3 (0.80)	1	(-)	1	1	0	(-)
		5	0	0	(-)	0	0	0	(-)
	รวม	92	3 (0.80)	1	(-)	1	1	0	(-)
2. นม, ตัดแปลง, ผสม	ผู้ผลิต	243	23 (6.13)	5	9	6	2	1	0
		40	1 (0.27)	1	0	0	0	0	0
	รวม	283	24 (6.40)	6	9	6	2	1	0
รวม - ผู้ผลิต		330	26 (6.93)	6	9	7	3	1	0
รวม - อย.		45	1 (0.27)	1	0	0	0	0	0
รวมทั้งหมด		375	27 (7.20)	7	9	7	3	1	0

หมายเหตุ (-) หมายถึงไม่ได้ตรวจวิเคราะห์

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ทางสถิติไอศกรีมจำแนกตามกลุ่มของไอศกรีมเปรียบเทียบกับผลการตรวจวิเคราะห์ ที่ได้มาตรฐานหรือไม่ได้มาตรฐาน^(1, 2)

ผลการตรวจวิเคราะห์	ไอศกรีมหวานเย็น	กลุ่มของไอศกรีม		รวม
		ไอศกรีมนม	ไอศกรีมตัดแปลง และไอศกรีมผสม	
ไม่ได้มาตรฐาน	3	24	27 (2.70)	
ได้มาตรฐาน	89	259	348 (92.80)	
รวม	92	283	375	

$$\chi^2_{cal} = \frac{375[(3)(259) - (24)(89)]^2}{(3 + 89)(24 + 259)(3 + 24)(89 + 283)}$$

$$\chi^2_{cal} = 2.83$$

ตารางที่ 5 ความสัมพันธ์ทางสถิติของไอศกรีมจำแนกตามผู้ส่งเปรียบเทียบกับผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้มาตรฐานหรือไม่ได้มาตรฐาน^(5, 6)

ผลการตรวจ	ผู้ส่ง		รวม
	ผู้ผลิต	อย.	
ไม่ได้มาตรฐาน	26	1	27
ได้มาตรฐาน	304	44	348
รวม	330	45	375

$$\chi^2_{cal} = \frac{375[(26)(44) - (1)(304)]^2}{(26 + 304)(1 + 44)(26 + 1)(304 + 44)}$$

$$\chi^2_{cal} = 1.90$$

วิจารณ์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหารได้สำรวจคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมในปี พ.ศ. 2531 ถึง พ.ศ. 2533⁽¹⁰⁾ จำนวน 168 ตัวอย่าง พบไม่ได้มาตรฐานทางจุลชีววิทยาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข^(1, 2) 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 16.67 และในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2556 จำนวน 375 ตัวอย่าง ไม่ได้มาตรฐานทางจุลชีววิทยาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข^(1, 2) 27 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 7.20 จะเห็นได้ว่าคุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ถึง พ.ศ. 2556 ดีกว่าไอศกรีมที่ผลิตในปีงบประมาณ พ.ศ. 2531 ถึง พ.ศ. 2533 อาจเพราะผู้ผลิตมีการใช้เครื่องมือเครื่องจักรที่ทันสมัยในกระบวนการผลิตมากขึ้นและมีการปรับปรุงกระบวนการผลิตอย่างต่อเนื่องเพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 193) พ.ศ. 2543 เรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือ เครื่องใช้ ในกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร⁽¹¹⁾ แต่อย่างไรก็ตามไอศกรีมหลายตัวอย่างยังมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานซึ่งน่าจะเกิดจากการใช้เครื่องมือ อุปกรณ์ที่ไม่สะอาด หรือใช้มือที่ไม่สะอาดหยิบจับเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต พุดคุย ไอหรือจาม ระหว่างปฏิบัติงาน อาจทำให้เกิดจากการปนเปื้อนข้าม (cross contamination) ภายหลังการฆ่าเชื้อ เพราะจุลินทรีย์เหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่ทนต่อความร้อนหรือการใช้วัตถุดับเช่น นมผงและผลิตภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อนของ *B. cereus* ปริมาณมาก ความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อของกระบวนการผลิตไอศกรีมโดยทั่วไปไม่สามารถฆ่าสปอร์ของเชื้อนี้ได้⁽¹²⁾ ดังนั้นผู้ผลิตควรเลือกซื้อวัตถุดิบที่มีคุณภาพ ทำความสะอาดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิต สวมถุงมือที่สะอาดหรือล้างมือให้สะอาดอยู่เสมอก่อนหยิบจับเครื่องมือและอุปกรณ์เหล่านั้น และห้ามพุดคุย ไอหรือจามในระหว่างการผลิต

การที่คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมกลุ่มแรกคือ ไอศกรีมหวานเย็นมีคุณภาพดีกว่าไอศกรีมกลุ่มที่สอง คือ ไอศกรีมนม ไอศกรีมตัดแปลงและไอศกรีมผสม เกิดจากไอศกรีมหวานเย็นมีส่วนผสมหลักไม่กึ่งชนิดคือ น้ำ น้ำตาล สีและกลิ่นรส เป็นต้น ซึ่งส่วนผสมเหล่านี้โดยปกติมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ปริมาณไม่มาก และสภาพไม่เหมาะสมต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์เนื่องจากมีค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity: aw) ต่ำและหรือมีธาตุอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญน้อย⁽¹³⁾ ประกอบกับขั้นตอนกระบวนการผลิตไม่ยุ่งยากสามารถใช้ความร้อนสูง

ในการฆ่าเชื้อได้ ในขณะที่ไอศกรีมกลุ่มที่สอง ส่วนใหญ่จะมีนมและหรือผลไม้เป็นส่วนผสมซึ่งส่วนผสมเหล่านี้มีธาตุอาหารอุดมสมบูรณ์เหมาะสมต่อการเจริญเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ นอกจากนี้การฆ่าเชื้อในไอศกรีมไม่สามารถใช้ความร้อนสูงเมื่อเทียบกับไอศกรีมหวานเย็น ดังนั้นถ้ามีการปนเปื้อนข้ามของจุลินทรีย์และหรือกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษาไม่ดีจุลินทรีย์อาจเพิ่มจำนวนเกินเกณฑ์มาตรฐาน^(3, 4) ได้

ไอศกรีมที่ส่งโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (Post-marketing) พบมีคุณภาพทางจุลชีววิทยาดีกว่าไอศกรีมที่ส่งโดยผู้ผลิต (Pre-Marketing) สาเหตุอาจเนื่องจากไอศกรีมที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเก็บส่วนใหญ่เป็นไอศกรีมที่ผู้ผลิตมีการควบคุมคุณภาพและมีคุณภาพพร้อมที่จะจำหน่ายในท้องตลาดแล้ว ส่วนไอศกรีมที่ส่งโดยผู้ผลิตมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐานอาจเนื่องจากยังอยู่ในช่วงของการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อจะนำผลไปประกอบการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือตรวจสอบคุณภาพ ซึ่งถ้าไม่ได้มาตรฐาน^(1, 2) ผู้ผลิตสามารถแก้ไขกระบวนการผลิตให้ถูกต้องได้ก่อนที่จะนำไปจำหน่าย

สรุป

จากผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 354 พ.ศ. 2556 และฉบับที่ 364 พ.ศ. 2556^(1, 2) จำนวน 2 กลุ่ม จะเห็นได้ว่า ไอศกรีมกลุ่มแรก คือไอศกรีมหวานเย็น มีคุณภาพดีกว่าไอศกรีมกลุ่มที่สอง คือ ไอศกรีมนม ไอศกรีมดัดแปลงและไอศกรีมผสม ไอศกรีม ถ้ามีการควบคุมการปนเปื้อนข้ามของเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งต่างๆ ได้หรือควบคุมคุณภาพของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไอศกรีมให้มีปริมาณ *B.cereus* น้อยกว่ามาตรฐานกำหนด⁽²⁾ จะทำให้คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีมดีขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 354 (พ.ศ. 2556) เรื่องไอศกรีม. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 87 ง (วันที่ 26 มิถุนายน 2557)
2. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 364 (พ.ศ. 2556) เรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 130 ตอนพิเศษ 148 ง (วันที่ 31 ตุลาคม 2556)
3. Morton RD. Aerobic plate count. In: Downes FP, Ito K, editors. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th ed. Washington, DC: APHA; 2001. p. 63-70.
4. Feng P, Weagant SD, Grant MA. BAM: enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. [online] 2002 Sep [cited 2013 May 13]; [18 screens]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>
5. Bennett RW, Lancette GA. BAM: *Staphylococcus aureus*. [online] 2001 Jan [cited 2009 Dec 18]; [6 Screens]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>
6. ISO 6579. Microbiological of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva: International Organization for Standardization (ISO); 2002/Cor. 1:2004.
7. ISO 11290-1. Microbiological of food and animal feeding stuffs--Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* - Part 1: detection method. Geneva: International Organization for Standardization (ISO); 1996/Amd. 1:2004

8. Rhodehamel EJ, Harmon SM. BAM: *Bacillus cereus*. [online]. 2001 Jan; updated 2012 Feb [cited 2013 Apr 19]; [9 Screens]. Available from: URL: <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070875.htm>
 9. วัชรภรณ์ สุริยาภิวัฒน์. สถิติสำหรับวิทยาศาสตร์ชีวภาพ เล่ม 2. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2552. หน้า 212-5.
 10. ดวงดาว วงศ์สมมาตร, อติสร เสตวิวัฒน์, ลินี จันทระภูติรัตน์. คุณภาพทางจุลชีววิทยาของไอศกรีม. ว. กรมวิทย พ 2536; 35(3): 201-6.
 11. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 193 (พ.ศ. 2543) เรื่องวิธีการผลิตเครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร. ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 118 ตอนพิเศษ 6 ง (วันที่ 24 มกราคม 2544)
 12. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microbial ecology of foods, vol.1: factors affecting life and death of microorganisms. New York: Academic Press; 1982. p. 23-7.
 13. Jay JM. Modern food microbiology. 6th ed. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers; 2000. p. 169, 388.
-

Survey of the Microbiological Quality in Ice Cream

**Atchara Ukong Kamonwan Kantaeng Ratchadaporn Suwannarat
and Ladawan Chungsamanukool**

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

ABSTRACT In fiscal year during 2011-2013, Bureau of Quality and Safety of Food has successfully performed the microbiological quality testing on 375 samples, which were taken from manufacturers and randomly collected from the market in Bangkok and suburb by Food and Drug Administration of Thailand (Thai FDA). The samples were divided into two groups : edible ice. (92 samples) and milk ice cream, modified ice cream and mixed ice cream (283 samples). The results showed that 27 samples (7.20%) did not comply with the Notification of the Ministry of Public Health No. 354 B.E. 2556 (2013), Ice Cream, and No. 364 B.E. 2556 (2013), Food Standard as regards pathogens, due to the quantitation of total bacteria count and *Bacillus cereus* and the detection of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. (*Salmonella* serovar Weltevreden) were 7, 9, 7, 3 and 1 samples or 1.87, 2.40, 1.87, 0.80 and 0.27 percent respectively. When classifying these samples according to ice cream types, edible ice was 8 times better in microbiological quality than milk ice cream, modified ice cream and mixed ice cream, but the statistical evaluation was not significantly different at 0.05 ($p>0.05$). The relation between senders was found that the samples collected by Thai FDA higher in microbiological quality than those sent from manufacturers, the quality also was not statistically significant different at 0.05 ($p>0.05$).

Key words: ice cream, microbiological quality, Notification of the Ministry of Public Health.

การประเมินการได้รับสัมผัสของซัลเฟอร์ไดออกไซด์จากการบริโภคผักและผลไม้แห้งนำเข้าจากต่างประเทศของคนไทย พ.ศ. 2548-2557

จินตนา กิจเจริญวงศ์ และยุพเรศ เอื้อตรงจิตต์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และกลุ่มสารประกอบซัลไฟต์ถูกนำมาใช้เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์และป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในกระบวนการผลิตผักและผลไม้แห้งทำให้เก็บรักษาได้นานและนำรับประทาน ผักและผลไม้แห้งที่จำหน่ายในประเทศไทยส่วนใหญ่ผลิตและนำเข้าจากต่างประเทศ อาหารดังกล่าวอาจมีอันตรายต่อสุขภาพและความปลอดภัยของผู้บริโภคจากการได้รับซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มีอยู่ในปริมาณเกินค่าความปลอดภัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งต่อผู้ที่แพ้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และกลุ่มสารประกอบซัลไฟต์ ผู้วิจัยและคณะได้ทำการศึกษาปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผักและผลไม้แห้งที่นำเข้าจากต่างประเทศ ได้แก่ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพรวาน 621 ตัวอย่าง ระหว่างปี พ.ศ. 2548-2557 การตรวจวิเคราะห์ใช้ Modified Rankine's method ผลตรวจพบปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในช่วง 10-26,590 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่างมีปริมาณเกินข้อกำหนดถึงร้อยละ 34.0 ซึ่งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กำหนดปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในพืชผักผลไม้ชนิดแห้งและแช่อิ่มไม่เกิน 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผู้วิจัยและคณะได้ทำการศึกษาปริมาณการได้รับสัมผัสของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผักและผลไม้แห้งที่นำเข้าจากต่างประเทศโดยใช้ข้อมูลปริมาณการบริโภคเฉลี่ยของคนไทยในกลุ่มที่บริโภคอาหารกลุ่มนี้ (eater only) ร่วมกับข้อมูลปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ percentile ที่ 97.5 ในผักและผลไม้แห้งหลังลวกสุก ผลการศึกษาปริมาณการได้รับสัมผัสของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผักและผลไม้แห้งแต่ละชนิด พบว่า ปริมาณ SO_2 ที่คนไทยได้รับจากการบริโภค แต่ละชนิดไม่ก่อให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์ต่อร่างกาย นอกจากนี้ผู้วิจัยและคณะเสนอวิธีการลดปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผักและผลไม้แห้งระหว่างการปรุงอาหาร และดูแลความปลอดภัยของผู้บริโภค

บทนำ

การถนอมอาหารโดยใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (Sulfur dioxide, SO_2) จะเกิดปฏิกิริยาที่สมดุลระหว่าง SO_2 กับสารประกอบอื่นๆ ในอาหาร ได้แก่ อัลดีไฮด์ คีโตน และน้ำตาล ได้สารประกอบซัลไฟต์ ปฏิกิริยานี้สามารถย้อนกลับได้ ทำให้เกิด SO_2 และสารประกอบซัลไฟต์ ซึ่งสารชนิดใดจะเป็นหลักในอาหารจะขึ้นกับอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของอาหารนั้น โดยส่วนใหญ่จะให้สารประกอบซัลไฟต์⁽¹⁾ โดยสารกลุ่มนี้มีคุณสมบัติเป็น reducing agent สามารถช่วยลด redox potential ได้โดยตรง เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมสภาพ⁽²⁾ และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Clostridium botulinum* ได้⁽³⁾ นอกจากนี้มีผลป้องกันไม่ให้ผักและผลไม้แห้งที่มีสีอ่อนกลายเป็นสีน้ำตาล⁽⁴⁾ โดย SO_2 หรือสารประกอบซัลไฟต์ปริมาณเล็กน้อยก็สามารถหยุดการทำงานของเอนไซม์ peroxidase ไม่ให้ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ เนื่องจากเอนไซม์ peroxidase ในผักและผลไม้สามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนทำให้เกิดสีน้ำตาล หรือเรียกปฏิกิริยานี้ว่า browning reaction สารประกอบกลุ่มซัลไฟต์ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารมี 2 ชนิด คือ ชนิดที่เป็นสารเคมีที่อยู่ในรูปของแข็ง ได้แก่ โซเดียมหรือโพแทสเซียมซัลไฟต์ โซเดียมหรือโพแทสเซียมไบซัลไฟต์ โซเดียมหรือ โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ และก๊าซ SO_2 ⁽⁵⁾ ซึ่งใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร และในเครื่องดื่ม⁽⁶⁾ และยังพบว่ามีการใช้สารประกอบกลุ่มซัลไฟต์ในผักและผลไม้แห้ง เช่น เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพรรจีน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) ได้กำหนดค่าความปลอดภัยหรือค่า Acceptable Daily Intake (ADI) ที่ 0.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมของผู้บริโภคต่อวัน⁽¹⁾ ของการได้รับสาร SO_2 เข้าสู่ร่างกาย ซึ่งแม้ว่าสารกลุ่มซัลไฟต์จะถูกเอนไซม์ซัลไฟต์ออกซิเดส⁽⁷⁾ (ซึ่งมีอยู่ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและสัตว์ปีก) ออกซิไดส์และขับออกทางปัสสาวะ ถ้าได้รับในปริมาณมาก ร่างกายไม่สามารถขับออกหมด อาจทำให้เกิดอันตรายต่อร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยโรคหอบหืดหรือผู้ที่แพ้สารนี้ แม้ได้รับสารซัลไฟต์ปริมาณน้อย อาจก่อให้เกิดพิษแบบเฉียบพลันจะมีอาการหายใจขัด คลื่นไส้ อาเจียน เวียนหรือปวดศีรษะ อูจากระวัง เป็นลมพิษ ความดันโลหิตต่ำ หอบหืด อาจช็อกหมดสติ และเสียชีวิตได้⁽⁸⁾ จากรายงานในสหรัฐอเมริกาผู้ที่เป็โรคหอบหืดจะมีอาการแพ้สารซัลไฟต์ร้อยละ 5 และในผู้ที่ปกติจะมีอาการแพ้สารซัลไฟต์ร้อยละ 1⁽⁹⁾ ดังนั้นองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (U.S.FDA) จึงประกาศห้ามใช้ซัลไฟต์ในผักและผลไม้สดตั้งแต่ปี ค.ศ. 1986 และอาหารใดๆ ที่ผ่านกระบวนการผลิตพบสารซัลไฟต์ตั้งแต่ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมต้องแสดงฉลาก⁽⁸⁾ นอกจากนี้ยังห้ามใช้ในอาหารที่เป็นแหล่งของวิตามินบี 1 ด้วย เนื่องจากสาร SO_2 จะทำลายวิตามินบี 1⁽¹⁰⁾

ส่วนในประเทศไทย ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 281) พ.ศ. 2547 เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร มีการกำหนดปริมาณสูงสุดที่ให้ได้ดังนี้ ปริมาณ SO_2 ในพืชผักผลไม้ชนิดแห้งและแช่อิ่มไม่เกิน 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม⁽¹¹⁾ จากข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ SO_2 ในผักและผลไม้แห้งนำเข้าของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร ในปี พ.ศ. 2547 มีตัวอย่างที่ตรวจพบ SO_2 ตกค้างเกินข้อกำหนดร้อยละ 18 โดยเฉพาะดอกไม้จีนพบเกินข้อกำหนดถึงร้อยละ 60 ของผักและผลไม้แห้งนำเข้าที่ตรวจพบ SO_2 เกินข้อกำหนดทั้งหมด ผู้วิจัยและคณะจึงได้ทำการศึกษาปริมาณ SO_2 ตกค้างในผักและผลไม้แห้งนำเข้าระหว่างปี พ.ศ. 2548-2557 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ทราบถึงสถานการณ์การตกค้างของ SO_2 และประเมินความเสี่ยงของการได้รับสัมผัสสาร SO_2 ในอาหารของคนไทย

การดำเนินการหาปริมาณการตกค้างของ SO_2 ในงานวิจัยครั้งนี้ใช้วิธี Modified Rankine's method เนื่องจากเป็นวิธีง่าย ประหยัดเวลา และให้ค่า reproducibility และ recovery สูง หาปริมาณ combined sulphite compound ได้มากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ขณะตัวอย่างร้อน ใช้หลักการแทนที่อากาศโดยใช้ก๊าซเฉื่อยหรืออากาศเข้าไปแทนที่แล้วไตเตรทหาปริมาณ⁽¹²⁾ มีผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธี ดังนี้ ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection)

และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (limit of quantitation) เท่ากับ 6 และ 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ การควบคุมคุณภาพผลการวิเคราะห์ พบว่า % การคืนกลับ (recovery) มีค่าระหว่าง 80–110 %⁽¹³⁾, % RPD ของการทำซ้ำ (duplicate) ไม่เกิน 10% นอกจากนี้มีการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing) กับหน่วยงาน Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) ต่อเนื่องเป็นประจำทุกปี มีผลน่าพอใจ ($z < 2$) และได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน : โซเดียมไบซัลไฟต์ (NaHSO_3) ของบริษัท WAKO ที่มีปริมาณ SO_2 คิดเป็นร้อยละ 64.0–67.4 โดยน้ำหนัก

สารเคมี (AR grade): Absolute ethanol, Sodium hydroxide (NaOH), Hydrochloric acid (HCl), o-Phosphoric acid (H_3PO_4), Hydrogen peroxide (H_2O_2), Methyl red-methylene blue indicator และน้ำกรองเกรด HPLC

การเตรียมสารละลายมาตรฐานและสารเคมี

เตรียมสารละลายมาตรฐาน SO_2 เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร : จากการชั่ง NaHSO_3 170 มิลลิกรัม ละลายและปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ด้วย 0.1 N NaOH , เตรียม 25% (v/v) H_3PO_4 :

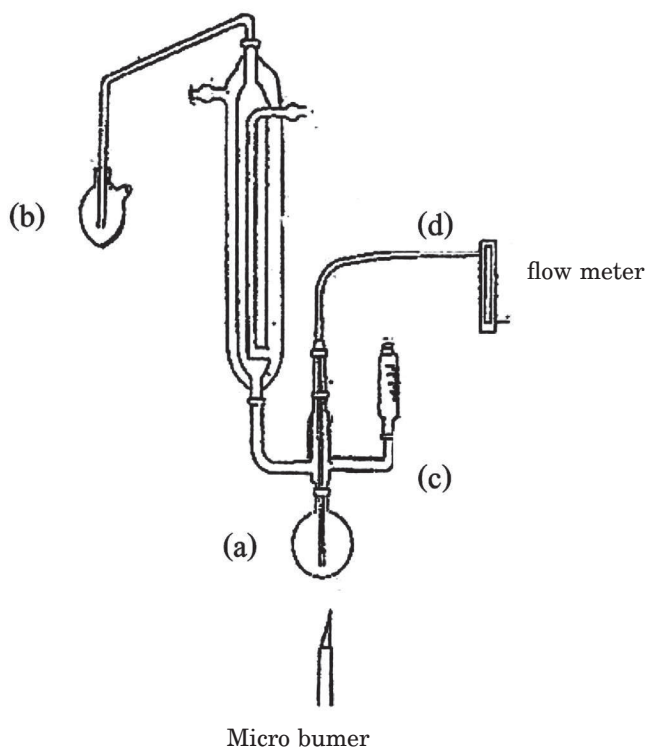
จากการเจือจาง 29.4 มิลลิลิตร ของ 85% H_3PO_4 ใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกรองเกรด HPLC, เตรียม 0.1 N และ 0.01 N NaOH : จากการเจือจาง 1 N และ 0.1 N NaOH 10 เท่าด้วยน้ำกรองเกรด HPLC, เตรียม 0.3% H_2O_2 (เตรียมใหม่ก่อนใช้งานทุกครั้ง) : จากการเจือจาง 30% w/v ของ H_2O_2 100 เท่าด้วยน้ำกรองเกรด HPLC และเตรียม Methyl red-methylene blue indicator: จากการชั่ง 100 มิลลิกรัม ของ methyl red และ 50 มิลลิกรัม ของ methylene blue ละลายและปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร ด้วย absolute ethanol

เครื่องมือและอุปกรณ์

Modified Rankine's apparatus⁽¹⁴⁾ ชนิดระบบปิด ประกอบด้วย ขวดก้นกลมคอยาว ขนาด 100 มิลลิลิตร (a), reflux condenser, distilled outlet, ขวดรูปลูกแพร์ชนิด 2 คอ ขนาด 50 มิลลิลิตร (b), ท่อต่อ 3 ทาง (c) และท่อนำก๊าซไนโตรเจน (d) ดังภาพที่ 1

โดยท่อต่อ 3 ทาง (c) เป็นจุดเชื่อมต่อจากขวดก้นกลมคอยาว (a) เข้ากับ 1) ท่อนำก๊าซไนโตรเจน (d) (ซึ่งต่อกับเครื่องวัดการไหลของไนโตรเจนขนาด 0.2–1.0 ลิตรต่อนาที), 2) กระบอกแก้วที่บรรจุ 25% H_3PO_4 10 มิลลิลิตร และ 3) reflux condenser ซึ่งต่อเข้ากับชุดกลั่นที่มี distilled outlet นำก๊าซที่กลั่นได้ไปสู่ขวดรูปลูกแพร์ (b)

การกลั่นใช้ตะเกียงเชื้อเพลิง และเครื่อง cooling circulator



ภาพที่ 1 Modified Rankine's apparatus

ตัวอย่างอาหาร

ตัวอย่างผักแห้งและผลไม้แห้งที่ตรวจวิเคราะห์ในการวิจัยครั้งนี้ รวม 621 ตัวอย่าง ได้แก่ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพโรจีน (พ.ศ. 2548-2557) เก็บตัวอย่างโดยสำนักด้านอาหารและยา

การเตรียมตัวอย่าง

1. การศึกษาปริมาณ SO_2 ตกค้าง เตรียมตัวอย่างโดยหั่นและนำไปปั่นอย่างรวดเร็วทันทีหลังแกะจากซองบรรจุจากนั้นนำไปแช่ ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Modified Rankine's method

2. การศึกษาหาสัดส่วนของน้ำหนักตัวอย่างหลังลวกสุกต่อตัวอย่างแห้ง เตรียมตัวอย่างเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ โดยหั่นตัวอย่างชนิดละ 100 กรัม แช่น้ำ 2 นาที นำไปลวกในน้ำเดือดประมาณ 2-3 นาที เมื่อสะเด็ดน้ำ ร่อนเย็นประมาณ 15 นาทีนำไปแช่ คำนวณสัดส่วนน้ำหนักตัวอย่างที่ลวกแล้วต่อตัวอย่างแห้ง สำหรับพุทราจีนซึ่งตัวอย่าง 100 กรัม แช่น้ำ 30 นาที แล้วนำไปลวกในน้ำเดือดนาน 30 นาที ร่อนเย็นประมาณ 30 นาที นำไปแช่ คำนวณสัดส่วนน้ำหนักตัวอย่างหลังลวกสุกต่อตัวอย่างแห้ง พบว่าสัดส่วนโดยน้ำหนักของตัวอย่างผักและผลไม้แห้งลวกสุกต่อน้ำหนักแห้งของเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ และพุทราจีน 100 กรัม เมื่อลวกสุกน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 720, 240, 730 และ 270 กรัมตามลำดับ คิดเป็นอัตราส่วน 7.2:1 2.4:1 7.3:1 และ 2.7:1 ตามลำดับ

การหา food processing factor

เนื่องจากข้อมูลปริมาณการบริโภคอาหารที่สำรวจโดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.) เป็นข้อมูลน้ำหนักอาหารสุก ส่วนข้อมูลการตกค้างตรวจวิเคราะห์ในอาหารดิบ ซึ่งในกระบวนการปรุงอาหารที่ใช้ความร้อนทำให้ปริมาณ SO_2 ลดลง

ดังนั้นจึงทำการทดลองเพื่อหา food processing factor โดยใช้ เห็ดหูหนูขาว และพุทราจีน เป็นตัวแทน นำตัวอย่างแห้ง และตัวอย่างหลังลวกด้วยน้ำร้อน มาวิเคราะห์หาปริมาณ SO_2 โดยวิธี Modified Rankine's method วิธีการลวกตัวอย่าง โดยการชั่งเห็ดหูหนูขาวประมาณ 3 กรัม แขน้ำ 2 นาที แล้วนำไปลวกในน้ำเดือดนาน 2-3 นาที รอจนสะเด็ดน้ำประมาณ 2 นาที และพุทราจีนประมาณ 1 กรัม แขน้ำ 30 นาที แล้วนำไปลวกในน้ำเดือดนาน 2 นาที ผึ่งให้แห้งประมาณ 2 นาที ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ $\mathbf{SO}_2$ นำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์การลดปริมาณ SO_2 ของเห็ดหูหนูขาวและพุทราจีนที่ลวกสุกเปรียบเทียบกับปริมาณ SO_2 ในตัวอย่างดิบพบว่าเห็ดหูหนูขาวมีปริมาณ SO_2 ลดลงร้อยละ 90 มีปริมาณ SO_2 ตกค้างร้อยละ 10 และพุทราจีน ปริมาณ SO_2 ลดลงร้อยละ 80 มีปริมาณ SO_2 ตกค้างร้อยละ 20 เมื่อนำร้อยละของปริมาณ SO_2 ตกค้าง มาคำนวณโดยหารด้วย 100 จะได้ food processing factor ของเห็ดหูหนูขาว ประมาณ 0.1 และพุทราจีน ประมาณ 0.2 ดอกไม้จีน และเยื่อไผ่ ใช้ food processing factor ค่าเดียวกับเห็ดหูหนูขาว

วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างที่เตรียมไว้ประมาณ 1-3 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน) ในขวดกันกลม (a) เติมน้ำกรอง 30 มิลลิลิตร เติม absolute ethanol 1 มิลลิลิตร แก้วและนำต่อเข้าสู่ตุลันทันที ซึ่งชุดกลั่นต้องเตรียมขวดรูปลูกแพร์ (b) ที่มีสารละลาย 0.3 % H_2O_2 10 มิลลิลิตร และเติม Methyl red-methylene blue indicator 1 หยด ได้สารละลายสีเขียวสำหรับดักเก็บไอสาร SO_2 ที่กลั่นได้ทำตัวอย่างให้เป็นกรดด้วย 10 มิลลิลิตรของ 25% H_3PO_4 กลั่นโดยใช้ความร้อนจากตะเกียงเป็นเวลา 30 นาที ขณะเดียวกันผ่านก๊าซไนโตรเจนปรับอัตราการไหล 500-600 มิลลิลิตรต่อนาที จากนั้นนำสารละลายที่เก็บได้ที่มีการเปลี่ยนเป็นสีม่วงไปไทเทรตกับ 0.01 หรือ 0.1 N NaOH ที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน แล้วจึงนำปริมาตรของ 0.01 หรือ 0.1 N NaOH ไปคำนวณหาปริมาณ SO_2 ในตัวอย่าง

การคำนวณ

1) การคำนวณปริมาณ SO_2 :

$$\text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ (mg/kg)} = \frac{(V \text{ NaOH} \times N \text{ NaOH} \times 32.03 \times 1000)^{(14)}}{W \text{ sample}}$$

$$\begin{aligned} \text{เมื่อ } V \text{ NaOH} &= \text{ปริมาตรของสารละลาย 0.01 หรือ 0.1 N NaOH (ml)} \\ N \text{ NaOH} &= \text{ความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลาย NaOH (Normal)} \\ W \text{ sample} &= \text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)} \\ 32.03 &= \text{Factor จากการที่ 1 ml ของ 1 N NaOH ทำปฏิกิริยาสมมูลกับ 32.03 mg ของ } \text{SO}_2 \text{ (1 ml ของ 0.01 N NaOH ทำปฏิกิริยาสมมูลกับ 0.3203 mg ของ } \text{SO}_2\text{)} \\ 1000 &= \text{Factor ของการเปลี่ยนหน่วยจาก g เป็น kg ของตัวอย่าง} \end{aligned}$$

2) การคำนวณปริมาณ SO_2 หลังจากปรุงสุกโดยใช้ food processing factor

$$\begin{aligned} \text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ (mg/kg หลังปรุงสุก)} &= \text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ (mg/kg ตัวอย่างแห้ง)} \times \text{food processing factor} \\ \text{food processing factor} &= 0.1 \text{ (เห็ดหูหนูขาว, ดอกไม้จีน, เยื่อไผ่)} \\ \text{food processing factor} &= 0.2 \text{ (พุทราจีน)} \end{aligned}$$

3) การคำนวณปริมาณ SO_2 ต่อน้ำหนักหลังปรุงสุก

$$\text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ (mg/kg ต่อน้ำหนักหลังปรุงสุก)} = \frac{\text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ (mg/kg หลังปรุงสุก)}}{\text{สัดส่วนน้ำหนักหลังปรุงสุก}}$$

สัดส่วนน้ำหนักหลังปรุงสุกต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม ของเห็ดหูหนูขาว, ดอกไม้จีน, เยื่อไผ่ และพุทราจีน คือ 7.2, 2.4, 7.3 และ 2.7

4) การประเมินการได้รับสัมผัสสารเข้าสู่ร่างกาย (exposure assessment): การประเมินการได้รับสัมผัสเป็นการประเมินเชิงปริมาณถึงความเป็นไปได้ที่ผู้บริโภคหนึ่งคนจะได้รับสาร SO_2 เข้าไปในร่างกายซึ่งต้องใช้ข้อมูลสำคัญ 2 ส่วน คือ 1) ข้อมูลการบริโภคอาหารประจำวันของคนไทยและน้ำหนักตัวเฉลี่ยของคนไทย ซึ่งได้จากข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทยของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (มกอช.)⁽¹⁵⁾ 2) ข้อมูลปริมาณ SO_2 ตกค้างได้จากการตรวจวิเคราะห์ผักและผลไม้แห้งแล้วนำมาคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัสของสาร SO_2 ที่บริโภคต่อวัน โดยใช้สมการ⁽¹⁵⁾ ดังนี้

$$\frac{\text{การได้รับสัมผัสทางการบริโภค}}{(\text{mg/kg b.w./วัน})} = \frac{\text{ปริมาณ } \text{SO}_2 \text{ ตกค้าง (mg/kg อาหาร)} \times \text{ปริมาณการบริโภค (g อาหาร/คน/วัน)}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยของคนไทย (b.w.)} \times 1000}$$

$$\text{น้ำหนักเฉลี่ยของคนไทย} = 54.53 \text{ kg}^{(15)}$$

ขั้นตอนการอธิบายลักษณะความเสี่ยง (risk characterization) เพื่ออธิบายความเสี่ยงว่าอยู่ที่ระดับใด โดยใช้ค่า margin of safety (MOS) ในการอธิบายคำนวณจาก⁽¹⁶⁾

$$\text{MOS} = \frac{\text{Exposure}}{\text{ADI}}$$

ADI สำหรับ SO_2 คือ 0.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักร่างกาย 1 กิโลกรัมของผู้บริโภคต่อวัน

โดย MOS น้อยกว่า 1 แสดงว่าปริมาณสารโดยเฉลี่ยที่ร่างกายได้รับไม่ก่อให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์, MOS มากกว่า 1 แสดงว่าปริมาณสารโดยเฉลี่ยที่ร่างกายได้รับเกินค่าความปลอดภัย⁽¹⁶⁾

ผล

ตัวอย่างผักและผลไม้แห้งนำเข้าจากต่างประเทศทั้งหมดผลิตและนำเข้าจากประเทศจีน ผลการวิเคราะห์ปริมาณ SO_2 ตกค้างในตัวอย่างที่เก็บในช่วงปี พ.ศ. 2548 – 2557 จำนวน 621 ตัวอย่าง จำแนกได้เป็น เห็ดหูหนูขาว 293 ตัวอย่าง ตรวจพบเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 168 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 57.3 (ตารางที่ 1) โดยพบปริมาณสูงสุดถึง 5,381 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าที่ percentile ที่ 97.5 เท่ากับ 1,449, 1,069 และ 4,767 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ดอกไม้จีน 131 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ตรวจพบเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 123 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 93.9 (ตารางที่ 1) โดยพบปริมาณสูงสุดถึง 26,590 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าที่ percentile ที่ 97.5 เท่ากับ 3,814, 2,214 และ 15,133 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เยื่อไผ่ 71 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ตรวจพบเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 37 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 52.1 (ตารางที่ 1) โดยพบปริมาณสูงสุดถึง 18,664 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าที่ percentile ที่ 97.5 เท่ากับ 6,140, 5,722 และ 15,846 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) พุทราจีน 33 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ตรวจพบเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 24 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 72.7 (ตารางที่ 1) โดยพบปริมาณสูงสุดถึง 3,130 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าที่ percentile ที่ 97.5 เท่ากับ 1,285, 983 และ 3,103 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สมุนไพรจีน ประกอบด้วยสมุนไพรจีนหลายชนิดรวมกัน ได้แก่ เกากี้ ตั้งเขียม ตั้งกฤษ์ ช่วยชั่ว แป๊ะเจี๊ยะ เก๊กเด๊ก จำนวน 93 ตัวอย่าง พบตัวอย่างที่ตรวจพบเท่ากับหรือมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จำนวน 92 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 98.9 (ตารางที่ 1) โดยพบปริมาณสูงสุดถึง 18,358 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน และค่าที่ percentile ที่ 97.5 เท่ากับ 2,149, 518 และ 11,291 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณที่ตรวจพบกับข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ที่กำหนดให้มีได้ 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่า ตัวอย่างเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพรจีนที่มี SO_2 เกินค่าความปลอดภัยถึงร้อยละ 25.6, 55.7, 38.0, 27.3 และ 30.1 ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผักและผลไม้แห้ง พ.ศ. 2548 - 2557 ชนิด

ชนิดตัวอย่าง	จำนวน ตัวอย่าง	ไม่พบและพบน้อยกว่า 10 mg/kg		พบเท่ากับหรือมากกว่า 10 mg/kg		พบเกินมาตรฐาน (มากกว่า 1,500 mg/kg)	
		ตัวอย่าง	ร้อยละ	ตัวอย่าง	ร้อยละ	ตัวอย่าง	ร้อยละ
เห็ดหูหนูขาว	293	125	42.7	168	57.3	75	25.6
ดอกไม้งั้น	131	8	6.1	123	93.9	73	55.7
เยื่อไผ่	71	34	47.9	37	52.1	27	38.0
พุทราจีน	33	9	27.3	24	72.7	9	27.3
สมุนไพรรจีน	93	1	1.1	92	98.9	28	30.1

ตารางที่ 2 ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ตรวจพบในผักและผลไม้แห้ง พ.ศ. 2548 - 2557

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณ SO ₂ (mg/kg)*				
	ค่าต่ำสุด	ค่าสูงสุด	ค่าเฉลี่ย	ค่ามัธยฐาน	ค่าที่ percentile ที่ 97.5
เห็ดหูหนูขาว	10	5,381	1,449	1,069	4,767
ดอกไม้งั้น	18	26,590	3,814	2,214	15,133
เยื่อไผ่	12	18,664	6,140	5,722	15,846
พุทราจีน	90	3,130	1,285	983	3,103
สมุนไพรรจีน	93	18,358	2,149	518	11,291

* ไม่รวมตัวอย่างที่ตรวจไม่พบและพบน้อยกว่า 10 mg/kg

เมื่อนำข้อมูลปริมาณ SO₂ ที่ percentile ที่ 97.5 (ตารางที่ 3) คือ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น และเยื่อไผ่ เท่ากับ 4,767, 15,133 และ 15,846 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ และพุทราจีน เท่ากับ 3,103 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มาคำนวณปริมาณ SO₂ ที่ตกค้างหลังจากการปรุงสุก โดยใช้ food processing factor ที่ได้จากการทดลอง (เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ เท่ากับ 0.1 และพุทราจีน เท่ากับ 0.2) จะได้ปริมาณ SO₂ ที่ตกค้างในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน เท่ากับ 477, 1,513, 1,584 และ 621 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และคำนวณปริมาณ SO₂ หลังจากการปรุงสุกโดยใช้สัดส่วนของน้ำหนักตัวอย่างหลังลวกสุกต่อตัวอย่างแห้ง (เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน เท่ากับ 7.2:1, 2.4:1, 7.3:1 และ 2.7:1 ตามลำดับ) จะได้ปริมาณ SO₂ ในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน ที่เท่ากับ 66, 630, 217 และ 230 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้นำสมุนไพรรจีนมาคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัส เนื่องจากใช้ปรุงอาหารในปริมาณน้อยและไม่นิยมรับประทานเนื้อ จึงมีความเสี่ยงต่อสุขภาพน้อย

ผลการคำนวณปริมาณการได้รับสัมผัส SO₂ จากการบริโภคอาหารได้จากการนำข้อมูลการบริโภคเฉลี่ยเฉพาะกลุ่มที่บริโภค (eater only) ของเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน เท่ากับ 43.76, 14.27, 56.03 และ 55.73 กรัมต่อคนต่อวัน⁽¹⁵⁾ คูณกับปริมาณ SO₂ ตกค้างในอาหารปรุงสุก ทารด้วยค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวของคนไทยพบว่าปริมาณการได้รับสัมผัส SO₂ จากการบริโภคเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน มีค่าเท่ากับ 0.05, 0.16, 0.22 และ 0.23 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่ออธิบายลักษณะความเสี่ยงด้วยค่า margin of safety (MOS) โดยนำปริมาณการได้รับสัมผัส SO₂ จากการบริโภคเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้งั้น เยื่อไผ่ และพุทราจีน มาเปรียบเทียบกับค่า ADI (เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว

1 กิโลกรัมต่อวัน) พบว่า มีค่าน้อยกว่า 1 (ตารางที่ 3) หากบริโภคอาหารที่มี SO_2 ตกค้าง พร้อมกันทั้งหมด ในวันเดียว ปริมาณการได้รับสัมผัส SO_2 รวม เท่ากับ 0.68 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน (ตารางที่ 3) เมื่ออธิบายลักษณะความเสี่ยงด้วยค่า margin of safety (MOS) โดยนำปริมาณการได้รับสัมผัส SO_2 รวม มาเปรียบเทียบกับค่า ADI (เท่ากับ 0.7 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน) พบว่ามีค่าใกล้เคียง 1 มาก (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 การประเมินการได้รับสัมผัสของ SO_2 จากการบริโภคผักและผลไม้แห้งนำเข้าของคนไทย

ชนิดตัวอย่าง	ปริมาณ SO_2 ที่พบ ^{a)} (mg/kg)	ปริมาณ SO_2 หลังปรุงสุก (mg/kg)	ปริมาณ SO_2 ต่อน้ำหนักหลังปรุงสุก (mg/kg)	ปริมาณอาหารที่บริโภค ^{b)} (g/person/day)	ปริมาณ การได้รับสัมผัส (mg/kg b.w./day)	MOS
เห็ดหูหนูขาว	4,767	477	66	43.76	0.05	0.07
ดอกไม้จีน	15,133	1,513	630	14.27	0.16	0.23
เยื่อไผ่	15,846	1,584	217	56.03	0.22	0.31
พุทราจีน	3,103	621	230	55.73	0.23	0.33
รวม					0.68	0.97

a) ปริมาณการตกค้างของ SO_2 ในอาหารที่ percentile ที่ 97.5

b) ปริมาณการบริโภคเฉลี่ยของกลุ่ม eater only

วิจารณ์

การศึกษาวิจัยเพื่อประเมินการได้รับสัมผัสของ SO_2 จากการบริโภคผักและผลไม้แห้งนำเข้าประกอบ ด้วย 3 ปัจจัย ได้แก่ ข้อมูลการบริโภคอาหารประจำวันของคนไทย น้ำหนักตัวเฉลี่ยของคนไทยและข้อมูลปริมาณ SO_2 ตกค้าง ผลการศึกษาการตกค้างของ SO_2 ในผักและผลไม้แห้ง เริ่มดำเนินการปี พ.ศ. 2548 และสำนักงาน คณะกรรมการอาหารและยา โดยสำนักด้านอาหารและยา ได้เก็บตัวอย่างผักและผลไม้แห้งนำเข้า ส่งตรวจวิเคราะห์ ที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ตลอดมา พบว่า ปริมาณ SO_2 ที่พบเกินข้อกำหนดในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน มีปริมาณสูง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการแจ้งเตือนภัยถึงผลกระทบที่เป็นโทษต่อการบริโภคผักและผลไม้แห้ง นำเข้าที่มี SO_2 ตกค้าง ในปี พ.ศ. 2549 และจากการสำรวจทัศนคติของผู้ซื้อในตลาดขนาดใหญ่หลายแห่งผู้บริโภค นิยมซื้อผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้แห้งที่มีสีขาวและสีส้มสดใส ซึ่งมีโอกาสที่จะได้รับ SO_2 ในปริมาณสูง จึงทำการศึกษา การได้รับสัมผัสของ SO_2 ในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ และพุทราจีน เพื่อเป็นการสื่อสารให้ผู้บริโภคทราบถึง ความเสี่ยงที่อาจได้รับ

ผู้วิจัยและคณะจึงได้ทำการศึกษารับสัมผัสของ SO_2 ที่เข้าสู่ร่างกายโดยการรับประทานอาหารของ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ และพุทราจีน หลังปรุงสุก เนื่องจากการตรวจวิเคราะห์ SO_2 จะตรวจวิเคราะห์ ตัวอย่าง ตามสภาพที่ได้รับคือ อาหารแห้ง เมื่อคำนวณสัดส่วนน้ำหนักตัวอย่างที่สุกแล้วต่อตัวอย่างแห้ง ของเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ และพุทราจีน คิดเป็นอัตราส่วน 7.2:1, 2.4:1, 7.3:1 และ 2.7:1 ตามลำดับ การศึกษารับสัมผัสของ SO_2 ต้องใช้ข้อมูลปริมาณการบริโภคที่เป็นข้อมูลอาหารที่มีลักษณะสุกแล้ว แต่ข้อมูลปริมาณ SO_2 ที่ตรวจพบได้จากตัวอย่าง ที่จำหน่ายเป็นอาหารแห้ง ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาปริมาณ SO_2 ก่อนและหลังการปรุงสุก ทำให้ทราบถึงปริมาณ SO_2 ที่ลดลง โดยปริมาณ SO_2 ในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน และเยื่อไผ่ หลังลวกสุก พบว่าลดลงร้อยละ 90 และปริมาณ SO_2 ในพุทราจีน หลังลวกสุก พบว่าลดลงร้อยละ 80 food processing factor ของเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ประมาณ 0.1 และพุทราจีน ประมาณ 0.2 และสามารถกำหนดวิธีการที่เหมาะสมในการลดปริมาณ SO_2 เพื่อให้คำแนะนำ วิธีการปรุงอาหารให้ปลอดภัย ตัวอย่างผักและผลไม้แห้งที่นำมาศึกษาวิจัยครั้งนี้ ได้แก่ เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน

เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพรจีนที่นิยมนำมาปรุงอาหาร คึกหาระหว่าง ปี พ.ศ. 2548-2557 ซึ่งเป็นช่วงที่เริ่มมีการค้าเสรีและกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้มีการแจ้งเตือนภัยและแนวโน้มความเสี่ยงจากการบริโภคผักและผลไม้แห้ง เมื่อนำข้อมูลค่าปริมาณการบริโภคของคนไทยเฉลี่ยของกลุ่ม eater only แต่ละชนิดต่อคนต่อวันในเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เห็ดอื่น ๆ (แทนเยื่อไผ่ เนื่องจากเยื่อไผ่ คือเห็ดชนิดหนึ่ง) ที่ลวกสุก และผักทองเชื่อม (เนื่องจากพฤติกรรมการบริโภคเหมือนกับพุทราจีน) นำมาใช้คำนวณหาปริมาณที่ได้รับสัมผัสจากการบริโภค ร่วมกับปริมาณ SO_2 ในอาหารค่าที่ percentile ที่ 97.5 ที่ลดลงหลังลวกสุก และใช้น้ำหนักคนไทยเฉลี่ย 54.53 กิโลกรัม พบว่าปริมาณการได้รับสัมผัสสาร SO_2 ในผักและผลไม้แห้งนำเข้าแต่ละชนิด ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่า ADI กล่าวคือ ปริมาณ SO_2 ที่คนไทยได้รับจากการบริโภค แต่ละชนิดไม่ก่อให้เกิดผลที่ไม่พึงประสงค์ต่อร่างกาย อย่างไรก็ตาม สำหรับผู้บริโภคบางกลุ่ม ได้แก่ กลุ่มผู้รับประทานอาหารเจหรือมังสะวิรัต มีการบริโภคอาหารที่ปรุงจากผักและผลไม้แห้งดังกล่าว ก็อาจเกิดผลที่ไม่พึงประสงค์ต่อร่างกายจาก SO_2 ได้ เนื่องจากปริมาณการได้รับสัมผัสจากการบริโภครวมต่อวัน มีค่าใกล้เคียงค่า ADI กล่าวคือ MOS เข้าใกล้ 1 และจากการศึกษาขั้นตอนการลดปริมาณ SO_2 ตกค้างในผักและผลไม้แห้งนำเข้าก่อนปรุงอาหาร เป็นที่น่าสังเกตว่าการล้างและลวกน้ำเดือดเป็นเวลา 2-3 นาที จะช่วยให้ปริมาณ SO_2 ตกค้างลดลงได้ถึงร้อยละ 80-90 หากผู้บริโภคใช้เวลาการลวกในน้ำเดือดให้นานขึ้น ก็จะทำให้ SO_2 ตกค้างลดลงอีกด้วย

ในการปรุงอาหารของคนไทยที่นิยมนำ สมุนไพรจีน ได้แก่ เกากี้ ตังเซียม ตังกุย ฮ่วยซัว แป๊ะเจี๊ยะ เจ็กเต็ก และพุทราจีน ซึ่งใช้เป็นสมุนไพรบำรุงร่างกายและรักษาโรคตามตำรับยาจีน โดยนำไปปรุงอาหารร่วมกับเห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ จากการศึกษาพบว่า เกากี้ ตังเซียม ตังกุย ฮ่วยซัว แป๊ะเจี๊ยะ เจ็กเต็ก มี SO_2 ตกค้างสูง แต่เนื่องจากใช้ปรุงอาหารในปริมาณน้อย และไม่นิยมนำรับประทานเนื้อ จึงมีความเสี่ยงต่อสุขภาพน้อย ยกเว้นพุทราจีนที่นิยมนำรับประทานเนื้อ จึงควรล้างน้ำเพื่อลดปริมาณก่อนปรุง และควรมีการบริโภคที่หลากหลาย

สรุป

จากผลการศึกษาพบว่า เห็ดหูหนูขาว ดอกไม้จีน เยื่อไผ่ พุทราจีน และสมุนไพรจีน มีตกค้าง SO_2 ในปริมาณสูง ควรได้มีการแจ้งเตือนภัยให้ประชาชนทราบอย่างต่อเนื่องทุกปีโดยหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ควรมีการดูแลโดยทั่วถึงทั้งก่อนจำหน่ายและหลังจำหน่ายภายในประเทศ การนำเสนอผลการวิจัยปริมาณได้รับสัมผัสของ SO_2 จากการบริโภคผักและผลไม้แห้งนำเข้า เพื่อเป็นการสื่อสารให้ผู้บริโภคทราบถึงความปลอดภัย ในการบริโภคผักและผลไม้แห้งเมื่อปรุงสุก แม้ว่าปริมาณ SO_2 ที่ร่างกายได้รับสัมผัสในผักและผลไม้แห้งนำเข้าแต่ละชนิดไม่ก่อให้เกิดผลไม่พึงประสงค์ต่อร่างกาย แต่ควรระมัดระวังโดยเฉพาะกลุ่มเด็ก ผู้สูงอายุและกลุ่มผู้ป่วยโรคหอบหืดหรือแพ้สารนี้ การปรุงอาหารรับประทานเองจะช่วยให้ผู้บริโภคสามารถลดปริมาณ SO_2 ลงได้โดยการลวกผักและผลไม้แห้งก่อนการปรุงอาหาร และการเลือกซื้อวัตถุดิบที่น่าเชื่อถือ เช่น มีสีไม่ขาวมากหรือสีสดจนเกินไป อ่านฉลากเพื่อดูข้อมูลการใช้วัตถุดิบเสีย และวันหมดอายุ เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณลัดดาวัลย์ ไรจนพรรณทิพย์ อดีตผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และคุณจันทร์ฉาย แจ้งสว่าง อดีตนักวิทยาศาสตร์การแพทย์ทรงคุณวุฒิด้านเคมีที่ช่วยแนะนำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. International Programme on Chemical Safety. Sulfur dioxide and sulfites. Seventeenth report of the joint FAO/WHO expert committee on food additives; 1973 Jun. 25 – Jul. 4; Geneva, Switzerland: World Health Organization Technology; 1974.
2. Luck E, Jager M. Antimicrobial food additives: characteristics, users, effects. 2nd ed. New York: Springer Verlag; 1997.
3. ศุภชัย เนื่อนวลสุวรรณ. ความปลอดภัยของอาหาร Food safety. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2552.
4. Lee CY, Whitaker JR. Enzymatic browning and its prevention (ACS symposium series 600). Washington, DC: American Chemical Society; 1995. p. 55-56, 315.
5. Chapter 1 – Food and drug administration, Department of Health and Human Services (continued). In: National Archives and Record & Administration. CFR – Code of federal regulations title 21: food and drugs. Washington, DC: US Government Printing Office; 2012. p. 333.
6. Lester MR. Sulfite sensitivity: significance in human health. J Am Coll Nutr 1995; 14(3): 229-32.
7. Kisker C. Sulfite oxidase. In: Messerschmidt A, Huber R, Poulos T, Wieghardt K, editors. Handbook of metalloproteins. New York: John Wiley & Sons; 2001. p.1121-35.
8. Grotheer P, Marshall M, Simonne A. Sulfites: separating fact from fiction. University of Florida IFAS Extension [online]. 2011 Mar [cited 2014 May 6]; [5 screens]. Available from: URL: <http://edis.ifas.ufl.edu/fy731>
9. Knodel LC. Current issues in drug toxicity: potential health hazards of sulfites. Toxic Subst Mech 1997; 16(3): 309-11.
10. Sulfites-USA. Food Allergy Research and Resource Program, University of Nebraska-Lincoln [online]. 2014 [cited 2014 May 21]; [4 screens]. Available from: URL: <http://farrp.unl.edu/sulfites-usa>
11. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 เรื่องข้อกำหนดการใช้วัตถุเจือปนอาหาร ฉบับที่ 2 (พ.ศ. 2549) ราชกิจจานุเบกษา เล่มที่ 123 ตอนพิเศษ 105 ง (วันที่ 6 ตุลาคม 2549).
12. Fujita K, et al. Establishment of a modified rankine method for the separate determination of free and combined sulphites in Foods. Z. Lebensm Unters Forsch 1979; 168: 206-11.
13. ทิพวรรณ นิ่งน้อย. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2549.
14. Yoshio I. Analytical methods of food additives from various food . In: Food sanitation in Japan. Tokyo, Japan: Japan International Cooperation Agency (JICA); 1981. p17-A-24.
15. สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. ข้อมูลการบริโภคอาหารของประเทศไทย. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2549.
16. International Council on Mining & Metals. HERAG 08, Health risk assessment guidance for metals [online]. 2007 [cited 2014 May 27]; [15 screens]. Available from: URL: <http://www.icmm.com/document/268>

The Exposure Assessment of Sulfur Dioxide Intake from Imported Dried Vegetable and Fruit in Thai Populations 2005 – 2014

Jintana Kitcharoenwong and Yuparaid Uetrongchit

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

ABSTRACT Sulfur dioxide and sulfite are frequently used for reducing microorganisms and preventing browning reaction in food processing. Dried vegetable and fruit, which are the favorite food for Thai consumers, are mostly produced and imported from abroad. Due to residue of sulfur dioxide, intake of these vegetables may be harmful for consumers. In this study, 621 samples of dried vegetable and fruit were collected from 2005 to 2014 and sulfur dioxide was determined by using Modified Rankine's method. Sulfur dioxide was found in the range of 10 to 26,590 mg/kg. While Thai FDA regulation for sulfur dioxide was not more than 1,500 mg/kg, 34.0% of the samples did not conformed to the regulation. The exposure assessment of sulfur dioxide intake in Thai population was also studied. The result showed that sulfur dioxide intake using concentrations of sulfur dioxide at 97.5 percentile and average weight of food consumed in eater only group were lower than ADI. Moreover, cooking method for reducing sulfur dioxide has been proposed, in this paper, in order to promote consumer's food safety in Thailand.

Key words: exposure assessment, sulfur dioxide, dried vegetable and fruit.

การสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุม การให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล

วันเพ็ญ ดวงสว่าง พรเทพ จันทรคุณภาส และสถาพร กล่อมแก้ว
สำนักงัรสีและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ สำนักงัรสีและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ดำเนินการสุ่มสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล 4 แห่ง จากจังหวัดสระแก้ว สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ระหว่างเดือนมกราคม ถึงพฤษภาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 162 เครื่อง โดยวิธีการทดสอบคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ ตามมาตรฐานสากล Emergency Care Research Institute (ECRI) Procedure/Checklist 416-0595 : 1995 และ International Electrotechnical Commission (IEC) 60601-2-24 : 1998 ซึ่งมีรายการที่จำเป็นในการทดสอบ ได้แก่ แบตเตอรี่ การตรวจจับฟองอากาศในสาย ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย การตรวจจับการอุดตันของสาย และ อัตราการไหลของสารละลาย จากผลการทดสอบในครั้งนี้พบว่าเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำผ่านเกณฑ์ การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 107 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 66 และไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐาน จำนวน 55 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 34 โดยจากผลจะพบรายการทดสอบที่ไม่ผ่านเกณฑ์เกิดจากสาเหตุ ดังนี้ คือ แบตเตอรี่เสื่อม อัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูง เซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาด เซ็นเซอร์ การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาด และระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน ซึ่งเครื่อง ควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำเป็นเครื่องมือแพทย์ที่มีความเสี่ยงสูง เนื่องจากใช้งานกับผู้ป่วยโดยตรง ดังนั้น โรงพยาบาลและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรตรวจสอบคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำอย่างสม่ำเสมอ เพื่อความปลอดภัยของผู้ป่วย

บทนำ

เครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ (Infusion pump) เป็นเครื่องมือแพทย์ที่นำมาใช้ในโรงพยาบาล ถูกออกแบบมาเพื่อใช้ควบคุมการให้ยาความเสี่ยงสูง (High Alert Drugs) และสารละลายที่ให้เข้าสู่ร่างกายของผู้ป่วยทางหลอดเลือดดำ (intravenous) ซึ่งในบางกรณีอาจมีการให้สารละลายบางชนิดทางใต้ผิวหนัง (subcutaneous) ไขสันหลัง (epidural) และระบบทางเดินอาหาร (enteral)⁽¹⁾

วิธีการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ จะใช้งานร่วมกับชุดให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ (Intravenous set หรือ IV set) โดยในปัจจุบันมีหลักการให้สารละลายหลายวิธี เช่น การควบคุมอัตราการไหลของสารละลายโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก (gravity controllers) ควบคุมโดยการบีบที่ตัวสาย IV set และการใช้เครื่องควบคุมอัตราการไหลของสารละลายแบบ Positive pumping เป็นกลไกการควบคุมอัตราการไหลของสารละลาย⁽²⁾ ซึ่งเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ ชนิดที่ใช้ในโรงพยาบาลอย่างแพร่หลาย ได้แก่ Drop-counting pumps ใช้หลักการนับจำนวนหยดของสารละลาย Volumetric pumps ใช้หลักการคำนวณปริมาตรของสารละลาย ซึ่งเครื่องทั้งสองชนิดจะควบคุมการให้สารละลายในปริมาณที่คงที่และต่อเนื่องตามระยะเวลาที่กำหนด ใช้วิธีการส่งผ่านสารละลายด้วยการรีดสาย IV set ในลักษณะนี้วกดไล่เรียงกันไป (linear peristaltic)

เครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ เป็นเครื่องมือแพทย์ที่มีความเสี่ยงสูงเนื่องจากใช้งานกับผู้ป่วยโดยตรง หากเครื่องควบคุมอัตราการไหลของสารละลาย ที่ให้ในแต่ละครั้งไม่ถูกต้องแม่นยำ ไม่มีระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย (Free flow protection) อาจส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับสารละลายเกินขนาดหรืออัตราการไหลที่เร็วเกินไป จนร่างกายดูดซึมไม่ทัน ซึ่งอาจทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะหัวใจล้มเหลว (Heart failure) ปอดบวม (Pulmonary edema)⁽³⁾ หรือภาวะความดันโลหิตสูง (Hypertension) เกิดขึ้นได้⁽⁴⁾ นอกจากนี้ หากระบบการเตือนการอุดตันของสาย (Occlusion alarm) ไม่มีสัญญาณเสียงเตือนดังขึ้นเมื่อเกิดแรงดันในสายเกินค่ามาตรฐาน อาจทำให้เกิดการรั่วของสารละลายออกนอกหลอดเลือดดำของผู้ป่วย และหากระบบการตรวจจับฟองอากาศภายในสาย (Air in line) ไม่สามารถตรวจจับฟองอากาศได้ อาจทำให้ฟองอากาศเข้าไปในหลอดเลือดดำ (Air Embolism) และอาจเข้าไปอุดตัน หรือปิดกั้นบริเวณอวัยวะสำคัญของผู้ป่วย จนเป็นอันตรายถึงขั้นเสียชีวิตได้⁽⁴⁾ สำหรับแบตเตอรี่ก็มีความจำเป็นต่อการทำงานของเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ เนื่องจากบางครั้งพยาบาลจะต้องเคลื่อนย้ายผู้ป่วยหรือผู้ป่วยมีเหตุจำเป็นต้องออกไปข้างนอกห้องผู้ป่วย ดังนั้น แบตเตอรี่ต้องมีพลังงานสำหรับให้เครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำสามารถทำงานได้ตามปกติ

สำนักวิจัยและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล็งเห็นความจำเป็นที่ต้องตรวจสอบคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ จึงดำเนินการสุ่มสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำที่ใช้งานในโรงพยาบาล 4 แห่ง จากจังหวัดสระแก้ว สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ระหว่างเดือน มกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 162 เครื่อง โดยทดสอบคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำตามวิธีการที่กำหนดโดยมาตรฐานสากล Emergency Care Research Institute (ECRI) Procedure/Checklist 416-0595 : 1995⁽⁵⁾ และ International Electrotechnical Commission (IEC) 60601-2-24 : 1998⁽⁶⁾ ซึ่งมีรายการที่จำเป็นในการทดสอบ ได้แก่ แบตเตอรี่ (Battery) การตรวจจับฟองอากาศในสาย (Air in line) ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย (Free Flow Protection) การตรวจจับการอุดตันของสาย (Occlusion alarm) และอัตราการไหลของสารละลาย (Flow rate)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำข้อมูลผลการทดสอบที่ได้จากการสุ่มสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาลทั้ง 4 แห่ง มาประเมินความเสี่ยงต่อความปลอดภัยของผู้ป่วย และเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการจัดทำคู่มือขั้นตอนการปฏิบัติงานมาตรฐานวิธีการทดสอบเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ (Standard Procedures for Testing of Infusion Pumps)⁽⁷⁾ เพื่อให้โรงพยาบาลและหน่วยงานที่เกี่ยวข้องสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การสุ่มสำรวจครั้งนี้เลือกโรงพยาบาลที่สะดวกให้เข้าสุ่มสำรวจ ซึ่งเป็นโรงพยาบาลในจังหวัดสระแก้ว สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ รวม 4 แห่ง และสุ่มตัวอย่างเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำตามความสะดวกของโรงพยาบาลแต่ละแห่ง ระหว่างเดือนมกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 ได้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 162 เครื่อง จำแนกเป็น

- โรงพยาบาลที่ 1 จำนวน 13 เครื่อง
- โรงพยาบาลที่ 2 จำนวน 24 เครื่อง
- โรงพยาบาลที่ 3 จำนวน 51 เครื่อง
- โรงพยาบาลที่ 4 จำนวน 74 เครื่อง

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า ยี่ห้อ Sartorius ความละเอียด 0.1 มิลลิกรัม
2. นาฬิกาจับเวลา ความละเอียด 1 วินาที
3. กระบอกตวง ขนาด 50 มิลลิลิตร ความละเอียด 1 มิลลิลิตร
4. กระบอกฉีดยาอินซูลินชนิด U-100 ขนาด 0.5 มิลลิลิตร
5. เกจวัดความดัน (Pressure gauge) พิสัย 0 - 1,500 มิลลิเมตรปรอท
6. ชุดให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ (IV set) ขนาด 15 drops และ 20 drops

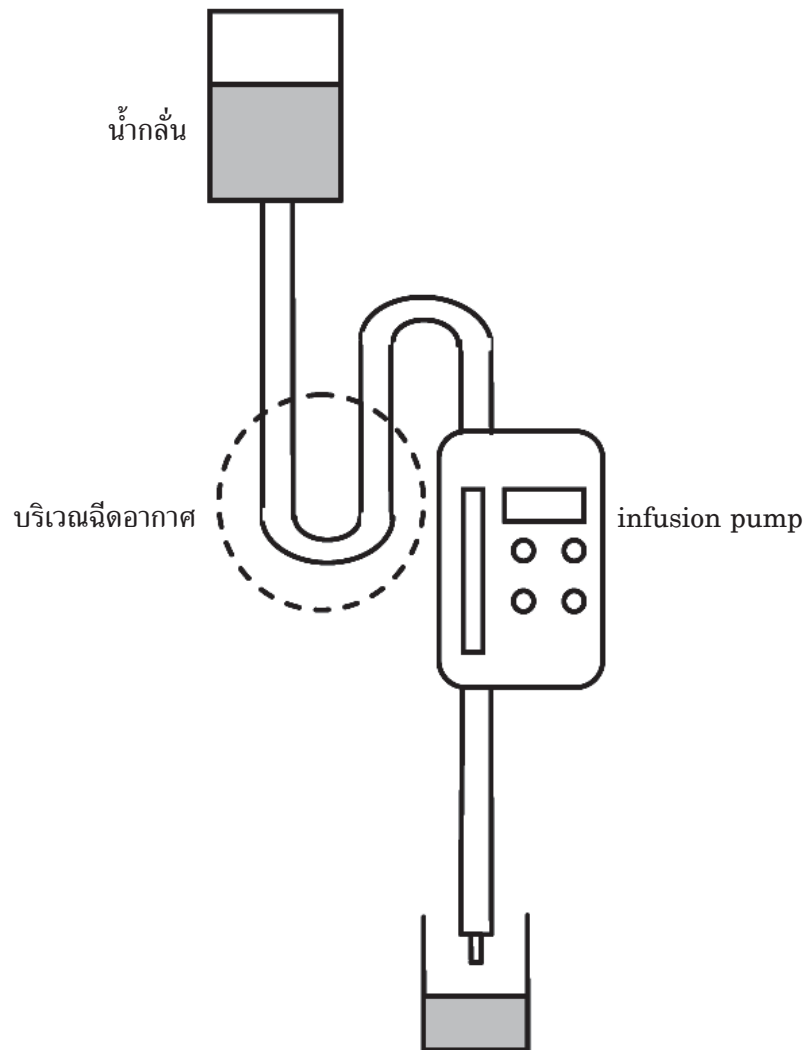
เกณฑ์การยอมรับผลทดสอบ

1. แบตเตอรี่ ต้องทำงานได้ต่อเนื่อง ไม่น้อยกว่า 30 นาที
2. การตรวจจับฟองอากาศในสาย ฉีดอากาศเข้าสาย IV set ปริมาตร 100 ไมโครลิตร สัญญาณเสียงเตือน ต้องดังเมื่อฟองอากาศไหลผ่านตัวเครื่อง
3. ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย
 - 3.1 โหมด Power on ต้องไม่มีการหยุดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set
 - 3.2 โหมด Open door ต้องมีสัญญาณเสียงเตือน และต้องไม่มีการหยุดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set
 - 3.3 โหมด Close door ต้องไม่มีการหยุดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set
4. การตรวจจับการอุดตันของสาย เมื่อเกิดการอุดตันในระบบ จะต้องมียุทธศาสตร์เสียงเตือนที่แรงดันไม่เกิน 1,000 มิลลิเมตรปรอท
5. อัตราการไหล ต้องมีค่าความผิดพลาดไม่เกิน $\pm 10\%$ จากค่าที่ตั้ง

วิธีการ

1. แบตเตอรี่
 - ทำการตรวจสอบที่อัตราการไหลมากกว่าหรือเท่ากับ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง
2. การตรวจจับฟองอากาศในสาย

- 2.1 ติดตั้ง IV set ร่วมกับเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ
- 2.2 เริ่มการทำงานของเครื่องที่อัตราการไหล 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง
- 2.3 สูดอากาศเข้ากระบอกฉีดอินซูลินปริมาตร 10 ยูนิต (เทียบเท่ากับ 100 ไมโครลิตร)
- 2.4 ฉีดอากาศเข้าสาย IV set ตรงบริเวณที่กำหนด และสังเกตสัญญาณเสียงเตือน (ภาพที่ 1)



(ที่มา : คู่มือขั้นตอนการปฏิบัติงานมาตรฐานวิธีการทดสอบเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ)

ภาพที่ 1 การทดสอบการตรวจจับฟองอากาศในสาย

3. ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย

- 3.1 ติดตั้ง IV set ร่วมกับเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ โดยให้ภาชนะใส่สารละลาย มีระดับสูงกว่าตัวเครื่องประมาณ 1 เมตร หรือตามคู่มือของเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในแต่ละรุ่น
- 3.2 ทดสอบ โหมด Power on
 - กดปุ่ม Power เพื่อเปิดเครื่องโดยยังไม่กดปุ่ม start หลังจากนั้นเปิด roller clamp ที่สาย IV set
 - สังเกตว่าต้องไม่มีการหยดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set

3.3 ทดสอบ โหมด Open door

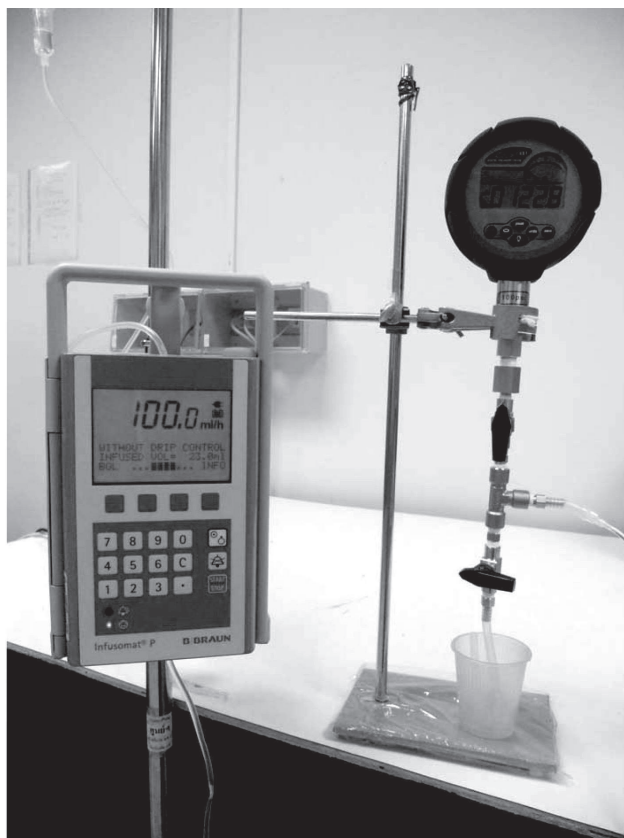
- กำหนดให้เครื่องทำงานที่อัตราการไหล 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง เป็นเวลา 30 วินาที ก่อนทำการทดสอบ
- เปิดประตูเครื่องขณะที่เครื่องกำลังทำงาน
- สังเกตสัญญาณเสียงเตือนต้องดัง และต้องไม่มีการหยุดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set

3.4 ทดสอบ โหมด Close door

- ปิดประตูเครื่อง
- สังเกตว่าต้องไม่มีการหยุดของสารละลายภายใน drip chamber และที่ปลายสายของ IV set

4. การตรวจจบการอุดตันของสาย

- 4.1 ติดตั้งระบบพร้อมใช้งาน โดยต้องให้ระดับของเกจวัดความดัน (เกจวัดความดันต้องมีน้ำบรรจุไว้เต็ม) และเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำอยู่ในระดับเดียวกัน (ภาพที่ 2)
- 4.2 เปิด valve เพื่อ drain น้ำและไล่อากาศออกจากสายยาง
- 4.3 กำหนดอัตราการไหลของเครื่องที่ 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง
- 4.4 กดปุ่ม start เพื่อเริ่มการทำงานของเครื่อง
- 4.5 เมื่อน้ำไหลออกจากท่อ drain แล้วให้ปิด valve ทันที
- 4.6 สังเกตค่าที่อ่านได้จากเกจวัดความดัน ขณะที่เครื่องมีสัญญาณเสียงเตือนดังขึ้น
- 4.7 บันทึกค่าสูงสุดที่อ่านได้จากเกจวัดความดัน
- 4.8 Reset เครื่องเพื่อเริ่มการทำงานและทำซ้ำข้อ 4.2 - 4.7 จนได้ข้อมูลครบ 3 ครั้ง



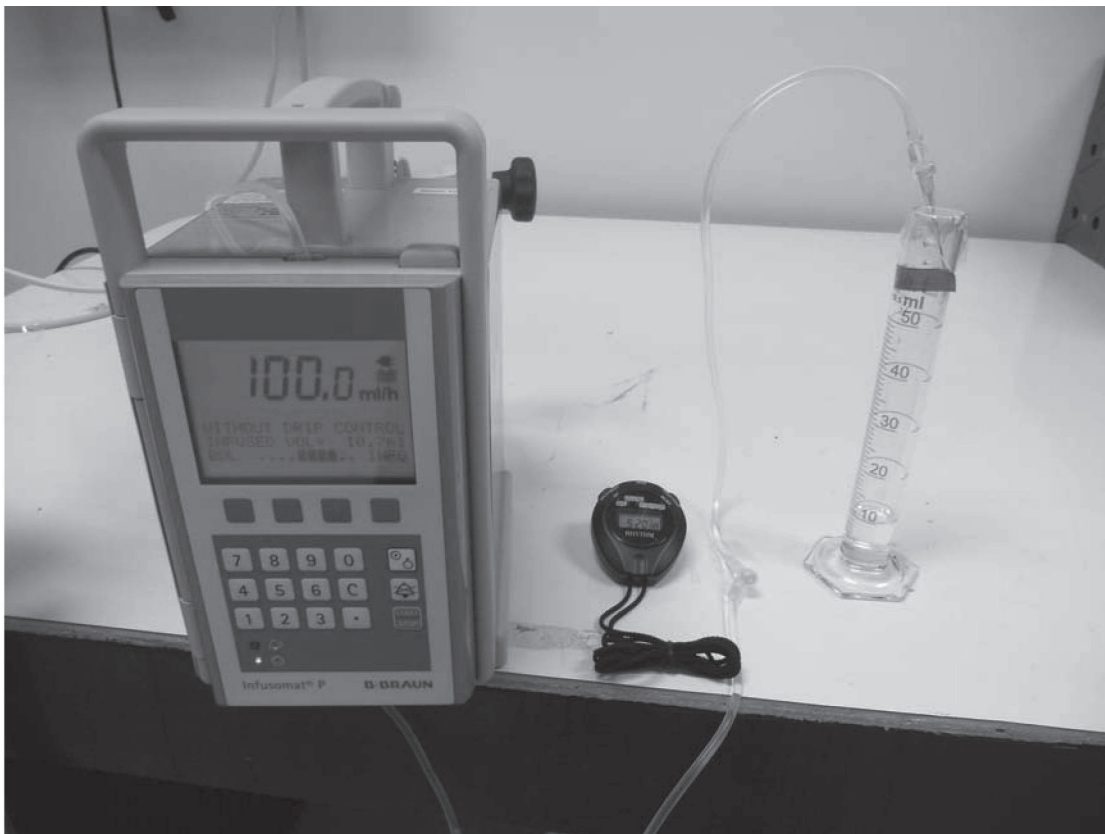
ภาพที่ 2 การทดสอบการตรวจจบการอุดตันของสาย

5. อัตราการไหล

- 5.1 นำเทปการปิดปากกระบอกตวงไว้ สำหรับป้องกันการกระเหยของน้ำในกระบอกตวง
- 5.2 ชั่งน้ำหนักกระบอกตวงขณะที่ไม่มีของเหลวภายในและแห้ง และบันทึกน้ำหนักกระบอกตวง
- 5.3 ติดตั้งเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ ตามคู่มือของเครื่อง
- 5.4 ปรับตั้งค่าการทำงานของเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ ให้สอดคล้องกับ IV set ที่ใช้ และกำหนดอัตราการไหลดังนี้
 - อัตราการไหล 10 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ใช้เวลาทดสอบ 60 นาที
 - อัตราการไหล 100 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ใช้เวลาทดสอบ 30 นาที
 - อัตราการไหล 300 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง ใช้เวลาทดสอบ 10 นาที
- 5.5 เมื่อตั้งค่าอัตราการไหลแล้ว ให้เครื่องทำงานที่อัตราการไหลนั้นๆ ประมาณ 30 วินาที ก่อนทำการทดสอบ
- 5.6 เริ่มทำการทดสอบ โดยเสียบเข็มลงในกระบอกตวง พร้อมกับเริ่มจับเวลา (ภาพที่ 3)
- 5.7 เมื่อเครื่องทำงานครบตามเวลาที่กำหนด ให้หยุดการทำงานของเครื่อง และนำฟิกจับเวลาพร้อมกัน
- 5.8 เอาเข็มออกจากกระบอกตวง หลังจากนั้นนำกระบอกตวงซึ่งบนเครื่องชั่งและบันทึกผล
- 5.9 คำนวณปริมาตรที่วัดได้จาก

$$\text{ปริมาตรที่วัดได้} = \text{น้ำหนักภาชนะที่มีสารละลาย} - \text{น้ำหนักภาชนะเปล่า}$$
 (ภายใต้สมมติฐาน น้ำ 1 g = 1 ml)
- 5.10 อัตราการไหลที่วัดได้ (จากการชั่ง)

$$\text{อัตราการไหลที่วัดได้} = \text{ปริมาตรที่วัดได้} / \text{เวลา}$$



ภาพที่ 3 การทดสอบอัตราการไหล

ผล

ผลการสุ่มทดสอบเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำในโรงพยาบาล 4 แห่ง ระหว่างเดือนมกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 162 เครื่อง รายการที่จำเป็นในการทดสอบ ได้แก่ แบตเตอรี่ การตรวจจับฟองอากาศ ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลาย การตรวจจับการอุดตันของสาย และอัตราการไหลของสารละลาย พบว่าเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 107 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 66 และไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 55 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 34 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ จำแนกตามโรงพยาบาล

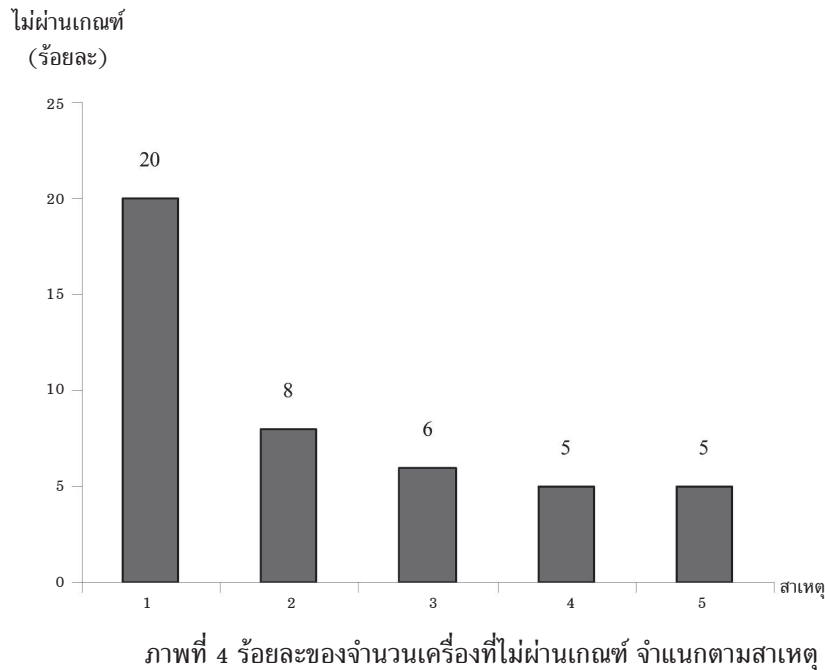
ผลการทดสอบ	โรงพยาบาลที่ 1		โรงพยาบาลที่ 2		โรงพยาบาลที่ 3		โรงพยาบาลที่ 4		รวม	
	จำนวน (เครื่อง)	ร้อยละ (%)	จำนวน (เครื่อง)	ร้อยละ (%)	จำนวน (เครื่อง)	ร้อยละ (%)	จำนวน (เครื่อง)	ร้อยละ (%)	จำนวน (เครื่อง)	ร้อยละ (%)
ผ่านเกณฑ์	3	23	19	79	32	63	53	72	107	66
ไม่ผ่านเกณฑ์	10	77	5	21	19	37	21	28	55	34
รวม	13	100	24	100	51	100	74	100	162	100

โดยภาพรวมของการสุ่มสำรวจครั้งนี้ พบว่าเครื่องที่ไม่ผ่านเกณฑ์เกิดจากสาเหตุ ดังนี้ คือ แบตเตอรี่เสื่อมจำนวน 33 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 20 อัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูงจำนวน 13 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 8 เซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาดจำนวน 9 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 6 เซ็นเซอร์การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาดจำนวน 8 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 5 และระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงานจำนวน 8 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 5 (ตารางที่ 2 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 2 จำนวนเครื่องที่ไม่ผ่านเกณฑ์ในแต่ละโรงพยาบาล จำแนกตามสาเหตุ

โรงพยาบาลที่	จำนวนที่ทดสอบ (เครื่อง)	จำนวนที่ไม่ผ่านเกณฑ์				
		แบตเตอรี่เสื่อม	เซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาด	ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน	เซ็นเซอร์การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาด	อัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูง
		(เครื่อง)	(เครื่อง)	(เครื่อง)	(เครื่อง)	(เครื่อง)
1	13	3	6	6	0	3
2	24	2	0	0	1	2
3	51	11	3	2	7	4
4	74	17	0	0	0	4
รวม	162	33	9	8	8	13

หมายเหตุ ผลการทดสอบของโรงพยาบาลที่ 1 และ 3 พบว่าบางเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์เกิดจาก 2 สาเหตุในเครื่องเดียวกัน



- สาเหตุ 1 : แบตเตอรี่เสื่อม
 สาเหตุ 2 : อัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูง
 สาเหตุ 3 : เซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาด
 สาเหตุ 4 : เซ็นเซอร์การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาด
 สาเหตุ 5 : ระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน

วิจารณ์

ผลการทดสอบนี้เป็นการสุ่มทดสอบเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำที่ใช้งานในโรงพยาบาล 4 แห่ง จากจังหวัดสระแก้ว สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ระหว่างเดือนมกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 เป็นกลุ่มตัวอย่างจำนวน 162 เครื่อง พบว่าเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 55 เครื่อง จาก 162 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 34 โดยภาพรวมของการสุ่มสำรวจคุณภาพครั้งนี้พบว่าเครื่องที่ไม่ผ่านเกณฑ์ส่วนใหญ่เกิดจากสาเหตุแบตเตอรี่เสื่อม คิดเป็นร้อยละ 20 (33 เครื่อง จาก 162 เครื่อง) ซึ่งอาจเป็นเพราะไม่ได้เปลี่ยนแบตเตอรี่ภายในตัวเครื่องตามอายุการใช้งานหรือเมื่อเสื่อมสภาพ และจากการทดสอบอัตราการไหลของสารละลาย พบว่าเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากสาเหตุอัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูง คิดเป็นร้อยละ 8 (13 เครื่อง จาก 162 เครื่อง) ซึ่งอาจเป็นเพราะระบบควบคุมของเครื่องผิดปกติ ทั้งนี้มีรายงานการเสียชีวิตของผู้ป่วยเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกา พบว่าในแต่ละปีมีจำนวนผู้เสียชีวิตจากความผิดพลาดทางการแพทย์เป็นจำนวน 7,000 ถึง 140,000 ราย ซึ่งผู้ป่วยที่ได้รับผลกระทบจากความผิดพลาดทางการแพทย์ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยเด็ก และปัจจัยที่ทำให้เกิดความผิดพลาดทางการแพทย์ที่สำคัญที่สุดคือ ผู้ใช้งาน อย่างไรก็ตาม ความผิดพลาดที่เกิดจากเครื่องมือก็เป็นสิ่งที่ไม่ควรมองข้าม และรายงานอุบัติการณ์หลายฉบับ พบว่าเกี่ยวข้องกับการให้สารละลายมากเกินไป ซึ่งอาจเป็นผลทำให้ผู้ป่วยเกิดอันตรายและเสียชีวิตได้⁽²⁾

นอกจากนี้พบว่ามีบางเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากสาเหตุเซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาด เซ็นเซอร์การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาด และระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน แต่พบเฉพาะในบางโรงพยาบาลเท่านั้น และจากข้อมูลผลการทดสอบพบข้อสังเกตว่า โรงพยาบาลที่ 1 และ 3 พบบางเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์เกิดจาก 2 สาเหตุในเครื่องเดียวกัน คือ เซ็นเซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาดและระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน ทั้งนี้พบว่าเป็นเครื่องยี่ห้อและรุ่นเดียวกันอีก

ด้วย ซึ่งปัญหาที่เครื่องไม่ผ่านเกณฑ์จากสาเหตุดังกล่าว อาจเกิดจากบริษัทผู้ผลิตเครื่องยี่ห้อนั้นออกแบบฟังก์ชันการตรวจจับฟองอากาศในสายและระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่สอดคล้องตามมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม ผลการทดสอบนี้เป็นการสุ่มสำรวจเท่านั้น จึงทำให้ข้อมูลที่ได้อาจไม่ครอบคลุมทุกเครื่องในโรงพยาบาลทั้ง 4 แห่ง

สรุป

จากการสุ่มสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำที่ใช้งานในโรงพยาบาล 4 แห่ง จากจังหวัดสระแก้ว สระบุรี และประจวบคีรีขันธ์ ระหว่างเดือน มกราคม ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2557 จำนวน 162 เครื่อง พบว่าเครื่องผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 107 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 66 และไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐานจำนวน 55 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 34 โดยจากผลจะพบรายการทดสอบที่ไม่ผ่านเกณฑ์เกิดจากสาเหตุ ดังนี้ คือ แบตเตอรี่เสื่อม อัตราการไหลของสารละลายมีความคลาดเคลื่อนสูง เช่น เซอร์การตรวจจับฟองอากาศในสายทำงานผิดพลาด เช่น เซอร์การตรวจจับการอุดตันของสายทำงานผิดพลาด และระบบป้องกันการไหลแบบอิสระของสารละลายไม่ทำงาน ทั้งนี้เครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ เป็นเครื่องมือแพทย์ที่มีความเสี่ยงสูง เนื่องจากใช้งานกับผู้ป่วยโดยตรง ดังนั้น ในการจัดซื้อเครื่อง ควรเลือกเครื่องที่มีคุณลักษณะทางเทคนิค เช่น ความถูกต้องแม่นยำ คุณภาพการตรวจวัด สอดคล้องตามมาตรฐานที่เป็นที่ยอมรับ ควรเปลี่ยนแบตเตอรี่ตามอายุการใช้งานหรือเมื่อเสื่อมสภาพ และควรประเมินเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำที่ใช้งานโดยการตรวจสอบ และบำรุงรักษาอยู่เป็นประจำ เพื่อเป็นการป้องกันปัญหาเครื่องไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบคุณภาพตามมาตรฐาน และยังเป็นผลดีต่อผู้ป่วยที่จะได้รับการรักษาด้วยเครื่องมือแพทย์ที่มีคุณภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โรงพยาบาลสมเด็จพระยุพราชสระแก้ว โรงพยาบาลแก่งคอย โรงพยาบาลพระพุทธบาท และโรงพยาบาลหัวหิน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการดำเนินการสำรวจคุณภาพเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ และขอขอบคุณ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ที่ได้ให้ความร่วมมือในการดำเนินการ และให้ยืมเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการทดสอบ จนทำให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. AS/NZS 3770: 1993. Guide to the safe use of infusion pumps and controllers. Homebush, Australia: Australian/New Zealand Standard (AS/NZS); 1993.
2. Webster JG, Editor. Encyclopedia of medical devices and instrumentation, capacitive microsensors for biomedical applications – drug infusion systems. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons; 2006. p. 495–500.
3. ไทยแล็บออนไลน์. น้ำเกลือ/Saline. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 11 มิ.ย. 2557]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://www.thailabonline.com/drug/drug1.htm>
4. มหาวิทยาลัยมหิดล. ภาวะแทรกซ้อนจากการให้น้ำทางหลอดเลือดดำ. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 11 มิ.ย. 2557]; [5 หน้า]. เข้าถึงได้จาก : URL: <http://student.mahidol.ac.th/~u4809211/pages8.htm>
5. Emergency Care Research Institute. Inspection and preventive maintenance system. 3rd ed. Pennsylvania, USA: ECRI; 1995.
6. International Electrotechnical Commission. Medical electrical equipment – Part 2-24: particular requirements for the safety of infusion pumps and controllers. (IEC 60601-2-24, 1998). Geneva, Switzerland: IEC; 1998.
7. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือขั้นตอนการปฏิบัติงานมาตรฐานวิธีการทดสอบเครื่องควบคุมการให้สารละลายทางหลอดเลือดดำ. นนทบุรี : CD-Tech Design and Printing; 2557.

The investigation on Quality of Infusion Pumps in Hospitals

Wanpen Duangsawang Pornthep Chuncunapas and Sataporn Klomkaew

Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000. Thailand.

ABSTRACT During January to May 2014, the Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences investigated on quality of infusion pumps in 4 hospitals from 3 provinces; Sa Kaeo, Saraburi and Prachuap Khiri Khan. A total of 162 units were tested following Emergency Care Research Institute (ECRI) Procedure/Checklist 416-0595:1995 and International Electrotechnical Commission (IEC) 60601-2-24:1998. The requirements were battery, air in line, free flow protection, occlusion alarm and flow rate. The results showed that 107 units (66%) were compliance with standard and 55 units (34%) were non – compliance with standard. The cause of non – compliance were battery failure, flow rate error, air in line sensor failure, occlusion sensor failure and free flow protection failure. Infusion pumps are high risk medical devices because they are used to deliver medication directly into a patient, so hospitals and related organizations should test the quality of infusion pumps regularly for the safety of patients.

Key words: *investigation, infusion pumps*



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

ซอยโรงพยาบาลบำราศนราดรุณ ถนนติวานนท์

นนทบุรี 11000 โทร. 0-2589-9850-8 ต่อ 99339

ส่งจ่าย ปณณ. กระทรวงสาธารณสุข รหัสไปรษณีย์ 11000

THE BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

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

Owner	Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health	
Administrative Advisor	Apichai Mongkol	Jureporn Boonyawongvirot
	Varunee Jinaratana	Wanchai Sattayawuthipong
Technical Advisor	Amara Vongbuddhapitak	Mayura Kusum
	Jongdee Wongpinairat	Pimjai Naigowit
	Supatra Im-Erb	Sumol Pavittranon
	Panadda Silva	
Editor	Yaowapa Pongsuwanna	
Editorial Board	Somchai Bovornkitti	Prasert Auewarakul
	Orasa Suthienkul	Pilaipan puthavathana
	Aree Thattiyaphong	Jurai Chotichanathawewong
	Siri Srimanoroth	Usavadee Thavara
	Kanokporn Atisook	Wichuda Jariyapan
	Suthon Vongsheree	Malinee Chittaganpitch
	Suwanna Tienungoon	Siripakorn Sangkitporn
	Wimol Petkanchanapong	Prapai Wongsinkongman
	Charoendee Pingsuthiwong	Walailuk Matapatara
	Areerat Sa-ngasang	
Secretary	Paiwan Boonwong	
Administration	Namfon Noiprasert	
	Prasan Julwong	
Subscription Rate	The Bulletin of the Department of Medical Sciences is published quarterly. Annual subscription rate is ฿ 200.00 for domestic and US.\$ 50.00 for all other countries.	
Office	Department of Medical Sciences 88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand. Tel. 0-2951-0000 Fax: 0-2951-1297	
Printed by	Aroonkarnphim Ltd., Part. 457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200 Tel. 0-2282-6033-4	



มุ่งมั่นพัฒนา คำนึงวิจัย ฉบับบริการ มาตรฐานสากล

www.dmsc.moph.go.th