บทความวิจัย

การหาปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าโดยเทคนิคการสลายตัวด้วยความร้อน การเกิดอะมัลกัม และการวัดการดูดกลืนแสงของอะตอมปรอท

นภาพร บุญนรานุรักษ์ และ นภา ตั้งเตรียมจิตมั่น

ได้รับบทความ: 2 พฤษภาคม 2561
ได้รับบทความแก้ไข: 8 มิถุนายน 2561
ยอมรับตีพิมพ์: 10 มิถุนายน 2561

บทคัดย่อ

เทคนิคการวิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อน จัดเป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพในการหาปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้า โดยสามารถชั่งตัวอย่างข้าวเจ้าที่ผ่านการบดแล้วนำไปเข้าเครื่องวิเคราะห์ได้เลย น้ำหนักตัวอย่างแป้งข้าวที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ คือ 200 มิลลิกรัม กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงของปรอทในรูปพื้นที่พีคและน้ำหนักของสารมาตรฐานปรอทในช่วง 0.1-10 ng มีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรงดังสมการ $y = 0.6838x + 0.0151$ มีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9998 ความเที่ยงของการวิเคราะห์แสดงในเทอม Repeatability มีค่า 8.7%RSD ที่ปริมาณปรอท 0.96 $\mu g\ kg^{-1}$ ค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ระหว่าง 83-114% ค่าขีดจำกัดการตรวจวัด (LOD) เท่ากับ 0.1 $\mu g\ kg^{-1}$ (3S/N) ปริมาณปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวเจ้าจำนวน 56 ตัวอย่างที่ปลูกในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2558-2559 มีค่าน้อยกว่า 10 $\mu g\ kg^{-1}$ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่อนุญาตให้มีปริมาณปรอทได้ไม่เกิน 20 $\mu g\ kg^{-1}$ ในอาหารทั่วไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529)

คำสำคัญ: ปรอท อะมัลกัม เทคนิคการวิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อน ข้าวเจ้า

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จ.ชลบุรี 20131
*ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: napa@buu.ac.th

Direct Determination of Mercury in Rice Samples by Thermal Decomposition Amalgamation and Atomic Absorption Spectrophotometric Technique

Napaporn Bunnaranurak and Napa Tangtreamjitmun*

Received: 2 May 2018
Revised: 8 June 2018
Accepted: 10 June 2018

ABSTRACT

Direct thermal decomposition mercury analysis is an efficient technique for determination of mercury in rice samples. The grinded rice samples were directly weighed and transferred into mercury analyzer. The optimum weight of rice samples was 200 mg. The calibration curve was plotted between absorbance in peak area and nanogram of mercury standard between 0.1-10 ng. It was linearly followed equation y = 0.6838x + 0.0151 with the coefficient of determination (R^2) of 0.9998. Precision was reported in term of repeatability as 8.7%RSD at 0.96 μg kg^{-1} mercury. The recovery was between 83-114%. The limit of detection was 0.1 μg kg^{-1} (3S/N). The determined amount of mercury in 56 rice samples grown in Thailand during 2015-2016 was less than 10 μg kg^{-1}, which was under the standard permitted in general food under the notification of the Ministry of Public Health No. 98 (1986).

Keywords: mercury, amalgam, direct thermal decomposition mercury analysis, rice

Chemistry Department, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

*Corresponding author, email: napa@buu.ac.th

บทนำ

สืบเนื่องจากการที่ประเทศไทยได้เข้าร่วมภาคีอนุสัญญามินามาตะว่าด้วยปรอท (Minamata Convention on Mercury) เป็นอันดับที่ 66 ของโลก เมื่อเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2560 สาระสำคัญของอนุสัญญามินามาตะนี้เกี่ยวกับกิจกรรมทุกอย่างของมนุษย์ที่ข้องเกี่ยวกับปรอท เช่น การสั่งห้ามทำเหมืองแร่ปรอทแห่งใหม่ การยกเลิกการผลิต นำเข้าและส่งออกผลิตภัณฑ์ที่เติมปรอท ลดการใช้อะมัลกัมอุดฟัน ยกเลิกกระบวนการผลิตที่มีการใช้ปรอทหรือสารประกอบปรอทเป็นสารตั้งต้นหรือตัวเร่งปฏิกิริยา เลิกการปล่อยปรอทสู่สิ่งแวดล้อมจากการทำเหมืองทองคำพื้นบ้านขนาดเล็ก ควบคุมการปล่อยปรอทสู่น้ำหรือดิน เป็นต้น จึงเห็นได้ว่าวิธีวิเคราะห์ปรอทอย่างมีประสิทธิภาพที่สามารถใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่างอาหาร ตัวอย่างทางสิ่งแวดล้อม หรือผลิตภัณฑ์ต่างๆ นับว่าเป็นกุญแจสำคัญตัวหนึ่งในการดำเนินการตามอนุสัญญามินามะตะนี้ โดยปกติวิธีวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างชนิดต่างๆ มักจะต้องมีการย่อยหรือสกัดตัวอย่างให้ปรอทออกมาจากตัวอย่างก่อนเพื่อทำการตรวจวัด ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างด้วยการย่อยหรือการสกัดนี้จะใช้ทั้งเวลา สารเคมีและพลังงานมาก ก่อให้เกิดของเสียและยังอาจก่อให้เกิดการสูญหายของปรอทไปได้ในระหว่างขั้นตอนการเตรียม ทำให้ตรวจวัดปรอทได้น้อยกว่าความเป็นจริง ดังจะเห็นได้จากบทความปริทัศน์ที่กล่าวถึงเทคนิคการเตรียมตัวอย่างแบบต่างๆ สำหรับวิเคราะห์ปรอทในอาหาร [1] แต่ปัจจุบันมีเทคนิคการวิเคราะห์ปรอทที่ไม่ต้องมีการเตรียมตัวอย่าง เป็นการวิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อนหรืออาจเรียกว่าด้วยการเผาไหม้ ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิงตาม US-EPA 7473 [2] ซึ่งใช้หลักการเผาไหม้สารตัวอย่างด้วยความร้อน ให้ปรอทกลายเป็นไอ และใช้การแยกไอปรอทออกมาจากไอของสารอื่นๆ ในตัวอย่างโดยการให้ปรอทเกิดอะมัลกัมกับทอง แล้วจึงปล่อยไอปรอทออกมา เพื่อตรวจวัดการดูดกลืนแสงของปรอท การวิเคราะห์ใช้เวลาประมาณ 5 นาทีต่อตัวอย่าง จึงนับเป็นวิธีวิเคราะห์ที่สะดวก รวดเร็ว น่าสนใจเป็นอย่างมาก งานวิจัยนี้จึงได้นำเทคนิคการวิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อนมาวิเคราะห์ปรอทในข้าวเจ้า เนื่องจากคำนึงถึงอันตรายจากปรอทที่สามารถเข้าสู่ร่างกายได้จากอาหารที่รับประทานอยู่ทุกวัน ข้าวเจ้าเป็นอาหารหลักที่คนไทยรับประทานทุกวัน ข้าวอาจได้รับปรอทจากปุ๋ยที่ใส่ ดิน และน้ำที่ใช้ปลูกข้าวอาจทำให้เกิดการสะสมของปรอทในข้าวได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพของแต่ละพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูก หากในบริเวณนั้นเป็นแหล่งอุตสาหกรรมก็อาจทำให้ดินที่ใช้ปลูกข้าวบริเวณนั้นมีโอกาสที่จะพบปรอทปนเปื้อนได้มากขึ้น การรวบรวมตัวอย่างข้าวเจ้า จึงนำมาจากหลายจังหวัดในแต่ละภูมิภาคของประเทศไทยที่มีการปลูกข้าวเจ้า ข้อมูลที่ได้จึงอาจใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประเมินสถานการณ์การปนเปื้อนของปรอทในข้าวที่ปลูกในประเทศไทยในภาพรวม

งานวิจัยที่ตรวจวัดปริมาณปรอทในข้าวที่ผ่านมามีหลายเทคนิค เช่น โคลเวเปอร์อะตอมมิกแอบซอพชั่นสเปกโตรโฟโตเมทรี [3] โคลเวเปอร์อะตอมมิกฟลูออเรสเซนสเปกโตรเมทรี [4-5] อินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโตรโฟโตเมทรี [6] โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงที่มีตัวตรวจวัดเป็นอินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโตรโฟโตเมทรี [7] และแก๊สโครมาโทกราฟีที่มีตัวตรวจวัดเป็นอะตอมมิกฟลูออเรสเซนสเปกโตรมิเตอร์ [8] เป็นต้น แต่เทคนิคเหล่านี้จะต้องทำการเตรียมตัวอย่างให้อยู่ในรูปของสารละลายซึ่งมีขั้นตอนซับซ้อน ใช้เวลานาน และยังก่อให้เกิดของเสียจากการเตรียมตัวอย่าง ซึ่งอาจส่งผลต่อสิ่งแวดล้อมดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

อุปกรณ์และวิธีทดลอง

1. อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องวิเคราะห์ปรอท Direct Thermal Decomposition Mercury Analyzer (MERCURY ANALYZER 3000; MA-3000 บริษัท Nippon Instruments Corporation; NIC ประเทศญี่ปุ่น) เครื่องชั่งทศนิยม 5 ตำแหน่ง (Analytical balance รุ่น MS105DU บริษัท METTLER TOLEDO ประเทศสวิตเซอร์แลนด์) เตาเผาอุณหภูมิสูง ((Muffle Furnace รุ่น ELF บริษัท Carbolite Gero Limited ประเทศอังกฤษ) เครื่องทำแห้ง ณ จุดเยือกแข็ง (Freeze Dryer รุ่น SCANVAC COOLSAFE 55-4 System บริษัท Labo Gene ประเทศเดนมาร์ก) ไมโครปิเปต ขนาด 0.5-10 และ 10-100 μL (รุ่น Research® plus บริษัท Eppendorf ประเทศเยอรมนี) โกร่งบดสารทำจากเซรามิก

สารละลายมาตรฐานปรอท 1000 mg L^{-1} ($HgCl_2$ in 0.1 mol L^{-1} HNO_3) ของบริษัท KANTO ประเทศญี่ปุ่น แอล-ซิสเตอีน (L-cysteine: $HSCH_2CH(NH_2)COOH$, 121.16 g mol^{-1}) ของบริษัท Nacalai ประเทศญี่ปุ่น กรดไนตริก 16 mol L^{-1} (Nitric acid: HNO_3) เกรดบริสุทธิ์สูง ของบริษัท KANTO ประเทศญี่ปุ่น

2. ตัวอย่างข้าวเจ้า

ตัวอย่างข้าวเจ้าทั้งหมดมี 56 ตัวอย่าง จากจังหวัดต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทยช่วง ปี พ.ศ. 2558-2559 โดยตัวอย่างข้าวหมายเลข 1-9 เป็นข้าวที่ปลูกในมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี วิทยาเขตสามพร้าว อำเภอเมือง จังหวัดอุดรธานี หมายเลข 10-20 เป็นข้าวที่ปลูกในมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม หมายเลข 21-23 เป็นข้าวจากศูนย์วิจัยข้าวสุพรรณบุรี ตำบลรั้วใหญ่ อำเภอเมือง จังหวัดสุพรรณบุรี หมายเลข 24-56 เป็นข้าวที่ซื้อจากร้านค้าในจังหวัดชลบุรีและกรุงเทพมหานคร โดยสอบถามแหล่งที่ปลูกจากผู้ขาย ตัวอย่างจะถูกเก็บไว้ในที่เย็นและมืดระหว่างรอการวิเคราะห์

3. การวิเคราะห์ปรอท

3.1 การทำความสะอาดภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง

ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่างทำด้วยเซรามิกมีรูปทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าลึกประมาณ 1 เซนติเมตร มีลักษณะคล้ายเรือ (โป๊ท) วางอยู่บนถาด โดยหนึ่งถาดสามารถวางโป๊ทได้ 10 อัน และสามารถนำถาดเข้าเครื่องจัดการตัวอย่างส่งตรวจอัตโนมัติ (Autosampler) ได้มากที่สุด 10 ถาด เมื่อนำโป๊ทเปล่าเข้าเครื่องแล้วจะทำการตั้งโปรแกรมสำหรับทำความสะอาดโป๊ท โดยอุณหภูมิของโปรแกรมทำความสะอาดโป๊ทจะอยู่ที่ 850°C เป็นเวลา 4 นาทีต่อโป๊ท โดยสามารถตั้งค่าเครื่องให้ทำงานข้ามคืนได้หากต้องการประหยัดเวลาเพื่อให้สามารถวิเคราะห์ตัวอย่างในช่วงเวลากลางวันได้มากขึ้น หรืออีกวิธีหนึ่งในการทำความสะอาดโป๊ทอย่างรวดเร็ว คือนำโป๊ทเข้าเตาเผาอุณหภูมิสูง ที่ 850°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างเสร็จแต่ละครั้งให้ใช้แปรงขนนุ่มปัดเศษเขม่าที่ติดมากับโป๊ท หากโป๊ทมีคราบที่เกิดจากตัวอย่างสามารถแช่ในน้ำผสมน้ำยาล้างเครื่องแก้วในเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 10 นาที

3.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐานปรอท 0.1 mg L^{-1} จากสารละลายมาตรฐานปรอท 1000 mg L^{-1} ปรับปริมาตรด้วยสารละลาย L-cysteine 100 mg L^{-1} (เตรียมในกรดไนตริก 0.2%) ปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอท 0.1 mg L^{-1} นี้ลงในโบ๊ทที่ปริมาตร 1, 5, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 μL จะได้ปรอทหนัก 0.1, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 ng ตามลำดับ และนำไปเข้า Autosampler ของเครื่อง MA-3000 เพื่อวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงของปรอทในหน่วยพื้นที่พีค (peak area)

3.3 การตรวจวัดตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างข้าวที่บดแล้วด้วยโกร่งบดสารให้ได้ประมาณ 200 mg ให้รู้น้ำหนักแน่นอนถึงทศนิยม 5 ตำแหน่ง ลงในโบ๊ทที่ทำความสะอาดแล้ว ชั่งตัวอย่างละ 3 โบ๊ท นำเข้าเครื่อง Autosampler ของเครื่อง MA-3000 เพื่อวิเคราะห์ปริมาณปรอทโดยตัวอย่างข้าวในโบ๊ทจะถูกเผาไหม้ที่ 180°C ในท่อกลวงทำด้วยควอทซ์ในบรรยากาศของแก๊สออกซิเจนที่เป็นแก๊สพาด้วยอัตราการไหล 0.4 L min^{-1} สารประกอบปรอทจะกลายเป็นไอพร้อมกับสารประกอบไฮโดรคาร์บอนในข้าวที่สลายตัวกลายเป็นแก๊ส สารประกอบปรอทจะถูกรีดิวซ์ด้วยตัวเร่งปฏิกิริยาให้แตกตัวกลายเป็นไอของปรอทอิสระที่ 850°C จากนั้นไอปรอทจะถูกดูดซับโดยเกิดอะมัลกัมที่ตัวดูดซับที่มีทองเป็นองค์ประกอบ (Gold amalgamator) ส่วนแก๊สอื่นๆ จะถูกแก๊สออกซิเจนพาไปที่ตัวกรองดักจับของเสีย เมื่อให้ความร้อนกับตัวดูดซับ ไอปรอทจะถูกปล่อยออกมาและถูกพาไปตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่แอบซอร์พชันเซลล์ (Absorption cell) ที่ความยาวคลื่น 253.7 nm บันทึกค่าในหน่วยพื้นที่พีค นำค่าพื้นที่พีคที่ได้ไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์ปริมาณปรอทที่ได้จะรายงานในหน่วยน้ำหนักปรอทต่อน้ำหนักข้าวที่ตรวจวัด (μg kg^{-1})

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ตัวแปรที่มีผลต่อการวิเคราะห์ปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าด้วยเครื่องวิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อน มี 3 ปัจจัย ได้แก่ น้ำหนักข้าวตัวอย่างที่นำไปวิเคราะห์ การบดหรือไม่บดตัวอย่างข้าว และความชื้นของตัวอย่างข้าว เมื่อได้ค่าตัวแปรที่เหมาะสมแล้วได้นำวิธีวิเคราะห์ปรอทนี้ไปประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์และหาปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าต่อไป

1. น้ำหนักข้าวที่ใช้ในการวิเคราะห์

น้ำหนักตัวอย่างข้าวจะถูกกำหนดด้วยปริมาตรของโบ๊ท โดยสามารถใส่ได้มากที่สุดไม่เกินปริมาตรของโบ๊ท งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการลดน้ำหนักของตัวอย่างข้าวลง โดยเลือกตัวอย่างข้าวมา 2 ชนิด นำไปชั่งโดยไม่ต้องบด โดยชั่งจำนวน 2 ชุด ชุดที่ 1 ชั่งข้าวเต็มโบ๊ทจะได้น้ำหนักอยู่ที่ประมาณ 400 mg และชุดที่ 2 ชั่งข้าวครึ่งโบ๊ท น้ำหนักจะอยู่ที่ประมาณ 200 mg ชั่งชุดละ 3 ซ้ำต่อชนิดของข้าว จึงได้ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ทั้งหมดรวม 12 โบ๊ท นำเข้าเครื่อง MA-3000 นำพื้นที่พีคที่ตรวจวัดได้ไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐานได้ผลดังในตารางที่ 1 ซึ่งเมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติ Two way ANOVA with replication พบว่าได้ค่า *p-value* 0.10 ที่ความเชื่อมั่น 95% แสดงว่า ปริมาณปรอทที่ได้จากการวิเคราะห์โดยการใช้น้ำหนักข้าวเต็มโบ๊ทและครึ่งโบ๊ท ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นในการวิเคราะห์

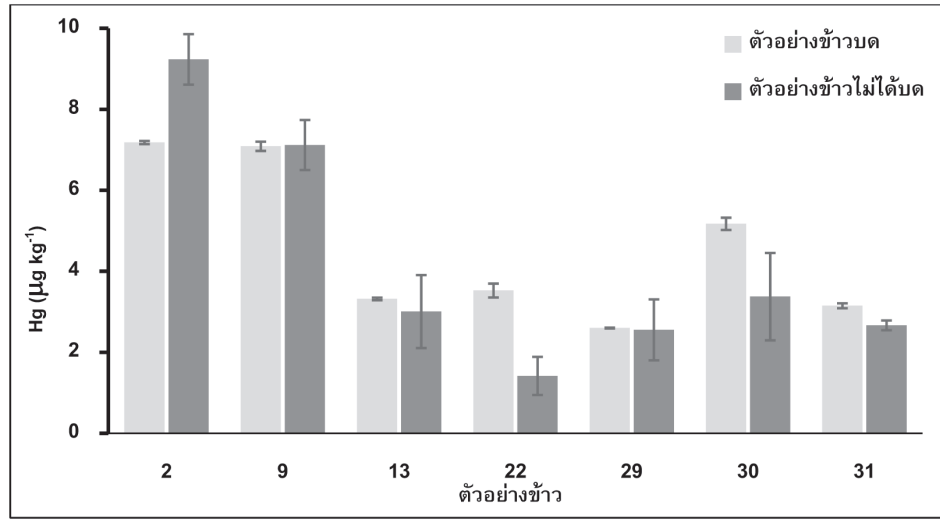
ตัวอย่างข้าวต่อไปจึงเลือกใช้น้ำหนักข้าวครึ่งโบ๊ทหรือประมาณ 200 mg ซึ่งมีข้อดีคือ เขม่าที่เกิดจากการเผาไหม้ตัวอย่างข้าวจะลดน้อยลง ทำให้ไม่เกิดการอุดตันตัวดูดซับของเสียทำให้อายุการใช้งานของตัวดูดซับนานขึ้น แต่ในบางกรณีหากตัวอย่างนั้นตรวจไม่พบปรอท อาจต้องทำการเพิ่มน้ำหนักข้าวให้เต็มโบ๊ทแล้ววิเคราะห์เปรียบเทียบเป็นการยืนยันว่าตรวจไม่พบปรอทในตัวอย่างนั้นๆ จริง ซึ่งจะรายงานว่าตัวอย่างนั้นมีปรอทน้อยกว่าขีดจำกัดการตรวจวัด (Detection limit)

ตารางที่ 1 ปริมาณปรอทที่วิเคราะห์โดยใช้น้ำหนักตัวอย่างข้าวต่างกัน

ตัวอย่าง	ปริมาณปรอท เต็มโบ๊ท ($\mu g\ kg^{-1}$)			ปริมาณปรอท ครึ่งโบ๊ท ($\mu g\ kg^{-1}$)		
ที่	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3
1	7.53	7.54	6.96	7.24	7.20	7.98
2	8.56	8.31	8.53	9.04	8.73	9.93

2. การบดตัวอย่างข้าว

เนื่องจากตัวอย่างข้าวแต่ละเม็ดอาจมีปรอทไม่เท่ากัน และเทคนิคนี้ใช้น้ำหนักตัวอย่างน้อยมาก อาจทำให้ข้อมูลที่ได้ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของตัวอย่าง การบดข้าวก่อนชั่งไปวิเคราะห์น่าจะทำให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการทำตัวอย่างให้มีความเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุดโดยการบดตัวอย่างก่อนวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบกับแบบไม่บด โดยนำตัวอย่างข้าวมา 7 ชนิด ชุดที่ 1 นำไปบดด้วยโกร่งบดสารก่อนชั่ง และชุดที่ 2 ชั่งทั้งเม็ดข้าวโดยไม่มีการบด ชั่งชุดละ 3 ซ้ำต่อชนิดของข้าว จึงได้ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ทั้งหมดรวม 42 โบ๊ท นำเข้าเครื่อง MA-3000 เพื่อวิเคราะห์ปรอท นำพื้นพี่พีคที่ตรวจวัดได้ไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐานได้ผลดังกราฟในรูปที่ 1

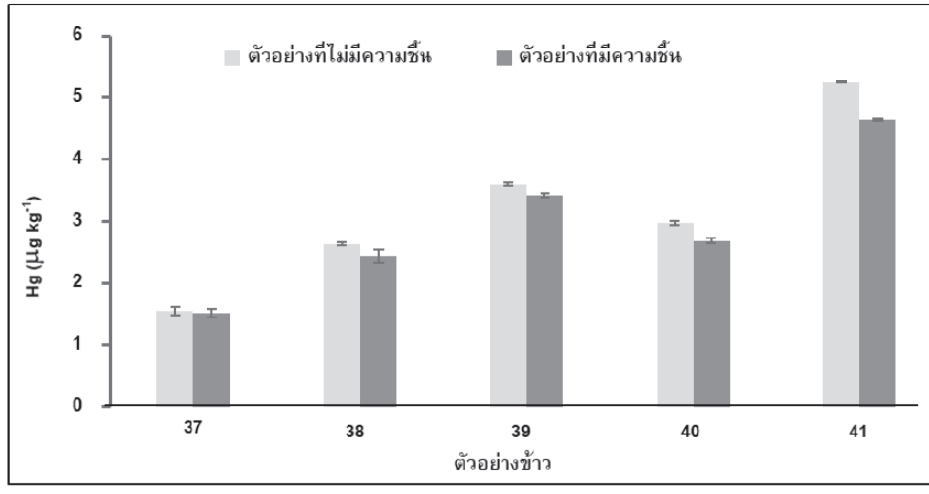


รูปที่ 1 ปริมาณปรอทที่พบในตัวอย่างข้าวที่บดและไม่บด (n=3)

จากกราฟจะพบว่า ค่าปรอทที่ตรวจพบในข้าวที่มีการบดก่อนชั่งไปวิเคราะห์ จะมีค่าความเที่ยงที่ดีกว่าแบบไม่บด โดยดูได้จากค่าความคลาดเคลื่อนที่ปลายแท่งกราฟ (± SD) แบบไม่บดจะมีความคลาดเคลื่อนสูงมาก โดยเมื่อคำนวณออกมาเป็นค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ (%RSD) จะได้อยู่ระหว่าง 5-30% ในขณะที่แบบบดจะได้ค่าน้อยกว่า 5%RSD เท่านั้น จึงสรุปได้ว่าปริมาณปรอทในข้าวแต่ละเม็ดมีค่าแตกต่างกันได้มากในบางตัวอย่าง จึงควรสุ่มตัวอย่างมาประมาณอย่างน้อยหนึ่งกรัมทำการบดให้เป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุดก่อนชั่งไปวิเคราะห์ แม้ว่าจะต้องใช้เวลาเพิ่มขึ้นในการเตรียมตัวอย่าง

3. ความชื้นในตัวอย่างข้าว

ถ้าตัวอย่างข้าวมีความชื้นมากน้ำหนักของตัวอย่างที่ชั่งได้จะไม่ใช่น้ำหนักของข้าวอย่างเดียวแต่รวมเอาน้ำหนักของน้ำที่ทำให้เกิดความชื้นไปด้วย ซึ่งจากงานวิจัยที่ผ่านมามีรายงานว่าข้าวมีความชื้นเฉลี่ย 12% [9] ดังนั้นน้ำหนักตัวอย่างที่ชั่งได้จึงมากกว่าความเป็นจริงถ้าไม่มีการดูดความชื้นของข้าวตัวอย่างก่อนวิเคราะห์ งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของความชื้นโดยเลือกตัวอย่างข้าวมา 5 ชนิด ชนิดละ 1 กรัมนำไปบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแบ่งชุดที่ 1 นำไปเข้าเครื่อง Freeze Dryer ทิ้งไว้ 1 คืนก่อนชั่ง ชุดที่ 2 ชั่งทันที นำเข้าเครื่อง Autosampler เพื่อวิเคราะห์ปรอท นำพื้นที่พีคที่ตรวจวัดได้ไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐาน ได้ผลดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวที่มีและไม่มีความชื้น (n=3)

จากรูปจะเห็นว่าปริมาณปรอทที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีและไม่มีความชื้นที่ความเข้มข้นต่ำๆ แทบไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อความเข้มข้นปรอทสูงขึ้น ปริมาณปรอทที่ได้จากตัวอย่างข้าวที่ดูดความชื้นออกจะมีค่ามากกว่าตัวอย่างที่ไม่ผ่านการดูดความชื้น โดยความคลาดเคลื่อนจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณปรอทที่ตรวจพบ โดยความคลาดเคลื่อนสูงสุดที่พบคือ 12% เป็นข้าวตัวอย่างหมายเลข 41 ที่มีปรอท 5.25 ± 0.41 µg kg^{-1} แต่เนื่องด้วยปริมาณปรอทที่ตรวจพบในตัวอย่างข้าวทั้งหมดมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อนตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) ที่อนุญาตให้มีปริมาณปรอทได้ไม่เกิน 0.02 mg kg^{-1}

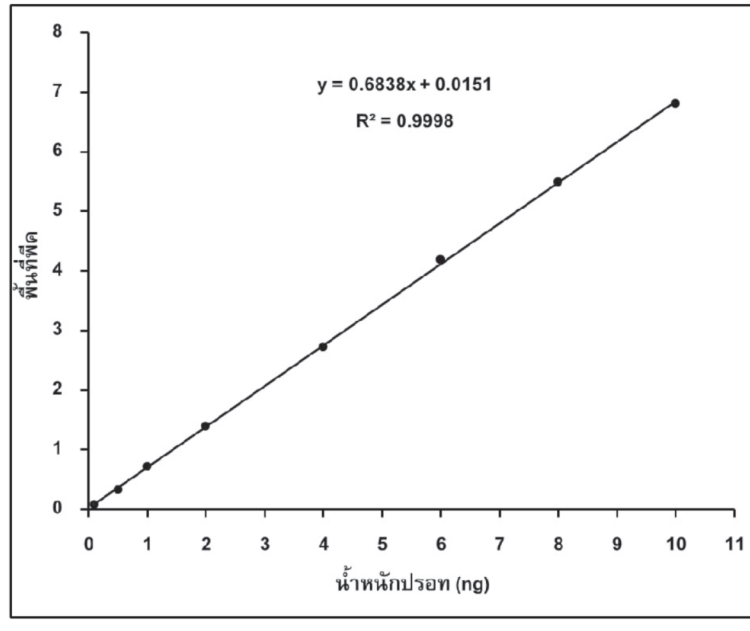
หรือ 20 μg kg^{-1} จึงไม่จำเป็นต้องดูดความชื้นออกจากตัวอย่าง ซึ่งช่วยลดเวลาในการวิเคราะห์ แต่ถ้าหากศึกษาปริมาณปรอทที่ใกล้เคียงกับเกณฑ์มาตรฐานที่พิจารณา อาจจะต้องทำการดูดความชื้นออก เพื่อให้ได้ค่าที่แน่นอน ก่อนที่จะสรุปว่าเกินหรือไม่เกินเกณฑ์มาตรฐาน

4. ประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์

ค่าทางเคมีวิเคราะห์ที่ได้ทำการศึกษาเพื่อประเมินประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ปรอทโดยตรงนี้ได้แก่ กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ร้อยละการได้กลับคืน (%recovery) ความเที่ยง (precision) และขีดจำกัดการตรวจวัด (limit of detection; LOD) ซึ่งให้ผลเป็นที่น่าพอใจดังรายละเอียดต่อไปนี้

4.1 กราฟมาตรฐาน

เทคนิคนี้ใช้ค่าน้ำหนักของปรอทเป็นแกน x ของกราฟมาตรฐาน เนื่องจากลักษณะการตรวจวัดสัญญาณการดูดกลืนแสงเป็นการตรวจวัดปริมาณสารทั้งหมดที่ใส่ลงไปในโบ๊ท ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มีลักษณะเป็นพีค การตรวจวัดสัญญาณเป็นแบบชั่วขณะหนึ่ง (transient signal) ไม่ใช่สัญญาณแบบต่อเนื่อง (continuous signal) จึงสามารถใช้เนื้อสารทั้งหมดในสารละลายที่ใส่ลงไป คำนวณออกมาเป็นน้ำหนักของสารที่ได้ นำไปสร้างกราฟมาตรฐาน โดยช่วงความเป็นเส้นตรงของเครื่อง MA-3000 มีระบุอยู่ในคู่มือ ว่าอยู่ที่ระหว่าง 0.001 ng ถึง 2,000 ng งานวิจัยนี้จึงทำการสร้างกราฟมาตรฐานในช่วง 0.1-10 ng ได้สมการเส้นตรงคือ y = 0.6838x + 0.0151 โดยมีสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) เท่ากับ 0.9998 ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานสารละลายปรอท (n=1)

จากรูปที่ 3 จะเห็นว่านอกจากค่า R^2 ที่เข้าใกล้ 1 มากแล้ว กราฟมาตรฐานที่ได้มีจุดทุกจุดอยู่บนเส้นตรง แสดงถึงข้อมูลที่มีความสัมพันธ์เชิงเส้นสูงมาก โดยจุดแต่ละจุดเป็นการวัดสัญญาณเพียงครั้งเดียว เพราะการสร้างกราฟมาตรฐานลักษณะนี้ใช้สารละลายมาตรฐานเพียงตัวเดียว และใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นเดียวกันที่ปริมาตรต่างๆ กัน จึงไม่ต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานหลายความเข้มข้น ทำให้ลดความคลาดเคลื่อนจากการเตรียมสารลงไปได้มาก จึงไม่มีความจำเป็นต้องวัดซ้ำในแต่ละจุดของกราฟมาตรฐาน โดยมีข้อระวังคือผู้วิเคราะห์จะต้องมีทักษะการใช้ไมโครปิเปตเพื่อให้ปริมาตรที่ได้มีความถูกต้องทุกครั้งที่ปิเปต นอกจากนี้ในการวิเคราะห์ตัวอย่างครั้งต่อไปไม่จำเป็นต้องสร้างกราฟมาตรฐานพร้อมการวิเคราะห์ตัวอย่างทุกครั้งเหมือนกับเทคนิคการวิเคราะห์ทางสเปกโตรโฟโตเมทรีทั่วไป แต่จะตรวจสอบโดยวัดสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นใดความเข้มข้นหนึ่งแล้วค่าสัญญาณต้องไม่แตกต่างจากค่าเดิมเกิน 5% ดังเช่นในงานวิจัยนี้ได้ใช้การวัดสารละลายมาตรฐานที่ 2 ng ทุกวันเพื่อตรวจสอบก่อนวิเคราะห์ โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานปรอท 0.1 mg L^{-1} มา 20 μL พื้นที่พีคที่ได้จะต้องมีค่าประมาณ 1.3XXX หรืออาจจะตรวจสอบโดยวัดสารมาตรฐานความเข้มข้นต่ำและสูงของกราฟมาตรฐานที่ใช้ ซึ่งกราฟ 2 จุดที่ตรวจสอบทุกวันก่อนวิเคราะห์นี้เรียกว่า daily calibration ตามที่แนะนำโดยวิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ปรอท US EPA 7473 นอกจากประสิทธิภาพของเครื่องแล้วผลของการเติม L-cysteine ในสารละลายมาตรฐานปรอทที่เตรียมขึ้นช่วยให้สารละลายมาตรฐานปรอทมีความเสถียร เนื่องจากปรอทเกิดสารเชิงซ้อนกับ L-cysteine [10] จึงทำให้เทคนิคนี้ไม่จำเป็นต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานใหม่เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานทุกครั้งที่วัดตัวอย่าง

4.2 ร้อยละการได้กลับคืน

การตรวจสอบความถูกต้องที่สามารถทำได้วิธีหนึ่งคือ การหาร้อยละการได้กลับคืน ซึ่งเป็นการตรวจสอบสารรบกวนการวิเคราะห์ที่อาจมีในตัวอย่างข้าว (matrix interference) ทำโดยเลือกตัวอย่างมา 5 ชนิดที่มีปรอทเข้มข้นต่างกันจากน้อยถึงมากที่สุดที่ตรวจพบ บดและชั่งชนิดละ 3 โบ๊ท ปิเปตสารมาตรฐานปรอท 0.1 mg L^{-1} ปริมาตรตามที่ต้องการลงในโบ๊ทที่ 2 และ 3 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่แน่นอนที่ต้องการเติมลงไปดังในตารางที่ 2 จะได้ตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ทั้งหมดรวม 15 โบ๊ท นำเข้าเครื่อง MA-3000 นำพื้นที่พีคที่ได้ไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐานได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ร้อยละการได้กลับคืนของปรอทที่เติมในตัวอย่างข้าว

ตัวอย่างที่	ปริมาณปรอท ($\mu g\ kg^{-1}$)		%Recovery
	ที่เติม	ที่พบ	
4	0	2.42	-
	2.25	4.88	109
	4.45	7.09	105
5	0	3.48	-
	2.12	5.90	114
	4.19	7.68	100
8	0	2.73	-
	2.07	4.92	106
	4.40	7.00	97
9	0	7.10	-
	4.07	10.50	83
	9.01	16.56	105
11	0	0.83	-
	2.14	2.97	100
	4.29	5.00	97

เมื่อนำข้อมูลปรอทที่พบ ไปคำนวณหาค่าร้อยละการได้กลับคืน จะได้ค่าอยู่ระหว่าง 83-114% ซึ่งค่าร้อยละการได้กลับคืนที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ AOAC [11] คือค่าระหว่าง 60-115% สำหรับสารสนใจที่ตรวจวัดอยู่ในช่วง 8-100 $\mu g\ kg^{-1}$ แต่ค่าที่ทำการตรวจวัดนี้ต่ำกว่าเกณฑ์ความเข้มข้นที่กำหนด แต่ได้ค่าร้อยละการได้กลับคืนอยู่ในช่วงที่กำหนด จึงสรุปได้ว่าเทคนิคนี้ให้ผลการวิเคราะห์ที่เชื่อถือได้

4.3 ขีดจำกัดการตรวจวัด

การหาค่าขีดจำกัดการตรวจวัดทำโดยวิเคราะห์สารมาตรฐานปรอทที่ความเข้มข้นที่ให้สัญญาณเป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน (3S/N) ปรากฏว่าได้ค่า LOD เท่ากับ 0.02 ng ซึ่งเมื่อคำนวณต่อน้ำหนักข้าว 200 mg จะได้ค่า LOD เท่ากับ 0.1 $\mu g\ kg^{-1}$ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเทคนิคแกร์ไฟต์เฟอร์เนซ (0.6 $\mu g\ kg^{-1}$) แต่สูงกว่าเทคนิคโคลเวเปอร์อะตอมมิกฟลูออเรสเซนสเปกโตรเมทรี (0.009 $\mu g\ kg^{-1}$) และอินดักทีฟลีคัปเปิลพลาสมาแมสสเปกโตรโฟโตเมทรี (0.016 $\mu g\ kg^{-1}$) [12] แต่ค่า LOD ที่ได้นี้เพียงพอต่อการวิเคราะห์ปรอทในข้าวหรืออาหารทั่วไป ซึ่งมีเกณฑ์ระดับความปลอดภัยอยู่ที่ 20 $\mu g\ kg^{-1}$ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 เรื่อง มาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ซึ่งกำหนดให้มีการปนเปื้อนปรอททั้งหมดในอาหารทะเลได้ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับอาหารอื่น

4.4 ความเที่ยง

การศึกษาความเที่ยงของวิธีในเทอม repeatability ทำโดยชั่งตัวอย่างข้าว 10 ตัวอย่างที่มีปริมาณปรอท 2 ชุด คือชุดที่มีความเข้มข้นต่ำ (ชุดที่ 1) และ ชุดที่มีความเข้มข้นสูง (ชุดที่ 2) แต่ละชุดชั่งและวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ นำเข้าเครื่อง MA-3000 เพื่อวิเคราะห์ปรอท เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงนำไปคำนวณน้ำหนักปรอทจากกราฟมาตรฐานได้ค่าดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเพื่อศึกษาความเที่ยงของวิธี

ตัวอย่าง	ปริมาณปรอทชุดที่ 1 ($\mu g\ kg^{-1}$)			ตัวอย่าง	ปริมาณปรอทชุดที่ 2 ($\mu g\ kg^{-1}$)		
ที่	ครั้ง 1	ครั้ง 2	ครั้ง 3	ที่	ครั้ง 1	ครั้ง 2	ครั้ง 3
16	1.05	1.15	1.26	1	7.24	7.20	7.98
23	1.03	0.97	0.92	2	9.04	8.73	8.89
24	0.72	0.78	0.84	7	9.02	8.75	9.30
44	0.98	1.14	1.01	9	7.17	7.44	7.72
46	0.81	0.97	0.81	43	8.15	8.04	8.39

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์สถิติ Single ANOVA ของตัวอย่างชุดที่ 1 พบว่า $F_{cal} > F_{crit}$ ดังในตารางที่ 4 แสดงว่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มมากกว่าความแปรปรวนในกลุ่ม ค่า repeatability (s_r) จึงคำนวณได้จาก ค่ารากที่สองของ mean square (MS) within groups [13] ซึ่ง มีค่าเท่ากับ 0.0069 ดังนั้น s_r จึงเท่ากับ 0.0831 หรือ 8.7%RSD ที่ปริมาณปรอท 0.96 $\mu g\ kg^{-1}$ ส่วนตัวอย่างชุดที่ 2 พบว่า $F_{cal} > F_{crit}$ เช่นกัน ค่า s_r จึงคำนวณได้จากค่ารากที่สองของ 0.081 จะได้ s_r เท่ากับ 0.28 หรือ 3.4%RSD ที่ปริมาณปรอท 8.2 $\mu g\ kg^{-1}$ จะเห็นว่าค่าความคลาดเคลื่อนสัมพัทธ์ที่ได้ต่ำกว่าค่าที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ AOAC [11] คือ 15%RSD สำหรับช่วงความเข้มข้น 8-100 $\mu g\ kg^{-1}$

ตารางที่ 4 ค่าทางสถิติ Single ANOVA ของตัวอย่างชุดที่ 1 และตัวอย่างชุดที่ 2

ตัวอย่างชุดที่ 1

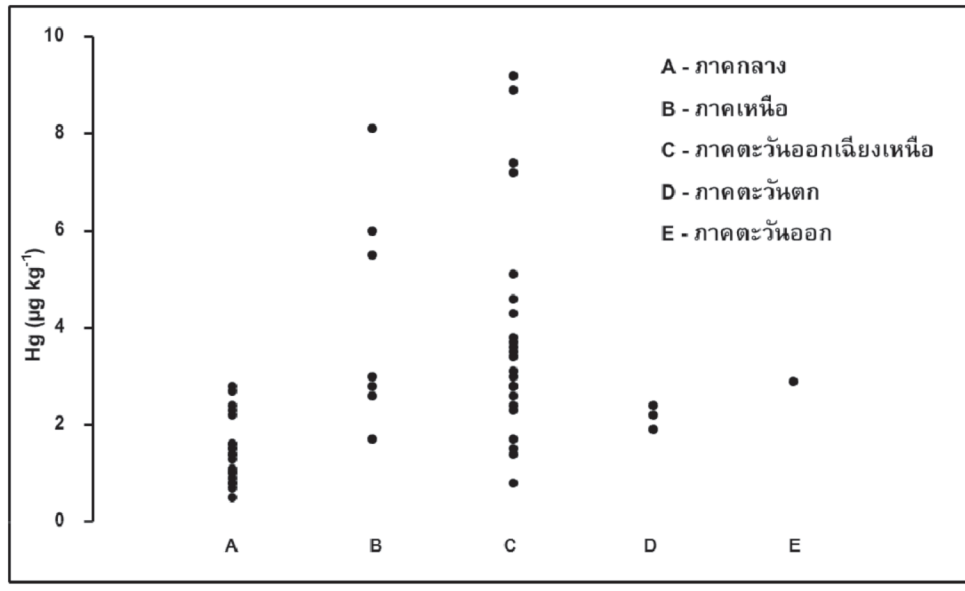
Source of Variation	SS	df	MS	F_{cal}	P-value	F_{crit}
Between Groups	0.26	4	0.0654	9.39	0.00	3.48
Within Groups	0.07	10	0.0069			
Total	0.33	14				

ตัวอย่างชุดที่ 2

Source of Variation	SS	df	MS	F_{cal}	P-value	F_{crit}
Between Groups	6.75	4	1.69	20.94	0.00	3.48
Within Groups	0.81	10	0.081			
Total	7.56	14				

5. ปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้า

ปริมาณของปรอทที่ตรวจพบในข้าวจำนวนทั้งหมด 56 ตัวอย่าง จาก 5 ภูมิภาคของประเทศไทย แสดงดังรูปที่ 4 โดยปริมาณปรอทที่ตรวจพบมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 2.9 ± 0.8 μg kg^{-1} ข้าวเจ้าตัวอย่างจากจังหวัดสุรินทร์มีปริมาณปรอทต่ำสุดเท่ากับ 0.51 ± 0.03 μg kg^{-1} ข้าวเจ้าตัวอย่างจากจังหวัดอุดรธานีมีปริมาณปรอทสูงสุดเท่ากับ 9.2 ± 0.6 μg kg^{-1} ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์ระดับปรอทสูงสุดที่อนุญาตให้มีได้ในอาหารทั่วไปคือ 20 μg kg^{-1} ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (พ.ศ. 2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน ซึ่งจากบทความปริทัศน์ [14] ระบุว่ามีงานวิจัยที่ทำการตรวจวัดปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าที่ปลูกในประเทศไทยในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2544-2553 พบปริมาณปรอทอยู่ที่ 1.8-4.8 μg kg^{-1} และมีการตรวจพบปรอทในตัวอย่างข้าวจากจังหวัดพิจิตรสูงถึง 212 μg kg^{-1} อันเนื่องมาจากบริเวณนั้นมีการทำเหมืองทองจึงทำให้พบปริมาณปรอทสูงมากจึงเห็นได้ว่าหากบริเวณนั้นมีการทำเหมืองแร่หรืออุตสาหกรรมต่างๆ มาก โอกาสที่จะพบปรอทก็มากขึ้นเช่นกัน



รูปที่ 4 ปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้า (n=3)

สรุปผลการทดลอง

เทคนิควิเคราะห์ปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อน จัดเป็นเทคนิคการวิเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพมาก สามารถวัดปรอทได้ในระดับนาโนกรัม โดยไม่ต้องย่อยตัวอย่าง ทำให้การวิเคราะห์รวดเร็วขึ้นมาก ข้อระวังของเทคนิคนี้คือต้องทำให้ตัวอย่างมีความเป็นเนื้อเดียวกันมากที่สุด เนื่องจากเป็นการตรวจวัดตัวอย่างโดยตรงและใช้น้ำหนักตัวอย่างน้อยมากในระดับมิลลิกรัม นอกจากนี้ระหว่างการวิเคราะห์ควรมีการตรวจวัดโบ๊ทเปล่าเป็นระยะเพื่อให้มั่นใจว่าไม่มีการปนเปื้อนของปรอทข้ามตัวอย่าง เครื่องวิเคราะห์ปรอท MA-3000 ที่ใช้นี้เป็นหนึ่งในเครื่องวัดปรอทโดยตรงด้วยการสลายตัวด้วยความร้อนหรือด้วยการเผาไหม้ที่มีขายอยู่ในปัจจุบัน นอกจากนี้จะมีเครื่อง DMA 80 (Milestone, Italy) ซึ่งมีงานวิจัยที่ใช้เครื่องนี้ในการวิเคราะห์ปรอทใน น้ำผึ้ง [15] ตะกอนจากทะเล [16] และเนื้อเยื่อของสัตว์ [17] อาหารสัตว์ [18] เวย์โปรตีน [19] และยังมีเครื่อง AMA-254 (Courtage Analyses Services, France) ใช้วิเคราะห์ปรอทในเส้นผมคนและขนสัตว์ [20] จะเห็นว่าเทคนิคนี้เป็นที่นิยมมากในปัจจุบัน สำหรับผลการวิเคราะห์หาปริมาณปรอทในตัวอย่างข้าวเจ้าด้วยเครื่องวิเคราะห์ปรอทโดยตรงในงานวิจัยนี้ พบว่ามีปริมาณปรอทอยู่ในเกณฑ์ปลอดภัยต่อการบริโภค โดยเป็นตัวอย่างข้าวเจ้าที่ปลูกในประเทศไทยระหว่างปี พศ. 2558-2559

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท โคแอกซ์ กรุป คอร์ปอเรชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ปรอท MA-3000 ของบริษัท Nippon Instruments Corporation; NIC ประเทศญี่ปุ่น

เอกสารอ้างอิง

1. Ferreira, S. L. C., Lemos, V. A., Silva, L. O. B., Queiroz, A. F. S., Souza, A. S., da Silva, E. G. P., dos Santos, W. N. L., & das Virgens, C. F. (2015). Analytical strategies of sample preparation for the determination of mercury in food matrices; A review. *Microchemical Journal, 121,* 227-236.
2. U.S. EPA. (2017). Report Number: SW-846: Mercury in solids and solutions by thermal decomposition, Amalgamation, and atomic absorption spectrophotometry, Revision 0. Washington, DC.
3. Silva, L. O. B., da Silva, D. G., Leao, D. J., Matos, G. D., & Ferreira, S. L. C. (2012). Slurry sampling for the determination of mercury in rice using cold vapor atomic absorption spectrometry. *Food Analytical Methods, 5,* 1289-1295.
4. Da Silva, M. J., Paim, A. P., Pimentel, M. F., Cervera, M. L., & de la Guardia, M. (2010). Determination of mercury in rice by cold vapor atomic fluorescence spectrometry after microwave-assisted digestion. *Analytica Chimica Acta, 667,* 43-48.
5. Li, B., Shi, J. B., Wang, X., Meng, M., Huang, L., Qi, X. L., He, B., & Ye, Z. H. (2013). Variations and constancy of mercury and methylmercury accumulation in rice grown at contaminated paddy field sites in three provinces of China. *Environment Pollution, 181,* 91-97.
6. Liu, C. F., Wu, C. X., Rafiq, M. T., Aziz, R., Hou, D. D., Ding, Z. L., Lin, Z. W., Lou, L. J., Feng, Y. Y., Li, T. Q., & Yang, X. E. (2013). Accumulation of mercury in rice grain and cabbage grown on representative Chinese soils. *Journal of Zhejiang University Science B, 14,* 1144-1151.
7. Fang, Y., Pan, Y., Li, P., Xue, M., Pei, F., Yang, W., Ma, N., & Hu, Q. (2016). Simultaneous determination of arsenic and mercury species in rice by ion-pairing reversed phase chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry. *Food Chemistry, 213,* 609-615.
8. Jimenez-Moreno, M., Lominchar, M. A., Sierra, M. J., Millan, R., & Martin-Doimeadios, R. C. R. (2018). Fast method for the simultaneous determination of monomethylmercury and inorganic mercury in rice and aquatic plants. *Talanta, 176,* 102-107.
9. Chepprasop, C., Salehm, H., & Anomunee, R. (2017). Chemical composition and amylose content in local rice variety from phatthalung rice research center. *Science and Technology RMUTT Journal, 7*, 84-97.
10. Jalilehvand, F., Leung, B. O., Izadifard, M., & Damian, E. (2006). Mercury(II) cysteine complexes in alkaline aqueous solution. *Inorganic Chemistry, 45,* 66-73.

11. *AOAC SMPR 2012.007. Standard Method Performance Requirements for Determination of Heavy Metals in a Variety of Foods and Beverages* Arlington, Virginia, USA.
12. *Atomic spectroscopy; A guide to selecting the appropriate technique and system.* (2013), Perkin Elmer, Inc. p. 14.
13. Thompson, M. & Lowthian, P. J. (2011). Notes on statistics and data quality for analytical chemists. London. Imperial College Press. p. 56.
14. Rothenberg, S. E., Windham-Myers, L., & Creswell, J. E. (2014). Rice methylmercury exposure and mitigation: A comprehensive review. *Environmental Research, 133,* 407-23.