บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การสำรวจแหล่งผลิตชาเขียว

จากการสำรวจแหล่งผลิตชาเขียวพบว่า จังหวัดเชียงรายมีแหล่งผลิตมากกว่าจังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งลักษณะการผลิตมีทั้งผู้ประกอบการรายใหญ่ ผู้ประกอบการรายย่อย และการรวมกลุ่มภายในหมู่บ้านเพื่อจัดตั้งโรงงานในรูปแบบสมาชิกสหกรณ์ โดยแหล่งผลิตขนาดใหญ่นั้น พบที่จังหวัดเชียงรายมากกว่าจังหวัดเชียงใหม่ รวมแหล่งผลิตชาเขียวในจังหวัดเชียงใหม่ 11 แหล่ง และจังหวัดเชียงราย 18 แหล่ง ดังรายละเอียดในตาราง 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ

ตาราง 4.1 ชาเขียวที่สุ่มตัวอย่างในจังหวัดเชียงใหม่

ยี่ห้อชาเขียว	อำเภอ
ชาหอม	ดอยสะเก็ด
ใบชาเฉลิมศรี	ดอยสะเก็ด
ชาระมิงค์	แม่แตง
ใบชาสุริยา	แม่แตง
ใบชาลานนา	แม่แตง
ชาต้าเชียง	ฝาง
ชาแจ้นไท้	ฝาง
ชาชาวเขาในพระบรมราชานุเคราะห์	ฝาง
ชาแม่เลา	ฝาง
ชาเชียงมิ่ง	ฝาง
ชาเขียวอ่างขาง	ฝาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.2 ชาเขียวที่สุ่มตัวอย่างในจังหวัดเชียงราย

ยี่ห้อชาเขียว	อำเภอ
ใบชาสยาม	เวียงป่าเป้า
ใบชาตราแม่ค้า	เวียงป่าเป้า
ใบชาโชคเจริญ	แม่ฟ้าหลวง
ชา 101	แม่ฟ้าหลวง
ชาตราภูเขา	แม่ฟ้าหลวง
ใบชาจรรยา	แม่ฟ้าหลวง
ชาประเสริฐ	แม่ฟ้าหลวง
ชาชิงหยาง	แม่ฟ้าหลวง
ชาเหยงหงส์	แม่ฟ้าหลวง
ชาตราแสงอรุณ	แม่ฟ้าหลวง
กรีนเอ็มเมอรัลด์ ที	แม่ลาว
สุวิรุฬห์ชาไทย	แม่ลาว
กลุ่มผลิตใบชาบ้านพญาไพร่ลิทู	แม่จัน
ชาฉุยฟาง	แม่จัน
ชาไทยดอยธรรม	แม่จัน
ชามิ่งดี	แม่สรวย
ชาเขียววาวี	แม่สรวย
ชาไร่บุญรอด	เมือง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียว

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก 6 ชนิด คือ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี เหล็ก และดีบุก ในตัวอย่างชาเขียวทั้ง 18 แหล่งที่ผลิตในจังหวัดเชียงราย แสดงดังตาราง 4.3 ซึ่งพบโลหะหนัก 5 ชนิด คือ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และเหล็ก แต่ไม่พบดีบุกในทุกตัวอย่าง โดยโลหะหนักที่พบมากที่สุดเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว และสารหนู ซึ่งพบในช่วง 0.434 - 2.537, 0.235 - 0.782, 0.165 - 0.270, 0.003 - 0.009 และ 0.001 - 0.007 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบปริมาณทองแดง สังกะสี เหล็ก และ

ตะกั่วสูง นั้นมาจากแหล่งผลิตในอำเภอแม่ฟ้าหลวง โดยการพบปริมาณโลหะหนักชนิดต่างๆ ที่สูงนี้มาจากแหล่งผลิตต่างกัน ยกเว้นตะกั่วและทองแดงมาจากแหล่งผลิตเดียวกัน และตัวอย่างที่พบปริมาณสารหนูสูงคือ ตัวอย่างที่มาจากแหล่งผลิตในอำเภอแม่สรวย

ตาราง 4.3 ปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียวของจังหวัดเชียงราย

ตัวอย่างที่	ปริมาณโลหะหนัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมชาแห้ง)					
	สารหนู	ตะกั่ว	ทองแดง	สังกะสี	เหล็ก	ดีบุก
1	0.001 ± 0.000	0.004 ± 0.000	0.167 ± 0.007	0.349 ± 0.113	0.754 ± 0.210	N.D.
2	0.001 ± 0.000	0.006 ± 0.001	0.186 ± 0.049	0.564 ± 0.088	1.599 ± 0.307	N.D.
3	0.002 ± 0.001	0.009 ± 0.002	0.270 ± 0.021	0.324 ± 0.060	1.401 ± 0.406	N.D.
4	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.187 ± 0.061	0.311 ± 0.067	1.998 ± 0.843	N.D.
5	0.001 ± 0.000	0.005 ± 0.003	0.225 ± 0.070	0.457 ± 0.267	1.024 ± 0.250	N.D.
6	0.002 ± 0.001	0.007 ± 0.003	0.193 ± 0.048	0.505 ± 0.126	1.320 ± 0.350	N.D.
7	0.004 ± 0.001	0.007 ± 0.001	0.188 ± 0.057	0.782 ± 0.152	1.700 ± 0.273	N.D.
8	0.002 ± 0.000	0.004 ± 0.002	0.208 ± 0.061	0.319 ± 0.092	2.401 ± 0.127	N.D.
9	0.003 ± 0.000	0.006 ± 0.003	0.251 ± 0.015	0.657 ± 0.297	1.333 ± 0.199	N.D.
10	0.004 ± 0.002	0.008 ± 0.002	0.192 ± 0.057	0.558 ± 0.288	2.537 ± 1.607	N.D.
11	0.001 ± 0.000	0.004 ± 0.002	0.165 ± 0.007	0.392 ± 0.235	1.287 ± 0.290	N.D.
12	0.002 ± 0.000	0.007 ± 0.003	0.182 ± 0.045	0.408 ± 0.219	1.549 ± 0.155	N.D.
13	0.001 ± 0.000	0.006 ± 0.003	0.186 ± 0.062	0.235 ± 0.108	0.434 ± 0.083	N.D.
14	0.002 ± 0.000	0.006 ± 0.003	0.202 ± 0.079	0.591 ± 0.297	0.577 ± 0.336	N.D.
15	0.002 ± 0.001	0.007 ± 0.003	0.207 ± 0.057	0.522 ± 0.175	1.408 ± 0.393	N.D.
16	0.007 ± 0.001	0.006 ± 0.004	0.213 ± 0.066	0.315 ± 0.100	1.065 ± 0.140	N.D.
17	0.002 ± 0.000	0.008 ± 0.004	0.195 ± 0.066	0.431 ± 0.226	1.626 ± 0.306	N.D.
18	0.001 ± 0.000	0.003 ± 0.001	0.220 ± 0.045	0.506 ± 0.162	1.089 ± 0.156	N.D.
ปริมาณสูงสุด	**0.007**	**0.009**	**0.270**	**0.782**	**2.537**	**N.D.**
ปริมาณต่ำสุด	**0.001**	**0.003**	**0.165**	**0.235**	**0.434**	**N.D.**

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N.D. หมายถึง ไม่พบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.4 ปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียวของจังหวัดเชียงใหม่

ตัวอย่างที่	ปริมาณโลหะหนัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมชาแห้ง)					
	สารหนู	ตะกั่ว	ทองแดง	สังกะสี	เหล็ก	ดีบุก
1	0.001 ± 0.000	0.006 ± 0.006	0.181 ± 0.068	0.302 ± 0.056	0.997 ± 0.362	N.D.
2	0.001 ± 0.001	0.004 ± 0.002	0.130 ± 0.002	0.507 ± 0.021	1.661 ± 0.098	N.D.
3	0.001 ± 0.000	0.005 ± 0.003	0.171 ± 0.012	0.440 ± 0.124	1.669 ± 0.049	N.D.
4	0.001 ± 0.000	0.004 ± 0.000	0.162 ± 0.010	0.409 ± 0.100	1.181 ± 0.217	N.D.
5	0.001 ± 0.000	0.185 ± 0.001	0.184 ± 0.023	4.406 ± 1.665	1.341 ± 0.079	N.D.
6	0.001 ± 0.000	0.002 ± 0.011	0.136 ± 0.011	0.312 ± 0.085	1.010 ± 0.207	N.D.
7	0.001 ± 0.000	0.012 ± 0.001	0.231 ± 0.033	0.562 ± 0.058	5.930 ± 0.600	N.D.
8	0.001 ± 0.000	0.005 ± 0.001	0.141 ± 0.010	0.349 ± 0.147	1.517 ± 0.249	N.D.
9	0.001 ± 0.000	0.004 ± 0.001	0.124 ± 0.008	0.310 ± 0.100	0.812 ± 0.075	N.D.
10	0.001 ± 0.004	0.162 ± 0.000	0.162 ± 0.030	0.324 ± 0.089	1.407 ± 0.109	N.D.
11	0.001 ± 0.000	0.003 ± 0.001	0.165 ± 0.006	0.357 ± 0.094	0.871 ± 0.073	N.D.
ปริมาณสูงสุด	**0.001**	**0.185**	**0.231**	**4.406**	**5.930**	**N.D.**
ปริมาณต่ำสุด	**0.001**	**0.002**	**0.124**	**0.302**	**0.812**	**N.D.**

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

N.D. หมายถึง ไม่พบ

สำหรับจังหวัดเชียงใหม่ ผลการวิเคราะห์แสดงดังตาราง 4.4 ซึ่งสอดคล้องกับจังหวัดเชียงราย คือ พบโลหะหนักทั้งหมด 5 ชนิด คือ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และเหล็ก แต่ไม่พบดีบุกในทุกตัวอย่าง โลหะหนักที่พบมากที่สุดเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดง และตะกั่ว ซึ่งพบในช่วง 0.812 - 5.930, 0.302 - 4.406, 0.124 - 0.231 และ 0.002 - 0.185 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ส่วนสารหนูพบในปริมาณ 0.001 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมทุกตัวอย่าง โดยตัวอย่างที่พบปริมาณตะกั่วและสังกะสีสูง คือ ตัวอย่างที่มาจากแหล่งผลิตในอำเภอแม่แตง และตัวอย่างที่พบปริมาณทองแดงและเหล็กสูง คือ ตัวอย่างที่มาจากแหล่งผลิตจากอำเภอฝาง

อย่างไรก็ตามปริมาณโลหะหนักที่กระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 196 เรื่อง ชา (ภาคผนวก ค.) ได้อนุญาตให้มีในชากำหนดไว้เฉพาะชาเหลว ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้ได้ศึกษาในชาแห้ง แต่ทั้งนี้สามารถคำนวณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เป็นปริมาณชาเหลวได้ โดยคิดการชงชาแห้ง 20 กรัมต่อน้ำ 1,000 มิลลิลิตร หรือเป็นการเจือจางชาแห้งลง 50 เท่า (1,000/20) ซึ่งเป็นปริมาณที่ผู้นิยมบริโภคชาเขียวและผู้ผลิตชาเขียวส่วนใหญ่แนะนำถึงวิธีการชงชาให้มีรสชาติที่ดีและได้รับสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (เยาวลักษณ์, 2546) ซึ่งจะทำให้สามารถคำนวณปริมาณสูงสุดของโลหะหนักแต่ละชนิดที่มีในชาแห้งได้ โดยนำค่าปริมาณโลหะหนักที่มีได้ในน้ำชาตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขคูณกับ 50 เท่า ทำให้ได้ปริมาณสูงสุดที่มีได้ในชาแห้งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ตาราง 4.5) ของสารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และเหล็กเท่ากับ 10, 25, 250, 250 และ 750 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำผลจากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียวแห้งของจังหวัดเชียงราย (ตาราง 4.3) และจังหวัดเชียงใหม่ (ตาราง 4.4) เปรียบเทียบกับปริมาณสูงสุดที่มีได้ในชาแห้งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขพบว่า ชาเขียวทุกตัวอย่างมีปริมาณโลหะหนักทั้ง 6 ชนิดอยู่ในเกณฑ์ เพราะฉนั้นการดื่มชาเขียวจากแหล่งผลิตในจังหวัดเชียงรายและจังหวัดเชียงใหม่จึงยังไม่ทำให้ผู้บริโภคเกิดอันตรายเนื่องจากโลหะหนัก

ตาราง 4.5 ชนิดและปริมาณโลหะหนักที่มีได้ในน้ำชาและชาแห้งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

โลหะหนัก	ปริมาณที่มีได้ในน้ำชา (มก./กก.) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข	ปริมาณสูงสุดที่มีได้ในชาแห้ง (มก./กก.) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข
สารหนู	0.2	10
ตะกั่ว	0.5	25
ทองแดง	5	250
สังกะสี	5	250
เหล็ก	15	750

4.3 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี เหล็ก และดีบุก ในตัวอย่างดินที่เป็นแหล่งปลูกตัวอย่างชาเขียวที่พบการปนเปื้อน

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียว ข้อ 4.2 พบปริมาณสูง 6 แหล่งผลิต คือ จังหวัดเชียงราย 4 แหล่ง โดยเป็นตัวอย่างชาเขียวที่มีแหล่งปลูกอยู่ที่อำเภอแม่ฟ้าหลวง 3 ตัวอย่าง และอีกหนึ่งตัวอย่างเป็นตัวอย่างชาเขียวที่มีแหล่งปลูกอยู่ที่อำเภอแม่สรวย ส่วนจังหวัดเชียงใหม่พบ 2 แหล่ง เป็นตัวอย่างชาเขียวที่มีแหล่งปลูกอยู่ที่อำเภอแม่แตง และอำเภอฝาง จึงสุ่มเก็บตัวอย่างดินจากทั้ง 6 แหล่งปลูกนี้ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนัก ผลการทดลองดัง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.6 พบปริมาณโลหะหนักทั้ง 6 ชนิด โดยโลหะหนักที่พบมากที่สุดเรียงลำดับจากน้อยไปหามาก ได้แก่ เหล็ก สังกะสี สารหนู ตะกั่ว ทองแดง และดีบุก ในปริมาณ 245.30 - 943.35, 18.49 - 80.63, 21.48 - 48.77, 6.10 - 19.55, 4.64 - 15.41 และ 0.54 - 3.59 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ โดยตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกชาเขียวซึ่งอยู่ที่อำเภอแม่แตงพบสารหนูสูง ตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกชาเขียวซึ่งอยู่ที่อำเภอฝางพบตะกั่วและทองแดงสูง ตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกชาเขียวซึ่งอยู่ที่อำเภอแม่สรวยพบเหล็กสูง ตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกชาเขียวซึ่งอยู่ที่อำเภอแม่ฟ้าหลวงพบปริมาณสังกะสี และดีบุกสูง ซึ่งผลการวิเคราะห์ปริมาณของตะกั่ว ทองแดง และสังกะสีนั้น มีค่าใกล้เคียงกับที่สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน (2550) ซึ่งได้ศึกษาดินที่ทำการเกษตรเกี่ยวกับพืชไร่ ณ พื้นที่ราบลุ่มในเขตจังหวัดเชียงรายและจังหวัดเชียงใหม่ พบว่า มีค่าเฉลี่ยของตะกั่ว ทองแดง และสังกะสี เท่ากับ 21.07, 19.15 และ 39.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ

ตาราง 4.6 ปริมาณโลหะหนัก ในตัวอย่างดินจากแหล่งปลูกชาเขียว

ตัวอย่างดิน	**ปริมาณโลหะหนัก (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)**					
จากแหล่งปลูกชา	**สารหนู**	**ตะกั่ว**	**ทองแดง**	**สังกะสี**	**เหล็ก**	**ดีบุก**
<u>จังหวัดเชียงราย</u>						
อ. แม่ฟ้าหลวง (1)	21.74 ± 0.59	14.23 ± 0.29	4.64 ± 0.16	18.49 ± 0.10	513.75 ± 0.13	2.94 ± 0.05
อ. แม่ฟ้าหลวง (2)	21.73 ± 1.27	6.10 ± 0.35	9.04 ± 0.14	80.64 ± 0.24	245.30 ± 0.09	0.54 ± 0.44
อ. แม่ฟ้าหลวง (3)	32.15 ± 1.28	18.55 ± 0.10	12.59 ± 0.33	46.48 ± 0.33	298.75 ± 5.03	3.59 ± 0.19
อ.แม่สรวย	46.19 ± 0.02	16.28 ± 0.11	9.42 ± 0.07	23.94 ± 0.07	943.35 ± 0.21	3.55 ± 0.10
<u>จังหวัดเชียงใหม่</u>						
อ.แม่แตง	48.77 ± 0.02	16.07 ± 0.11	13.88 ± 0.09	62.66 ± 0.15	276.16 ± 0.06	3.36 ± 0.15
อ.ฝาง	21.48 ± 0.03	19.55 ± 0.05	15.41 ± 0.06	54.63 ± 0.03	254.65 ± 0.05	3.59 ± 0.03
ค่าเฉลี่ย	**32.01**	**15.13**	**10.83**	**47.81**	**421.99**	**2.94**
ปริมาณสูงสุด	**48.77**	**19.55**	**15.41**	**80.64**	**943.35**	**3.59**
ปริมาณต่ำสุด	**21.48**	**6.10**	**4.64**	**18.49**	**245.30**	**0.54**

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 3 ซ้ำ ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อนำข้อมูลปริมาณของโลหะหนักที่พบในตัวอย่างชาเขียวและตัวอย่างดินแต่ละแหล่งไปหาความสัมพันธ์ (ภาคผนวก ง.)โดยการวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression) พบว่าในโลหะหนักทุกชนิดมีสมการเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของโลหะหนักในดิน (X) กับความเข้มข้นของปริมาณโลหะหนักชนิดนั้นในชาเขียว (Y) ของทุกสมการมีค่า R^2 ต่ำมาก คือ อยู่ในช่วง 0.01 – 0.30 ส่วนความสัมพันธ์ของการวิเคราะห์สมการถดถอยแบบไม่เป็นเชิงเส้น (Non-linear Regression) ของสมการ 3 รูปแบบมีค่า R^2 ต่ำเช่นกันได้แก่ แบบโพลีโนเมียลมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.13 – 0.85 แบบลอการึทึมมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.02 – 0.44 และแบบเอ็กซโพเนนเชียลมีค่า R^2 อยู่ในช่วง 0.02 – 0.39 ซึ่งแสดงว่า ปริมาณโลหะหนักในดินไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณโลหะหนักในชาเขียว

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ตัวอย่างชาเขียวของทั้งสองจังหวัด มีโลหะหนักสะสมในใบชาเรียงลำดับจากมากไปหาน้อย คือ เหล็ก สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว และสารหนู ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Bose *et al.* (2008) ที่ได้ศึกษาการดูดซึมโลหะหนักของต้นถั่วลันเตา โดยใช้ดินตะกอนที่ได้จากการบำบัดน้ำเสียซึ่งมีปริมาณโลหะหนักสูง ซึ่งพบว่า ถั่วลันเตาดูดซึมปริมาณเหล็กสะสมในต้นมากที่สุด และ Briat *et al*. (2000) ได้ศึกษาเมแทบอลิซึมภายในของพืช พบว่า เหล็กเป็นธาตุอาหารรอง (Micronutrient) ที่จำเป็นในพืชทุกชนิดช่วยในการรับส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการสร้างคลอโรฟิลล์ ส่วนสังกะสีและทองแดงเป็นธาตุอาหารรองที่จำเป็นในพืชเช่นกัน โดยสังกะสีช่วยในการเปลี่ยนรูปของคาร์โบไฮเดรตในเซลล์ ส่วนทองแดงช่วยในเรื่องระบบสืบพันธุ์ของพืช จึงอาจเป็นไปได้ว่าการที่พบปริมาณโลหะหนักทั้ง 3 ชนิด คือ เหล็ก สังกะสี และทองแดง สูงที่สุดเป็น 3 อันดับแรกนี้ เนื่องจากต้นชาดูดซึมโลหะหนักดังกล่าวไว้เพื่อใช้เป็นธาตุอาหารรอง และกิจกรรมต่างๆ ภายในเซลล์ สำหรับโลหะหนักที่พบปริมาณน้อย ได้แก่ ตะกั่ว สารหนู และดีบุกนั้น William *et al*. (2000) ได้รายงานว่า โลหะหนักเหล่านี้ไม่ได้เป็นธาตุอาหารที่จำเป็นในพืช หากพืชดูดซับโลหะหนักที่ไม่จำเป็นไว้ในเซลล์มากเกินไป จะทำให้พืชมีอาการผิดปกติได้ ซึ่งกลไกการดูดซึมโลหะหนักเข้าสู่เซลล์ในพืชนั้นถูกควบคุมโดยยีนที่มีชื่อว่า The heavy metal (CPx-type) ATPases นอกจากนี้ Nakamaru และ Uchida (2008) ได้รายงานว่า การที่พืชจะดูดซึมดีบุกในดินเข้าสู่ลำต้นนั้น ดินนั้นจะต้องมีความเป็นกรดสูงและปริมาณอินทรีย์วัตถุ (organic matter) ก็มีผลต่อการดูดซึมด้วย ส่วน Han *et al*. (2007) ศึกษาเกี่ยวกับการดูดซึมของตะกั่ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากดินมาสู่ต้นชา พบว่า ดินที่มีความเป็นกรดสูงจะทำให้ต้นชาสามารถดูดซึมตะกั่วที่มีในดินนั้นได้ดี และยังพบว่า เมื่อเพิ่มความเป็นด่างให้กับดินด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต เพื่อให้ pH เพิ่มขึ้น 1 หน่วย จะสามารถลดการดูดซึมตะกั่วสู่ต้นชาได้ร้อยละ 20-50 ซึ่งจากการทดลองวัดค่าความเป็นกรดด่างของดินในจังหวัดเชียงใหม่พบว่า อยู่ในช่วง 5.1 – 6.2 ค่อนข้างเป็นกลาง และจังหวัดเชียงรายอยู่ในช่วง 4.3 – 5.4 สภาพค่อนข้างเป็นกรดอ่อน จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้พบการปนเปื้อนของโลหะหนักในตัวอย่างชาเขียวของจังหวัดเชียงรายมากกว่าจังหวัดเชียงใหม่ อย่างไรก็ตามสาเหตุการปนเปื้อนของโลหะหนักในชาเขียวอาจเกิดจากสาเหตุอื่นได้ เนื่องจากมีหลายปัจจัยเกี่ยวข้อง เช่น กระบวนการผลิตชาเขียว วิธีการจัดการสวนชา หรืออาจเกิดจากเขตกรรมของแหล่งปลูกชานั้น และในการศึกษาเพื่อให้ทราบแหล่งที่มาของโลหะหนักที่แท้จริงอาจต้องมีการแยกศึกษาแต่ละปัจจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อเปรียบเทียบปริมาณโลหะหนักก่อนและหลังการทดลอง

4.4 ผลการศึกษาความเที่ยงตรง (Precision) ของการวิเคราะห์ และผลการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธี ICP-MS และ วิธี Flame AAS ในตัวอย่างชาที่พบการปนเปื้อน

การศึกษาความเที่ยงตรงของการวิเคราะห์สาร จะต้องเลือกสารที่มีความเข้มข้นไม่สูงมากหรือต่ำมากจนเกินไป เนื่องจากค่า HORRAT ที่ได้อาจจะไม่น่าเชื่อถือ และจะต้องทำซ้ำไม่ต่ำกว่า 10 ซ้ำขึ้นไป (ทิพวรรณ, 2549) ดังนั้นในการศึกษาความเที่ยงตรงของวิธีการครั้งนี้จึงเลือกโลหะหนัก 3 ชนิด คือ สังกะสี ทองแดง และตะกั่ว เนื่องจากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโลหะหนักในข้อ 4.2 พบว่าโลหะหนักดังกล่าว มีปริมาณไม่สูงหรือต่ำจนเกินไป โดยมีปริมาณสูงเป็นอันดับที่ 2, 3 และ 4 ตามลำดับ และเลือกใช้ตัวอย่างชาเขียวจากอำเภอฝาง ผลการศึกษาพบว่า ความเที่ยงตรงโดยการวัดด้วยวิธี Flame AAS (ตาราง 4.7) มีค่า HORRAT ของตะกั่ว สังกะสี และทองแดงเท่ากับ 2.57, 0.65 และ 1.53 ตามลำดับ ซึ่งค่า HORRAT ของสังกะสีและทองแดงอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตรงของการวัด (ภาคผนวก ข.) ส่วนค่า HORRAT ของตะกั่วมีค่าสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตรงเล็กน้อยโดยเกณฑ์การยอมรับค่า HORRAT ของ AOAC ต้องไม่เกิน 2 และของ Codex และ EU ต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 (ทิพวรรณ, 2549)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.7 การหาค่าการยอมรับความเที่ยงตรงของการวัดด้วยวิธี Flame AAS

วิธี Flame AAS	**ปริมาณที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)**		
ซ้ำ	**ตะกั่ว**	**สังกะสี**	**ทองแดง**
ครั้งที่ 1	0.31254	0.52478	0.35487
ครั้งที่ 2	0.1154	0.5875	0.1645
ครั้งที่ 3	0.2547	0.6102	0.3146
ครั้งที่ 4	0.1155	0.6575	0.2568
ครั้งที่ 5	0.1655	0.5499	0.3146
ครั้งที่ 6	0.3178	0.5327	0.3987
ครั้งที่ 7	0.2874	0.6113	0.2472
ครั้งที่ 8	0.2146	0.6754	0.2564
ครั้งที่ 9	0.1146	0.6874	0.3103
ครั้งที่ 10	0.2155	0.6459	0.2548
ค่าเฉลี่ย	**0.2114**	**0.6083**	**0.2873**
S.D.	**0.081**	**0.059**	**0.066**
%RSD lab	**38.35**	**9.67**	**22.8**
%RSD expected	**14.9**	**14.9**	**14.9**
%RSD lab/%RSD expected	**2.57**	**0.65**	**1.53**

ส่วนผลการศึกษาความเที่ยงตรงโดยการวัดด้วยเครื่อง ICP-MS (ตาราง 4.8) ของตัวอย่างชาเขียวเดียวกันนั้น พบว่า มีค่า HORRAT ของการวิเคราะห์โลหะหนักตะกั่ว สังกะสี และทองแดง เท่ากับ 1.89, 0.57 และ 0.66 ตามลำดับ ซึ่งค่า HORRAT ที่ได้นั้นมีค่าไม่เกิน 2 และอยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับความเที่ยงตรงของการวัด แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์โลหะหนัก 3 ชนิด คือ ตะกั่ว สังกะสี และทองแดง ด้วยวิธี ICP-MS ให้ผลการวิเคราะห์ที่มีความเที่ยงตรงกว่าวิธี Flame AAS ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Mikasa *et al*. (2005) ที่ได้ศึกษาความเที่ยงตรงในการหาปริมาณแร่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ธาตุซิลิเนียมซึ่งเป็นแร่ธาตุที่จำเป็นในร่างกายที่มีปริมาณน้อยในตับและเลือด โดยทดลองวัดประสิทธิภาพด้วยการใช้วิธี AAS เทียบกับวิธี ICP-MS พบว่า วิธี ICP-MS สามารถวัดปริมาณแร่ธาตุซิลิเนียมในปริมาณน้อยได้ดีกว่าวิธี AAS ซึ่งถ้าค่าที่ได้น้อยกว่า 2 ไมโครกรัมต่อกรัม เครื่อง AAS จะไม่สามารถตรวจพบได้ ดังนั้น เมื่อวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วซึ่งมีปริมาณน้อยด้วยวิธี Flame AAS ในการทดลองนี้จึงให้ค่า HORRAT มากกว่า 2 นอกจากนี้ยังมีรายงานของ APAS Technique comparision (2552) ที่ว่าความเที่ยงตรงของการวัดค่าในช่วงสั้น (Short Term Precision) และในช่วงการวัดยาวนานถึง 4 ชั่วโมง (4 hrs. Long Term Precision) ของวิธี ICP-MS มีความเที่ยงตรงกว่าวิธี Flame AAS

ตาราง 4.8 การหาค่าการยอมรับความเที่ยงตรงของการวัดด้วยวิธี ICP-MS

วิธี ICP-MS	**ปริมาณที่วัดได้ (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)**		
ซ้ำ	**ตะกั่ว**	**สังกะสี**	**ทองแดง**
ครั้งที่ 1	0.20156	0.52468	0.27589
ครั้งที่ 2	0.11456	0.59872	0.29575
ครั้งที่ 3	0.24571	0.54851	0.31025
ครั้งที่ 4	0.11289	0.54871	0.29548
ครั้งที่ 5	0.14579	0.58741	0.31458
ครั้งที่ 6	0.14971	0.52874	0.31242
ครั้งที่ 7	0.15149	0.6147	0.25478
ครั้งที่ 8	0.14561	0.52648	0.26785
ครั้งที่ 9	0.18547	0.61245	0.25874
ครั้งที่ 10	0.10614	0.67423	0.3457
ค่าเฉลี่ย	**0.1559**	**0.5765**	**0.2931**
S.D.	**0.044**	**0.049**	**0.029**
%RSD lab	**28.14**	**8.56**	**9.84**
%RSD expected	**14.9**	**14.9**	**14.9**
%RSD lab/%RSD expected	**1.89**	**0.57**	**0.66**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 4.9 ค่าเฉลี่ยความเที่ยงตรงของวิธีการและเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ระหว่างวิธี Flame AAS และวิธี ICP-MS โดยหาค่า HORRAT

วิธีการ	โลหะหนัก	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	% RSD	ค่า HORRAT
Flame AAS	ตะกั่ว	0.2114	0.081	38.35	2.57
	สังกะสี	0.6083	0.059	9.67	0.65
	ทองแดง	0.2873	0.066	22.8	1.53
ICP-MS	ตะกั่ว	0.1559	0.0439	28.14	1.89
	สังกะสี	0.5765	0.0479	8.56	0.57
	ทองแดง	0.2931	0.0289	9.84	0.66

หมายเหตุ ผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ยของการทดลอง 10 ซ้ำ มีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

4.5 ผลการศึกษาความแม่นยำ (Accuracy) ด้วยวิธี ICP-MS ในตัวอย่างชาเขียวและตัวอย่างดิน

โดยทั่วไปการวิเคราะห์สารใดสารหนึ่งที่สนใจ วิธีวิเคราะห์ที่ใช้อยู่อาจไม่ได้วัดปริมาณสารที่สนใจได้ครบถ้วน 100% ซึ่งสะท้อนให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์ อาจมีความคลาดเคลื่อน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทราบประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ในการวัดปริมาณสารที่มีอยู่ทั้งหมดก่อน แต่เนื่องจากการศึกษาไม่สามารถทราบว่าสารที่สนใจศึกษามีปริมาณเท่าใด จึงเป็นการยากที่จะบอกได้ว่าวิธีวิเคราะห์ที่ใช้นั้นสามารถสกัดสารที่สนใจศึกษาออกมาได้มากน้อยเพียงใด วิธีการหนึ่งที่จะบอกได้คือ การเติมสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นที่ทราบค่าลงไปในตัวอย่างที่ทราบค่าสารที่แน่นอนของสารสนใจศึกษา (spiked sample) หรือใช้ตัวอย่างที่ไม่มีปริมาณสารที่สนใจ (sample blank) โดยทำการวิเคราะห์ตามขั้นตอนที่ระบุในวิธีวิเคราะห์ และคำนวณค่าร้อยละการคืนกลับของสารส่วนที่เติมลงไป แต่ปัญหาก็คือ สารที่เติมลงไปอาจไม่จับกับเนื้อตัวอย่าง หรือไม่ใช่สารประกอบที่เหมือนกับที่มีอยู่ในตัวอย่างจริง (native analyte) เมื่อคำนวณค่าร้อยละการกลับคืนจะได้ประสิทธิภาพที่อาจสูงกว่าความเป็นจริง เนื่องจากบอกได้เฉพาะประสิทธิภาพของวิธีในการวิเคราะห์สารส่วนที่เติมลงไปเท่านั้น ไม่รวมถึง native analyte ดังนั้นร้อยละการกลับคืนที่ดี (ประสิทธิภาพสูง) ไม่ได้ประกันว่า trueness ของวิธีดี แต่ค่าร้อยละการกลับคืนที่ต่ำ (ประสิทธิภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่ำ) บอกได้ว่า trueness ของวิธีนี้ไม่เหมาะสม อย่างไรก็ตามการหาค่าร้อยละการกลับคืน นับเป็นวิธีที่ยอมรับได้ระดับหนึ่งในการศึกษา trueness เมื่อไม่อาจหา matrix CRM หรือ matrix RM ที่เหมาะสมได้ (ทิพวรรณ, 2549) ในการทดลองนี้ได้ศึกษาโลหะหนัก 2 ชนิดที่มีปริมาณสูงที่สุดในตัวอย่างชาเขียว คือ เหล็ก โดยเลือกใช้ตัวอย่างชาเขียวจากอำเภอฝาง และปริมาณต่ำที่สุดในตัวอย่างดินคือ ดีบุก โดยเลือกใช้ดินจากแหล่งปลูกชาจากอำเภอแม่ฟ้าหลวง (3) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการวิเคราะห์ และการทดลองครั้งนี้ไม่สามารถใช้ CRM ที่มี matrix เป็นชาได้ เนื่องจากมีราคาสูงมาก จึงใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐานเหล็กความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลงไปในตัวอย่างชาเขียวที่ทราบปริมาณเหล็กที่แน่นอน คือ 5.246 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และตัวอย่างดินใช้วิธีการเติมสารละลายมาตรฐานดีบุกความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมลงไป โดยปริมาณดีบุกในดินมีปริมาณ 3.549 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ผลการศึกษาพบว่า การวิเคราะห์เหล็กในตัวอย่างชาเขียว (ตาราง 4.10) มีร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 93.66 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการวิเคราะห์ด้วยวิธี ICP-MS ให้ค่าที่ได้อยู่ในเกณฑ์ยอมรับความถูกต้องตาม AOAC ที่กำหนดให้ร้อยละการกลับคืนต้องอยู่ในช่วง 80 -110 (ทิพวรรณ, 2549)

ตาราง 4.10 การหาร้อยละการกลับคืนของเหล็กในตัวอย่างชาเขียวด้วยวิธี ICP-MS

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)				ร้อยละการกลับคืน
	ค่าสารละลายมาตรฐาน	ตัวอย่างชาเขียว	หลังเติมสารละลายมาตรฐาน	ค่าที่วัดได้	
1	0.4	5.246	5.646	5.02147	88.93
2				5.55896	98.45
3				5.28547	93.61
ค่าเฉลี่ย				**5.28863**	**93.66**

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วนผลการศึกษาความความแม่นยำสำหรับการวิเคราะห์ดีบุกในตัวอย่างดิน (ตาราง 4.11) พบว่า ให้ร้อยละการกลับคืนเท่ากับ 81.90 ซึ่งให้ค่าวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับความถูกต้องตาม AOAC ที่กำหนดเช่นกัน

ตาราง 4.11 การหาร้อยละการกลับคืนของดีบุกในตัวอย่างดินด้วยวิธี ICP-MS

จำนวนซ้ำ	ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม)				ร้อยละการกลับคืน
	ค่าสารละลายมาตรฐาน	ตัวอย่างดิน	หลังเติมสารละลายมาตรฐาน	ค่าที่วัดได้	
1	0.4	3.549	3.949	3.30248	83.63
2				3.24566	82.19
3				3.15412	79.87
ค่าเฉลี่ย				**3.23409**	**81.90**

สรุปผลการทดลอง วิธีการย่อยตัวอย่างชาเขียวและตัวอย่างดินให้ค่าวิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ยอมรับความถูกต้องตาม AOAC ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Aydin (2008) ที่ศึกษาหาร้อยละการกลับคืนของโลหะหนักและแร่ธาตุ 13 ชนิดในขนสัตว์ พบว่า การย่อยตัวอย่างด้วยกรด 2 ชนิด ได้แก่ กรดไนตริก และกรดไฮโดรคลอริก มีประสิทธิภาพสูงในการให้ค่าร้อยละการกลับคืนของโลหะหนักและแร่ธาตุทั้ง 13 ชนิดซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับความถูกต้อง และในการทดลองนี้ได้ใช้กรดทั้งสองชนิดในการย่อยตัวอย่างเช่นกัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved