



บทความวิชาการเพื่อการศึกษาต่อเนื่องทางเภสัชศาสตร์  
เรื่อง หลักการของ inductively coupled plasma optical emission  
spectroscopy และการเตรียมตัวอย่าง

ผู้เขียน รศ.ดร.ภก. นมนต์ ทิรัญ  
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เภสัชกรรม  
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

จำนวนหน่วยกิตการศึกษาต่อเนื่อง  
3.0 หน่วยกิต

### วัตถุประสงค์เชิงพฤติกรรม

1. เพื่อให้เข้าใจหลักการของ inductively coupled plasma optical emission spectroscopy
2. เพื่อให้ทราบแนวทางพื้นฐานในการเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ด้วย inductively coupled plasma optical emission spectroscopy
3. เพื่อให้ทราบถึงที่มาและความสำคัญของการใช้ inductively coupled plasma optical emission spectroscopy ในการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยา

### บทคัดย่อ

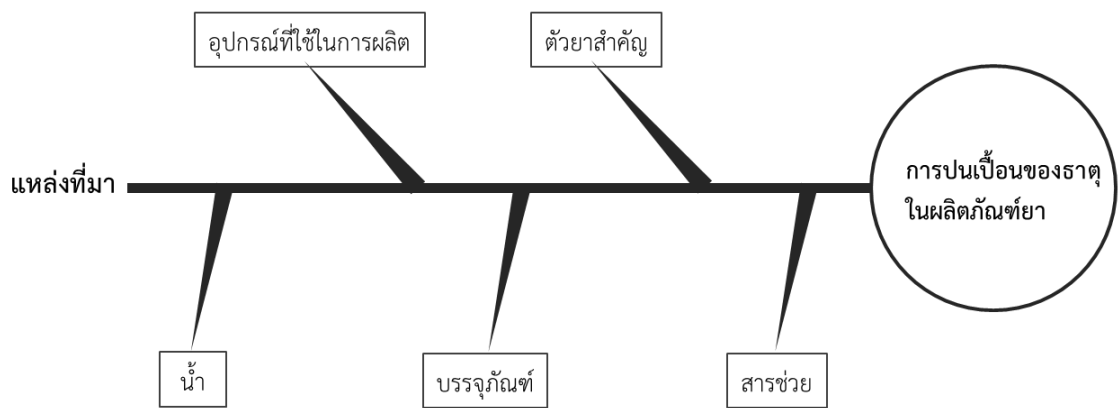
การปนเปื้อนของธาตุในผลิตภัณฑ์ยาอาจก่อให้เกิดปัญหาด้านคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ยา ตำราฯ The United States Pharmacopeia and The National Formulary (USP-NF) มีการกำหนดบททั่วไปที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพหัวข้อ elemental impurities โดย inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) เป็นหนึ่งเทคนิคที่มีการนำมาใช้ในกระบวนการวิเคราะห์และควบคุมคุณภาพเกี่ยวกับ elemental impurities ความเข้าใจเกี่ยวกับแนวคิดในการควบคุมคุณภาพหัวข้อ elemental impurities หลักการของเทคนิค ICP-OES รวมทั้งความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการเตรียมตัวอย่างจึงมีบทบาทสำคัญ ในบทความนี้รวบรวมข้อมูลที่เกี่ยวข้องในประเด็นต่างๆ ข้างต้นเพื่อเป็นพื้นฐานในการปฏิบัติงานที่เกี่ยวข้องกับเทคนิค ICP-OES

**คำสำคัญ (3-5 คำ)** inductively coupled plasma optical emission spectroscopy, ICP-OES, elemental impurities

### บทนำ

การปนเปื้อนของธาตุในผลิตภัณฑ์ยาอาจมาจากแหล่งที่มาต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 1 ตัวอย่างธาตุปนเปื้อนที่อาจมาจากวัตถุดิบตัวยาคัญ (active pharmaceutical ingredient: API) น้ำ หรือสารช่วย (excipient) เช่น arsenic (As) cadmium (Cd) mercury (Hg) lead (Pb) ฯลฯ [1, 2] ตัวอย่างธาตุปนเปื้อนที่อาจหลงเหลือจาก

การใช้ตัวเร่งปฏิกิริยาในการสังเคราะห์วัตถุอันตรายสำคัญ เช่น iridium (Ir) osmium (Os) palladium (Pd) platinum (Pt) rhodium (Rh) ruthenium (Ru) ฯลฯ [1, 2] นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ยาอาจเกิดการปนเปื้อนธาตุจากการสัมผัสกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตหรือบรรจุภัณฑ์ที่มีการปนเปื้อน ตัวอย่างธาตุที่อาจปนเปื้อนมาจากอุปกรณ์หรือบรรจุภัณฑ์ เช่น chromium (Cr) copper (Cu) molybdenum (Mo) nickel (Ni) vanadium (V) ฯลฯ [1, 2] ธาตุบางชนิดก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายแม้จะได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณน้อย การปนเปื้อนของธาตุอาจเร่งการสลายตัวของตัวยาสำคัญในผลิตภัณฑ์ยา ทำให้ประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ยาลดลงและอาจก่อให้เกิดพิษจากสารสลายตัวที่เกิดขึ้น ดังนั้นการวิเคราะห์ธาตุและควบคุมปริมาณการปนเปื้อนของธาตุในผลิตภัณฑ์ยาจึงมีความสำคัญ



**รูปที่ 1** แผนภูมิแกงปลาแสดงการประเมินความเสี่ยงจากแหล่งที่มาของการปนเปื้อนของธาตุสู่ผลิตภัณฑ์ยา (ดัดแปลงจาก [2])

ในอดีตตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา และตำราแนชานาลฟอร์มูลารี (The United States Pharmacopeia and The National Formulary: USP-NF) มีบททั่วไป (General Chapter) <231> Heavy Metals ซึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพในส่วนของการปนเปื้อนโลหะหนัก หลักการของการทดสอบคือ การประเมินการปนเปื้อนโลหะหนักโดยการทำปฏิกิริยาให้เกิดโลหะซัลไฟด์ (metallic sulfides) ของโลหะที่ปนเปื้อนในสารตัวอย่าง แล้วเปรียบเทียบความเข้มของสีสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐานที่มี lead อยู่ ตามที่ระบุในบททั่วไป <231> วิธีทดสอบนี้จะครอบคลุมการวิเคราะห์ธาตุ 10 ชนิด ได้แก่ Pb Hg As Cd Cu bismuth (Bi) antimony (Sb) tin (Sn) silver (Ag) molybdenum (Mo) การทดสอบนี้ไม่ครอบคลุมธาตุบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมาจากอุปกรณ์ เช่น Ni Cr ฯลฯ และไม่ครอบคลุมธาตุบางชนิดซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากการใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น Pd Pt ฯลฯ แม้วิธีการทดสอบที่ระบุในบททั่วไป <231> จะเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายและราคาไม่แพง แต่ก็มีข้อจำกัดหลายประการ ดังนี้ [3, 4]

- วิธีนี้ไม่มีความจำเพาะกับชนิดของโลหะหนัก ทำให้กรณีที่พบการปนเปื้อนจะไม่สามารถจำแนกได้ว่าเป็นการปนเปื้อนของโลหะหนักชนิดใด

- การเทียบความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างด้วยสายตาอาจแตกต่างกันและขึ้นกับผู้วิเคราะห์แต่ละคน ซึ่งโดยทั่วไปจะสังเกตเห็นเมื่อธาตุปนเปื้อนเทียบได้กับความเข้มข้นของ lead เท่ากับ 10 ถึง 20 ppm ซึ่งไม่มีความเชื่อมโยงกับความเข้มข้นในการเกิดพิษของโลหะหนักแต่ละตัว
- การเทียบความเข้มข้นของสีเป็นวิธีที่สังเกตได้ยากและขึ้นกับผู้วิเคราะห์แต่ละคน ส่วนประกอบของตัวอย่าง และเวลาในการเกิดปฏิกิริยาอาจส่งผลต่อสารผลิตภัณฑ์ สี และความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง
- ตัวอย่างที่ไม่ละลายในน้ำจะต้องผ่านการใช้ความร้อนหรือการเผาตัวอย่างให้เป็นเถ้า การเตรียมตัวอย่าง ผ่านกระบวนการดังกล่าวอาจทำให้เกิดการสูญเสียธาตุที่ต้องการวิเคราะห์
- ใช้สารตัวอย่างในปริมาณมาก ซึ่งเป็นข้อจำกัดในกรณีที่มีตัวอย่างปริมาณน้อย

การประเมินการปนเปื้อนโลหะตามบททั่วไป (General Chapter) <231> Heavy Metals มีข้อกำหนดหลายประการ ตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับแก้ไขครั้งที่ 38 และตำราเนชันนาลฟอร์มูลารี ฉบับที่ 33 (The United States Pharmacopeia, Thirty-Eighth Revision, and The National Formulary, Thirty-Third Edition: USP 38-NF 33) ได้ยกเลิกบททั่วไป <231> Heavy Metals โดยให้มีผลอย่างเป็นทางการตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2561 และมีการเพิ่มบททั่วไป <232> Elemental Impurities-Limits ซึ่งครอบคลุมการควบคุมปริมาณธาตุจำนวน 24 ชนิด และ <233> Elemental Impurities-Procedures [5] โดยกระบวนการวิเคราะห์ และเทคนิคหลักสำหรับการวิเคราะห์ที่ระบุไว้มี 2 เทคนิค คือ inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) และ inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) ซึ่งทั้งสองเทคนิคเป็นวิธีการวิเคราะห์ธาตุ (elemental analysis) โดยใช้ inductively couple plasma (ICP) เป็นแหล่งกำเนิดการกระตุ้น (excitation source) ที่มีอุณหภูมิสูง ในบทความนี้จะกล่าวถึง ICP-OES ซึ่งเป็นเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับการวัดการเปล่งแสงออกมาจากอะตอมของธาตุ (atomic emission)

### การแบ่ง class ของ elemental impurities

การจัดประเภทของ elemental impurities ตามตำราฟาร์มาโคเปียของสหรัฐอเมริกา ฉบับแก้ไขครั้งที่ 42 และตำราเนชันนาลฟอร์มูลารี ฉบับที่ 37 (The United States Pharmacopeia, Forty-Second Revision, and The National Formulary, Thirty-Seventh Edition: USP 42-NF 37) ในบททั่วไป <232> Elemental Impurities-Limits แบ่งเป็น class 1 class 2A class 2B และ class 3 จากตารางที่ 1 แสดงการจัดประเภท elemental impurities ในผลิตภัณฑ์ยาที่ระบุใน USP 42-NF 37 การจัดประเภท elemental impurities อิงตามความเป็นพิษตามค่า permitted daily exposer (PDE) และโอกาสที่จะปนเปื้อน [3, 6] ค่า PDE เป็นค่าปริมาณสูงสุดของธาตุปนเปื้อนแต่ละชนิดที่ร่างกายได้รับต่อวันแล้วยังถือว่าอยู่ในระดับที่ปลอดภัย [7] ค่า PDE ที่ระบุใน USP-NF เป็นค่าที่กำหนดโดยพิจารณาจากข้อมูลด้านพิษวิทยาของธาตุแต่ละชนิด

class 1 คือ ธาตุที่เป็นพิษต่อมนุษย์ ซึ่งปกติห้ามใช้ในอุตสาหกรรมยา ธาตุใน class นี้ต้องทำ risk assessment ทุกกรณี ธาตุ 4 ชนิดใน class นี้ ได้แก่ cadmium lead arsenic และ mercury

class 2 คือ ธาตุที่ความเป็นพิษขึ้นกับช่องทางการได้รับเข้าสู่ร่างกาย โดย class 2 จะแบ่งเป็น 2 ประเภทย่อย คือ class 2A และ class 2B ตามโอกาสที่จะพบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ยา

-class 2A คือ ธาตุที่มีโอกาสสูงที่จะพบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ยา เพราะอาจพบในวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการผลิต เช่น stainless steel ธาตุใน class นี้จะต้องทำ risk assessment ทุกกรณี ธาตุ 3 ชนิดใน class นี้ ได้แก่ cobalt vanadium nickel

-class 2B คือ ธาตุที่มีโอกาสน้อยที่จะพบปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ยา เพราะมีโอกาสที่พบตามธรรมชาติต่ำ และมีโอกาสน้อยที่จะพบในรูป co-isolate ร่วมกับวัสดุชนิดอื่น ธาตุในกลุ่มนี้ไม่ต้องทำ risk assessment ยกเว้นกรณีที่มีการเติมเข้าไปในตัวยาสำคัญ สารช่วย หรือส่วนประกอบอื่นในผลิตภัณฑ์ยาระหว่างกระบวนการผลิต กรณีที่มีการเติมเข้าไปด้วยตัวเองต้องทำ risk assessment ธาตุ 10 ชนิดใน class นี้ ได้แก่ thallium gold palladium iridium osmium rhodium ruthenium selenium silver และ platinum

class 3 คือ ธาตุที่มีความเป็นพิษต่ำเมื่อได้รับทางการรับประทาน ธาตุ 7 ชนิดใน class นี้ ได้แก่ lithium antimony barium molybdenum copper tin chromium ความเป็นพิษของธาตุใน class นี้ขึ้นกับช่องทางที่ร่างกายได้รับ ธาตุใน class นี้ที่ต้องทำ risk assessment กรณีผลิตภัณฑ์ยาฉีด ได้แก่ lithium antimony ธาตุทุกตัวใน class นี้ต้องประเมิน risk assessment สำหรับกรณีผลิตภัณฑ์ยาสูดพ่น และ ธาตุทุกชนิดต้องทำ risk assessment กรณีที่มีการเติมเข้าไปในทุกรูปแบบผลิตภัณฑ์ยา

เกณฑ์ที่ระบุในบททั่วไป <232> Elemental Impurities-Limits จะไม่ครอบคลุมผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น radiopharmaceuticals vaccines cells ฯลฯ ตามที่ระบุในบททั่วไป <232> และไม่ครอบคลุมสารช่วยและวัตถุบตัวยาสำคัญ นอกจากระบุไว้ใน monograph ของสารนั้น แต่ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ยาต้องมีข้อมูลปริมาณ elemental impurities ของสารช่วยและวัตถุบตัวยาที่เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ยา โดยผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ยาสามารถใช้ข้อมูล elemental impurities รวมทั้งข้อมูล risk assessment จากผู้ผลิตวัตถุบตัวยาเพื่อประกอบการผ่านเกณฑ์การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาดังรายละเอียดในบททั่วไป <232> Elemental Impurities-Limits ส่วนข้อมูลเกี่ยวกับการปนเปื้อนของธาตุในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (dietary supplements) และส่วนประกอบจะถูกระบุในบททั่วไป <2232> Elemental Contaminants in Dietary Supplements [6]

ตารางที่ 1 ค่า permitted daily exposer (PDEs) ของการวิเคราะห์การปนเปื้อนธาตุ (elemental impurities) ใน USP 42-NF 37 [6]

Element	Class	Oral PDE (µg/day)	Parenteral PDE (µg/day)	Inhalation PDE (µg/day)
Cadmium	1	5	2	2
Lead	1	5	5	5
Arsenic	1	15	15	2
Mercury	1	30	3	1
Cobalt	2A	50	5	3
Vanadium	2A	100	10	1
Nickel	2A	200	20	5
Thallium	2B	8	8	8
Gold	2B	100	100	1
Palladium	2B	100	10	1
Iridium	2B	100	10	1
Osmium	2B	100	10	1
Rhodium	2B	100	10	1
Ruthenium	2B	100	10	1
Selenium	2B	150	80	130
Silver	2B	150	10	7
Platinum	2B	100	10	1
Lithium	3	550	250	25
Antimony	3	1200	90	20
Barium	3	1400	700	300

Molybdenum	3	3000	1500	10
Copper	3	3000	300	30
Tin	3	6000	600	60
Chromium	3	11000	1100	3

## การคำนวณค่า J

ในการตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (system suitability) ของวิธีที่อาศัย ICP เป็นแหล่งกำเนิดการกระตุ้น (ICP-based method) จะมีการเตรียม standardization solution และ sample solution โดยอิงตามค่าพารามิเตอร์เกี่ยวกับความเข้มข้น คือ ค่า J

ค่า J เป็นค่าความเข้มข้นของธาตุที่สนใจในการวิเคราะห์ ณ ค่าขีดจำกัดเป้าหมาย (target limit) ซึ่งนำตัวอย่างมาเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมอยู่ในช่วงความเข้มข้นของธาตุที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ที่ใช้ [6] ดังนั้นค่า J ต้องคำนึงถึงช่วงความเข้มข้นของธาตุที่สามารถวัดได้ด้วยเครื่องมือที่ใช้เพื่อกำหนด dilution factor (DF) ในการเตรียมตัวอย่างให้เหมาะสม ค่าขีดจำกัดเป้าหมายมีหน่วยเป็นน้ำหนักต่อน้ำหนัก ค่าขีดจำกัดเป้าหมายคำนวณได้จากผลหารระหว่างค่า PDE ของธาตุที่สนใจ และขนาดการรักษาส่งสูงสุดต่อวัน (maximum daily dose: MDD) ของผลิตภัณฑ์ยา [6] ค่า PDE ของธาตุชนิดเดียวกันอาจแตกต่างกันโดยขึ้นกับรูปแบบการบริหารยา ดังแสดงในตารางที่ 1

สำหรับการตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ ICP-OES ที่ระบุใน USP 42-NF 37 กำหนดให้เตรียมความเข้มข้นของธาตุที่สนใจใน standardization solution 2 ความเข้มข้น คือ 1.5J และ 0.5J ใน matched matrix ซึ่งเตรียมสารละลายให้มีส่วนประกอบตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมเหมือนกับ sample solution ส่วน sample solution จะเตรียมที่ความเข้มข้นไม่เกิน 1.5J [3, 6]

กรณีตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยา A เป็นยาสำหรับรับประทานมีขนาดการรักษาส่งสูงสุดต่อวัน หรือ ค่า MDD เท่ากับ 10 กรัมต่อวัน ในการควบคุม elemental impurities ธาตุ cadmium จะต้องพิจารณาจากค่า PDE ใน ตารางที่ 1 โดยค่า PDE เท่ากับ 5 ไมโครกรัมต่อวัน คำนวณค่าขีดจำกัดเป้าหมาย หรือ target limit จากผลหารระหว่างค่า PDE กับค่า MDD ดังนั้นค่า target limit ของ cadmium ในกรณีนี้เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกรัม ในการเตรียมสารตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วย ICP-OES ใช้ตัวอย่าง 0.2 กรัม เตรียมโดยการย่อยตัวอย่างแล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ดังนั้น ค่า  $J = (0.5 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม}) \times (0.2 \text{ กรัมต่อ } 50 \text{ มิลลิลิตร}) = 0.002 \text{ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ } 2 \text{ นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร}$  [8]

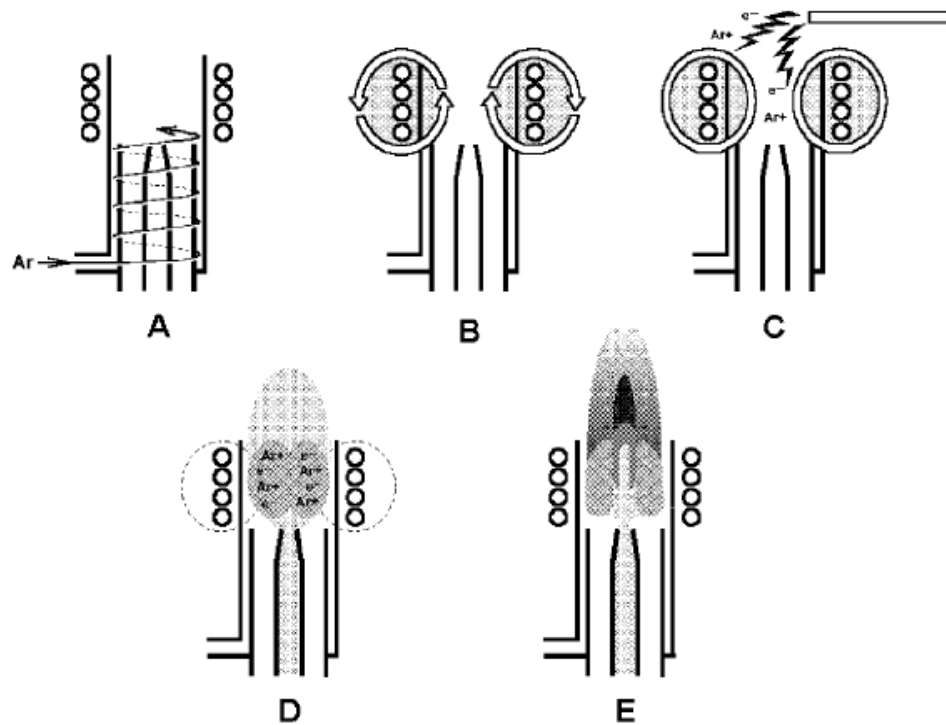
ตัวอย่างการคิดค่า J ที่อ้างอิงตัวอย่างการคิดใน USP 42-NF 37 คือ ผลิตภัณฑ์ยา B เป็นยาสำหรับรับประทานมีขนาดการรักษาส่งสูงสุดต่อวันเท่ากับ 10 กรัมต่อวัน ธาตุเป้าหมายคือ lead และ arsenic เมื่อพิจารณา ค่า PDE ของธาตุเป้าหมายแต่ละชนิด (ตารางที่ 1) คำนวณค่าขีดจำกัดเป้าหมาย หรือ target limit ของ lead

และ arsenic ได้เท่ากับ 0.5 ไมโครกรัมต่อกรัม และ 1.5 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ในการเตรียมสารตัวอย่าง สำหรับการวิเคราะห์ให้ dilution factor 1:100 ดังนั้น ค่า J ของ lead และ arsenic จะเท่ากับ 5 นาโนกรัมต่อ มิลลิลิตร และ 15 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ [6]

กรณีที่มีการปรับ dilution factor เป็น 1:500 เพื่อเตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยา B เพื่อให้เหมาะสมกับ เครื่องมือที่วิเคราะห์ การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ lead โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยา 0.2 กรัม แล้วปรับ ปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้ค่า  $J = (0.5 \text{ ไมโครกรัมต่อกรัม}) \times (0.2 \text{ กรัมต่อ } 100 \text{ มิลลิลิตร}) = 0.001$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 1 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร [3]

## Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy

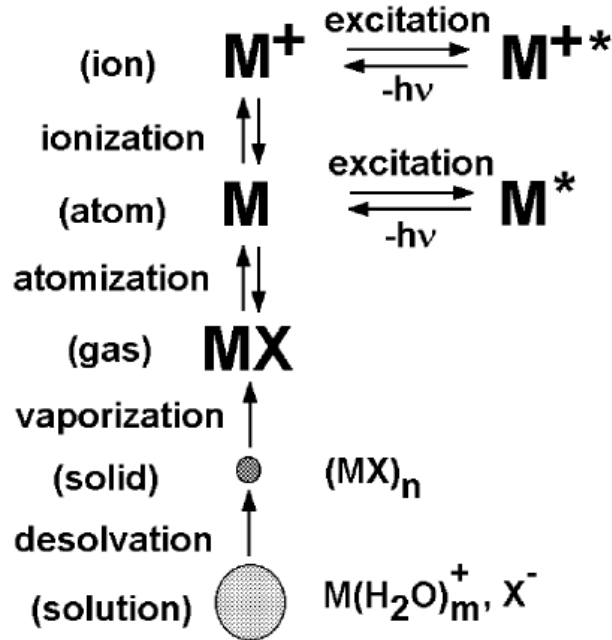
พลาสมา (plasma) เป็นสถานะของสสารซึ่งมีลักษณะคล้ายแก๊ส แต่ในพลาสมามีอิเล็กตรอนและไอออน บวกเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย พลาสมาจึงมีคุณสมบัติในการนำไฟฟ้าและอนุภาคที่มีประจุในพลาสมาเกิดอันตร กิริยากับสนามแม่เหล็กได้ โดยทั่วไปแก๊สที่ใช้ในการจุดพลาสมา คือ แก๊สเฉื่อย แก๊สที่นิยมใช้คือ แก๊สอาร์กอน เพราะแก๊สอาร์กอนมีค่าพลังงานการแตกตัวเป็นไอออนสูง มีค่าการนำความร้อนต่ำ และเกิด background น้อย [9] กระบวนการจุดพลาสมาในระบบ ICP-based method เริ่มจากการปล่อยแก๊สอาร์กอนผ่านเข้าไปในคบ (torch) ดังแสดงในรูปที่ 2 ที่บริเวณปลายคบจะมีขดลวดทองแดงทำหน้าที่เป็นขดลวดเหนี่ยวนำคลื่นวิทยุหรือ เรียกว่า load coil ซึ่ง load coil จะต่อกับอุปกรณ์ส่งความถี่วิทยุ เมื่อมีการส่งความถี่วิทยุเข้าสู่ load coil จะเกิด สนามแม่เหล็กบริเวณปลายคบ หากมีตัวนำไฟฟ้าผ่านเข้าไปในบริเวณดังกล่าวจะมีการชักนำให้เกิดกระแสไฟฟ้า ไหลผ่านตัวนำและส่งผลให้ตัวนำเกิดความร้อน แก๊สอาร์กอนปกติที่ผ่านเข้าไปในคบไม่มีคุณสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้า ณ อุณหภูมิห้อง ดังนั้นจึงต้องมีการเปลี่ยนแปลงให้แก๊สอาร์กอนที่ผ่านเข้าไปมีคุณสมบัติเป็นตัวนำไฟฟ้า โดยการ ปล่อยประจุไฟฟ้า (discharge) เพื่อให้อิเล็กตรอนหลุดออกจากอาร์กอนและทำให้แก๊สอาร์กอนบางส่วนเป็นไอออน อิเล็กตรอนจะมีความเร็วมากขึ้นและมีพลังงานสูงขึ้นเมื่อผ่านสนามแม่เหล็กบริเวณปลายคบ เรียกกระบวนการนี้ว่า inductive coupling อิเล็กตรอนพลังงานสูงไปชนอะตอมอาร์กอนอะตอมอื่น ทำให้เกิดอิเล็กตรอนเพิ่มขึ้นเป็น ปฏิกิริยาต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ ปฏิกิริยาลูกโซ่ดังกล่าวส่งผลให้แก๊สอาร์กอนที่ผ่านเข้าไปในคบเปลี่ยนเป็นพลาสมา อาร์กอน พลาสมาที่เกิดขึ้นเรียกว่า inductively coupled plasma (ICP) ICP มีอุณหภูมิสูงในช่วง 6,000 ถึง 10,000 เคลวิน อุณหภูมิสูงของพลาสมาสามารถใช้ในการวิเคราะห์ธาตุบางชนิดที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วย เทคนิคที่ใช้เปลวไฟ (flame) ในการทำให้ตัวอย่างแตกตัวเป็นอะตอม (atomization) และเกิดการกระตุ้น (excitation)



**รูปที่ 2** ภาพจำลองภาคตัดขวางของคอบ ICP และ load coil โดยแสดงกระบวนการ A) การเข้าสู่คอบของแก๊สอาร์กอน B) การส่งความถี่วิทยุไปยัง load coil C) การปล่อยประจุไฟฟ้าหรือสปาร์คให้เกิดอิเล็กตรอนอิสระจากอาร์กอน D) อิเล็กตรอนถูกกระตุ้นด้วยสนามแม่เหล็กเกิดการแตกตัวเป็นไอออน (ionization) และเกิดพลาสมา E) ละอองลอยของตัวอย่างเข้าสู่พลาสมา [10]

สารละลายตัวอย่างจะเข้าสู่คอบในรูปละอองลอย (aerosol) เมื่อตัวอย่างเข้าสู่บริเวณพลาสมาจะเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายกระบวนการดังแสดงใน**รูปที่ 3** พลาสมาจะทำให้เกิดการกำจัดตัวทำละลายออกจากละอองตัวอย่าง (desolvation) ตัวอย่างที่ผ่านการกำจัดตัวทำละลายจะอยู่ในรูปอนุภาคของแข็งขนาดเล็กที่ปราศจากตัวทำละลาย แล้วสารตัวอย่างจะเกิดการกลายเป็นไอ (vaporization) กระบวนการกลายเป็นไอเปลี่ยนอนุภาคสารตัวอย่างให้อยู่ในรูปไอของโมเลกุลอิสระ ต่อมาโมเลกุลสารตัวอย่างจะเกิดการแตกตัวเป็นอะตอม (atomization) อะตอมที่เกิดขึ้นบางส่วนอาจถูกกระตุ้นให้แตกตัวเป็นไอออน (ionization) นอกจากนี้พลาสมายังสามารถกระตุ้นอะตอมและไอออนของสารตัวอย่างให้อยู่ในสถานะกระตุ้น (excited state) ผ่านกระบวนการกระตุ้น (excitation) อะตอมและไอออนที่อยู่ในสถานะกระตุ้นจะไม่เสถียรและมีการคายพลังงานเพื่อเปลี่ยนระดับพลังงานมาสู่สถานะพลังงานที่ต่ำกว่า ดังแสดงใน**รูปที่ 4** การเปลี่ยนระดับพลังงานดังกล่าวจะมีการเปล่งแสง (emission) ที่มีลักษณะเฉพาะตัวออกมา แสงที่เปล่งออกมาสามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปี คือ inductively coupled plasma optical emission spectroscopy (ICP-OES) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES)

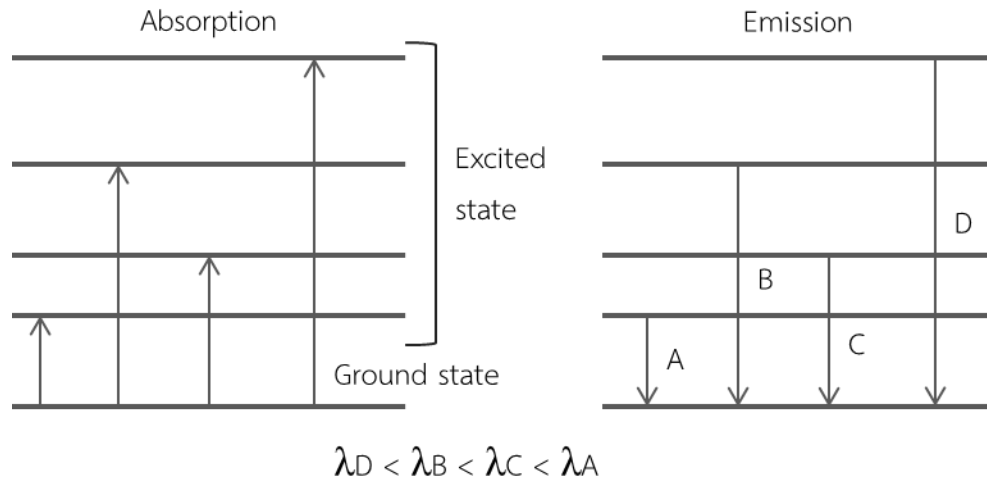




รูปที่ 3 กระบวนการที่เกิดขึ้นเมื่อละอองตัวอย่างเข้าสู่คอบ ICP [10]

### หลักการเปล่งแสงของอะตอม

การวิเคราะห์ธาตุด้วย ICP-OES อาศัยหลักการเปล่งแสงออกมาจากอะตอมธาตุ (atomic emission) หรือไอออนที่ถูกกระตุ้นด้วยพลาสมา พลาสมาจากอาร์กอนมีพลังงานประมาณ 15.8 eV [3] เมื่ออะตอมอิสระเข้าสู่พลาสมา พลังงานจากพลาสมากระตุ้นเวเลนซ์อิเล็กตรอน (valence electron) ให้อยู่ในสถานะกระตุ้นหรือหลุดออกจากอะตอม อิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้นจะคายพลังงานออกมาในรูปโฟตอนที่มีความยาวคลื่นจำเพาะ **รูปที่ 4** จำลองการเปลี่ยนระดับชั้นพลังงานของอิเล็กตรอนที่ถูกกระตุ้น อิเล็กตรอนที่อยู่ในภาวะกระตุ้นแผ่พลังงานออกมาและลงมาสู่ชั้นพลังงานที่ต่ำกว่า ถ้าการเปลี่ยนแปลงระดับชั้นพลังงานมีช่วงพลังงานที่กว้าง พลังงานที่แผ่ออกมาก็จะสูงและความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาจะมีความยาวคลื่นสั้น ความยาวคลื่นแสงที่เปล่งออกมาจะอยู่ในช่วงยูวี-วิสิเบิล (UV-visible) [11] ความยาวของคลื่นแสงที่เปล่งออกมาสัมพันธ์กับระดับชั้นพลังงานและการจัดตัวของอิเล็กตรอนในอะตอมของธาตุซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของอะตอมธาตุแต่ละชนิด นอกจากนี้ความเข้มของแสงที่เปล่งออกมายังสัมพันธ์กับปริมาณของอะตอมของธาตุในสารตัวอย่าง ดังนั้นเทคนิค ICP-OES จึงมีประโยชน์ในการวิเคราะห์ธาตุทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ



**รูปที่ 4** การดูดกลืนพลังงานและคายพลังงานโดยการเปล่งคลื่นแสง (ดัดแปลงจาก [3])

### องค์ประกอบที่สำคัญของเครื่อง ICP spectrometer

#### ระบบนำส่งตัวอย่าง (sample introduction system)

ตัวอย่างส่วนใหญ่จะถูกเตรียมในรูปสารละลาย วิธีพื้นฐานที่ใช้ทั่วไปในการนำส่งตัวอย่างที่เตรียมในรูปสารละลาย คือ การนำส่งสารละลายตัวอย่างเข้าสู่ระบบด้วยกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอย (solution nebulization) ส่วนประกอบหลักของระบบนำส่งตัวอย่างแบบนี้ คือ เครื่องพ่นละออง (nebulizer) ปัมป์สุบจ่ายของเหลวแบบรีดท่อ (peristaltic pump) และ spray chamber

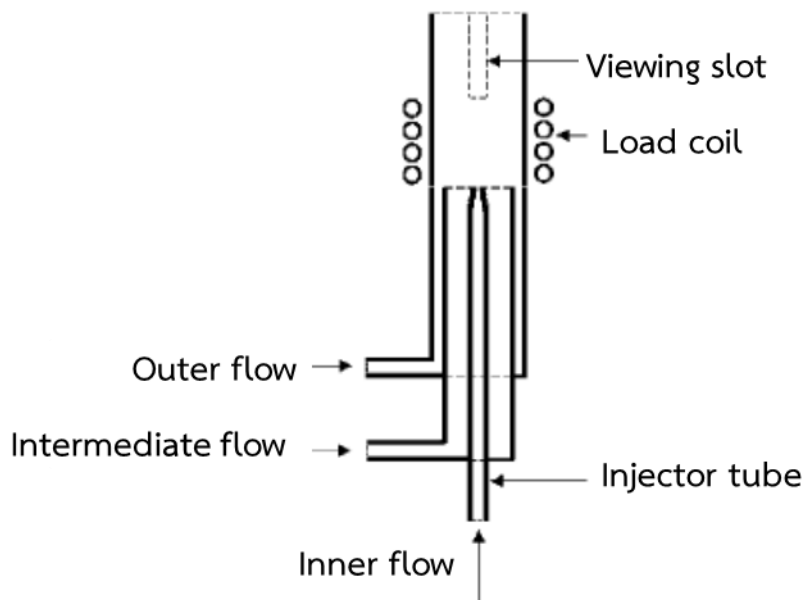
สารละลายตัวอย่างจะถูกส่งเข้าเครื่องแล้วเปลี่ยนเป็นละอองลอยผ่านกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองด้วยเครื่องพ่นละอองผ่านปัมป์สุบจ่ายของเหลวแบบรีดท่อ ละอองที่เกิดจากกระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอยอาจมีหลายขนาด โดยละอองขนาดใหญ่จะตกค้างอยู่ใน spray chamber ส่วนละอองลอยขนาดเล็กจะผ่าน spray chamber เข้าสู่คัปลาสมาเพื่อเข้าสู่กระบวนการกำจัดตัวทำละลายออกจากละอองตัวอย่างต่อไป

กระบวนการดูดพ่นให้เป็นละอองลอยอาจไม่เหมาะสำหรับการนำส่งตัวอย่างบางชนิด วิธีการสำหรับนำส่งตัวอย่างบางรูปแบบที่มีข้อจำกัดในการนำส่งเข้าระบบด้วยวิธีการข้างต้น เช่น การยิงด้วยเลเซอร์ (laser ablation) การทำให้เป็นไอด้วยไฟฟ้า (electrothermal vaporization) ฯลฯ การยิงด้วยเลเซอร์ใช้สำหรับการทำตัวอย่างในรูปของแข็งให้เป็นไอของอนุภาคเพื่อนำส่งตัวอย่าง การทำให้เป็นไอด้วยไฟฟ้าสามารถใช้ได้กับตัวอย่างในรูปของเหลวหรือของเหลวข้น (slurry) ซึ่งเป็นของผสมระหว่างของแข็งที่ไม่ละลายกับของเหลว [4]

#### ระบบกำเนิดพลาสมา (plasma generation system)

คัปลาสมาโดยทั่วไปทำจากควอตซ์ (quartz) คัปลาสมา มีลักษณะเป็นหลอด 3 ชั้น คือ ชั้นใน (inner) ชั้นกลาง (intermediate) และชั้นนอก (outer) ดังแสดงในรูปที่ 5 ขณะที่เครื่องทำงานจะมีแก๊สอาร์กอนผ่านคัปลาสมาทั้ง 3 ชั้น แต่แก๊สอาร์กอนที่ผ่านในแต่ละชั้นจะมีอัตราการไหลและหน้าที่หลักแตกต่างกัน [10, 11] ชั้นในของคัปจะมีแก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นในเรียกว่า inner

gas หรือ carrier gas ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวพาละอองลอยของตัวอย่างผ่านหลอดชั้นในไปสู่พลาสมา ชั้นถัดมาจะเป็นชั้นกลาง แก๊สอาร์กอนไหลผ่านชั้นกลางด้วยอัตราเร็วประมาณ 1 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนี้เรียกว่า intermediate gas หรือ auxiliary gas ซึ่งช่วยให้ละอองลอยของตัวอย่างที่ออกมาจากชั้นในเข้าไปในพลาสมาได้ง่ายขึ้น auxiliary gas ยังช่วยให้เกิดที่ว่างระหว่างบริเวณฐานพลาสมาที่ปลายหลอดชั้นในเพื่อป้องกันการหลอมเหลวของปลายหลอดรวมทั้งป้องกันการสลายตัวตกค้างของคาร์บอนและเกลือในหลอดชั้นใน ชั้นนอกของคอปลาสมา มีลักษณะแคบเพื่อให้แก๊สอาร์กอนไหลผ่านด้วยความเร็วสูงประมาณ 7 ถึง 15 ลิตรต่อนาที แก๊สอาร์กอนบริเวณชั้นนอกของคอปลาสมาเรียกว่า outer gas หรือ plasma gas หรือ coolant gas แก๊สอาร์กอนที่ผ่านในชั้นนอกมีหน้าที่หลักในการก่อพลาสมาและทำให้บริเวณฐานพลาสมา มีลักษณะเป็น toroidal หรือ doughnut shape นอกจากนี้แก๊สอาร์กอนที่ไหลในหลอดชั้นนอกจะไหลหมุนจากทางเข้าไปยังพลาสมา การไหลหมุนดังกล่าวป้องกันการพลาสมาขยายตัวเข้ามาในหลอดชั้นนอก ทำให้ผนังคอปลาสมาเย็น และป้องกันการหลอมเหลวของคอปลาสมา [10]



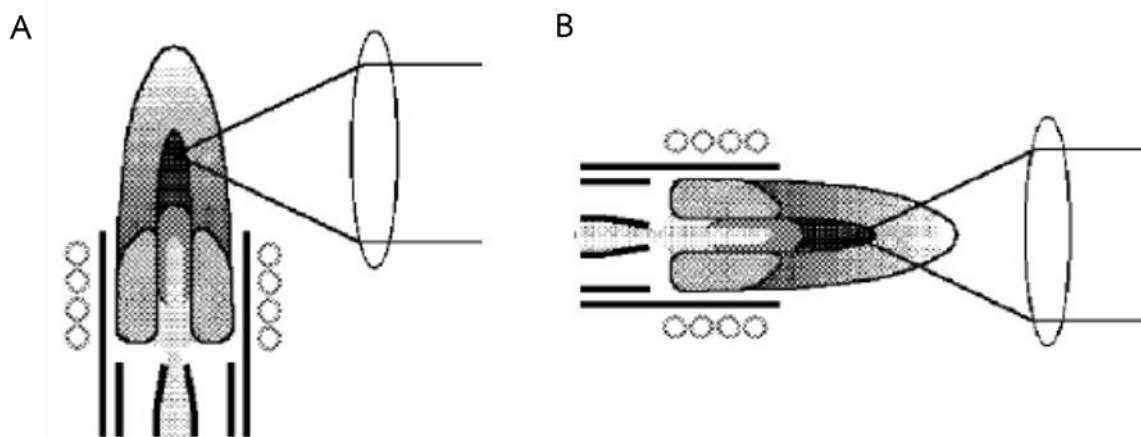
รูปที่ 5 รูปจำลองคอปลาสมาที่ใช้สำหรับ ICP-OES (ดัดแปลงมาจาก [10])

load coil หรือ induction coil เป็นขดลวดทองแดงวางตัวล้อมรอบส่วนปลายของคอปลาสมา load coil เชื่อมต่อกับเครื่องส่งความถี่วิทยุ เมื่อส่งความถี่วิทยุเข้าสู่ขดลวด load coil จะเหนี่ยวนำให้เกิดสนามแม่เหล็กบริเวณส่วนปลายของคอปลาสมา วงจรของเครื่องส่งความถี่วิทยุที่ใช้ทั่วไปมี 2 ความถี่ คือ 27 และ 40 MHz

#### ระบบตรวจวัด (detection system)

ระบบตรวจวัดเป็นระบบแยกและลำเลียงแสงที่เปล่งออกมาเข้าสู่ detector โดย มีส่วนประกอบหลักคือ grating, photomultiplier tube และ array detector

รูปแบบการวัดการเปล่งแสงมี 3 รูปแบบ คือ radial view, axial view และ dual view [12] การวัดแบบ radial view เป็นการวัดแสงที่เปล่งออกมาบริเวณด้านข้างของพลาสมาดังแสดงในรูปที่ 6A ส่วนการวัดแบบ axial view เป็นการวัดแสงที่เปล่งออกมาบริเวณปลายพลาสมาดังแสดงในรูปที่ 6B ส่วน dual view เป็นการวัดที่มีการเก็บข้อมูลทั้งแบบ radial view และ axial view การวัดแบบ radial view จะมี sensitivity น้อยกว่าการวัดแบบ axial view เพราะ path length สั้นกว่า แต่การวัดแบบ radial view มีข้อดี คือ มีค่า linearity ที่ดี และมี noise ต่ำกว่าการวัดแบบ axial view ค่าช่วง detection limit ของ radial view จะอยู่ในช่วง 0.1 ถึง 100 ppb ค่าช่วง detection limit ของ axial view จะอยู่ในช่วง 0.01 ถึง 10 ppb [3, 13] ดังนั้นการวัดแบบ radial view จะสามารถวัดตัวอย่างที่มีธาตุเจือปนในความเข้มข้นสูงโดยใช้การเจือจางสำหรับเตรียมตัวอย่างน้อยกว่าการวัดแบบ axial view แต่การวัดแบบ axial view ก็จะครอบคลุมการวัดความเข้มข้นของธาตุเจือปนในตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่ำกว่าการวัดแบบ radial view



รูปที่ 6 การวัดการเปล่งแสงแบบ A) radial view และ B) axial view (ดัดแปลงมาจาก [10])

### การเตรียมสารตัวอย่าง

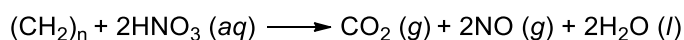
USP 42-NF 37 จำแนกรูปแบบการเตรียมตัวอย่างเป็น neat, direct aqueous solution, direct organic solution และ indirect solution [3, 6] โดย neat คือรูปแบบการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลวหรือมีกระบวนการที่สามารถใช้ตัวอย่างได้โดยตรงโดยไม่มีการใช้ตัวทำละลาย direct aqueous solution คือรูปแบบการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างที่ละลายในน้ำ ส่วน direct organic solution คือรูปแบบการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างที่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ indirect solution คือรูปแบบการเตรียมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างที่ไม่สามารถใช้น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ละลายได้โดยตรง แต่ตัวอย่างจะต้องผ่านกระบวนการเพิ่มเติมเพื่อให้ตัวอย่างเป็นสารละลาย

ระบบนำส่งตัวอย่างเข้าสู่เครื่อง ICP-OES โดยทั่วไปเป็นระบบการนำส่งตัวอย่างโดยการดูดพ่นให้เป็นละอองลอย ดังนั้นตัวอย่างที่เตรียมสำหรับใช้ในการวิเคราะห์จึงควรเป็นของเหลว สารละลายตัวอย่างในอุดมคติสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค ICP-OES ควรมีลักษณะใส ไม่มีสี และเป็นเนื้อเดียวกันโดยปราศจากอนุภาค

ที่ไม่ละลาย [3] ตัวอย่างที่เป็นของแข็งจะต้องเตรียมในรูปสารละลายโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม สำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลวที่ต้องเจือจาง การเจือจางตัวอย่างต้องเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ตัวทำละลายที่เลือกใช้ควรละลายส่วนประกอบในตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน ไม่รบกวนผลการวิเคราะห์ และไม่ทำลายอุปกรณ์ของเครื่องมือวิเคราะห์ นอกจากนี้ควรคำนึงถึงขั้นตอนการปฏิบัติงานให้ปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงาน

ตัวทำละลายที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างต้องปราศจากการปนเปื้อนของโลหะ ตัวทำละลายที่นิยมใช้เป็นตัวเลือกเบื้องต้นในการละลายสารตัวอย่างที่ละลายน้ำ คือ น้ำขจัดไอออนแล้ว (deionized water) ที่มีความบริสุทธิ์สูงและมีความต้านทานไม่น้อยกว่า 18 เมกะโอห์ม [9] ตัวทำละลายอินทรีย์จะถูกนำมาใช้ในกรณีที่ส่วนประกอบในตัวอย่างไม่ละลายน้ำ นอกจากนี้อาจมีการใช้กรดอินทรีย์ กรดผสม และสารละลายต่างเจือจางในการเตรียมตัวอย่าง

กรณีส่วนประกอบในตัวอย่างไม่ละลายในตัวทำละลายโดยตรงอาจใช้กระบวนการย่อยแบบเปียก (wet digestion) มาช่วยในการเตรียมสารเพื่อนำมาเตรียมให้เป็นวัฏภาคเดียวในรูปของสารละลาย การย่อยแบบเปียกเป็นการใช้รีเอเจนต์เป็นตัวออกซิไดส์ในการย่อยร่วมกับการให้ความร้อน ตัวออกซิไดส์ที่นิยมใช้ในกระบวนการย่อยแบบเปียกคือ กรดอินทรีย์ กรดอินทรีย์ที่ใช้อาจอยู่ในรูปสารละลายเจือจางของกรดชนิดเดียวหรือกรดผสม กรดไนตริกเจือจางเป็นกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการเตรียมตัวอย่างเนื่องจากมีผลรบกวนการวิเคราะห์น้อยกว่ารีเอเจนต์ชนิดอื่น [9] อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแบบเปียกจะขึ้นกับตัวอย่างที่ต้องการย่อย ชนิดของตัวออกซิไดส์ และความเข้มข้นของสารที่ใช้ ปฏิกิริยาระหว่างสารอินทรีย์ใดๆ ((CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>) กับกรดไนตริกจะได้ผลิตภัณฑ์ คือ คาร์บอนไดออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ และน้ำ ดังแสดงในสมการด้านล่าง [14]



กรดไฮโดรฟลูออริกเป็นกรดอินทรีย์ที่ใช้เป็นทางเลือกในกรณีที่ไม่สามารถเตรียมสารตัวอย่างด้วยตัวทำละลายหรือรีเอเจนต์อื่น ความเข้มข้นของกรดไฮโดรฟลูออริกที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่างอยู่ในช่วงร้อยละ 1 ถึง 10 [9] กรณีที่ใช้กรดไฮโดรฟลูออริกในการเตรียมตัวอย่าง อุปกรณ์ของเครื่องมือวิเคราะห์ที่สัมผัสตัวอย่างจะต้องผลิตจากวัสดุที่ทนต่อกรดไฮโดรฟลูออริก [3, 6, 9, 11]

การย่อยแบบเปียกแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ การย่อยในภาชนะเปิด (open-vessel digestion) และ การย่อยในภาชนะปิด (closed-vessel digestion) ตัวอย่างเครื่องมือให้ความร้อนสำหรับการย่อยในภาชนะเปิด เช่น เตาให้ความร้อน (hot-plate) เตาย่อย (digestion block) ฯลฯ การย่อยในภาชนะปิดมีข้อดี คือ ขั้นตอนการย่อยไม่ยุ่งยาก ค่าใช้จ่ายต่ำ และสามารถเตรียมได้ครั้งละหลายตัวอย่าง การเกิดปฏิกิริยาในการย่อยในภาชนะเปิดจะขึ้นกับจุดเดือดของสารในปฏิกิริยา ประสิทธิภาพการย่อยของการย่อยในภาชนะเปิดจะด้อยกว่าการย่อยในภาชนะปิด การย่อยในภาชนะปิดภายใต้อุณหภูมิและความดันสูงจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยตัวอย่าง การย่อยในภาชนะปิดสามารถใช้อุณหภูมิในการย่อยได้สูงเนื่องจากความดันที่สูงของอากาศเหนือของเหลวทำให้จุดเดือดของกรดมีค่าสูงขึ้น กรดจึงไม่ระเหยจนห่างระหว่างการทำการย่อย การใช้อุณหภูมิที่สูงทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาและค่าศักย์ออกซิเดชันของรีเอเจนต์สูงขึ้น [3, 14] ดังนั้นการย่อยในภาชนะปิดจึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและใช้เวลาในการย่อยลดลง นอกจากนี้การย่อยในภาชนะปิดจะลดความเสี่ยงในการปนเปื้อนและลดการสูญเสียธาตุใน

ตัวอย่างโดยเฉพาะอย่างยิ่งธาตุระเหยง่าย (volatile element) เช่น selenium mercury ฯลฯ นอกจากนี้ในการเตรียมตัวอย่างที่ธาตุเป้าหมายเป็นธาตุระเหยง่ายจะต้องคำนึงถึงการป้องกันการสูญเสียธาตุจากสารละลาย ตัวอย่างเช่น การใช้กรดไฮโดรคลอริกเพื่อให้มีไอออนคลอไรด์หรือการเติมทองเข้าไปในความเข้มข้นระดับ ppm เพื่อช่วยให้ mercury คงอยู่ในสารละลายระหว่างกระบวนการเตรียมสารละลายตัวอย่าง [3]

## บทสรุป

สารเจือปนในผลิตภัณฑ์ยาส่งผลกระทบต่อคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ยา การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาในหัวข้อ elemental impurities จึงมีความสำคัญ เทคนิค ICO-OES เป็นหนึ่งเทคนิคที่สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ elemental impurities การทำความเข้าใจหลักการและเครื่องมือจึงมีความสำคัญในการวิเคราะห์อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้การเตรียมสารตัวอย่างก็มีความสำคัญต่อผลการวิเคราะห์ เพื่อให้ประยุกต์ใช้เทคนิคและกระบวนการวิเคราะห์ได้อย่างเหมาะสม

## เอกสารอ้างอิง

1. Balaram V. Recent Advances in the Determination of Elemental Impurities in Pharmaceuticals – Status, Challenges and Moving Frontiers. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2016; 80: 83-95.
2. Pohl P, Bielawska-Pohl A, Dzimitrowicz A, Jamroz P, Welna M. Impact and Practicability of Recently Introduced Requirements on Elemental Impurities. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2018; 101: 43-55.
3. Thomas R. *Measuring Elemental Impurities in Pharmaceuticals: A Practical Guide*. Boca Raton: CRC Press; 2018.
4. Barin JS, Mello PA, Mesko MF, Duarte FA, Flores EMM. Determination of Elemental Impurities in Pharmaceutical Products and Related Matrices by ICP-Based Methods: A Review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2016; 408(17): 4547-4566.
5. The United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 38-NF 33)*. Rockville, MD; 2015.
6. The United States Pharmacopeial Convention. *The United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 42-NF 37)*. Rockville, MD; 2019.
7. Li G, Schoneker D, Ulman KL, Sturm JJ, Thackery LM, Kauffman JF. Elemental Impurities in Pharmaceutical Excipients. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015; 104(12): 4197-4206.
8. Menoutis J, Parisi A, Verma N. Study of the Use of Axial Viewed Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry with Ultrasonic Nebulization for the Determination of Select Elemental Impurities in Oral Drug Products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018; 152: 12-16.

9. Kata L, Aboul-Enein H. Elemental Impurities Determination by ICP-AES / ICP-MS : A Review of Theory, Interpretation of Concentration Limits, Analytical Method Development Challenges and Validation Criterion for Pharmaceutical Dosage Forms. *Current Pharmaceutical Analysis*. 2020; 16: 392-403.
10. Boss CB, Fredeen KJ. *Concepts, Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. USA: PerkinElmer Instruments; 2004.
11. แม้น อมรสิทธิ์ และคณะ. หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ: กรุงเทพฯ: บริษัท ชวนพิมพ์ 50 จำกัด; 2554.
12. Hou X, Amais RS, Jones BT, Donati GL. Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. In: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd.; 2016. 1-25.
13. Majumdar AJ, Dubey N. Applications of inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-OES) in impurity profiling of Pharmaceuticals. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*. 2017; 8: 5420-5425.
14. Bizzi CA, Pedrotti MF, Silva JS, Barin JS, Nóbrega JA, Flores EMM. Microwave-Assisted Digestion Methods: Towards Greener Approaches for Plasma-Based Analytical Techniques. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2017; 32: 1448-1466.