



DSS
RECOGNIZED
LABORATORY

ข้อเสนอแนะการประกันคุณภาพ
ผลการทดสอบ (Quality Assurance)
ด้านเคมีผลิตภัณฑ์ที่ใช้ Chromatography
และ UV-visible spectrophotometry
(REC-G-05)

สำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ

กรมวิทยาศาสตร์บริการ

กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

75/7 ถนนพระรามที่ 6 เขตราชเทวี กรุงเทพฯ 10400

โทรศัพท์ : 0-2201-7125 0-2201-7165 0-2201-7134

<http://bla.dss.go.th>

บทนำ

เอกสารฉบับนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นแนวทางในการประกันคุณภาพผลการทดสอบ (Quality Assurance) ด้านเคมีผลิตภัณฑ์ที่ใช้ Chromatography และ UV-visible spectrophotometry ให้มีความเหมาะสมตามหลักวิชาการ และสอดคล้องกับมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับการเตรียมความพร้อมของห้องปฏิบัติการในการยื่นขอรับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตาม ISO/IEC 17025 และมาตรฐานการยอมรับความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์บริการ รวมทั้งคณะผู้ประเมินได้นำไปใช้เป็นแนวทางในการดำเนินการในการรับรองระบบงานห้องปฏิบัติการ

สารบัญ

	หน้า
บทนำ	i
สารบัญ	ii
1. ขอบข่าย	1
2. นิยาม	1
3. การประกันคุณภาพ (Quality Assurance)	2
3.1 การควบคุมคุณภาพ (Quality Control, QC)	2
3.2 การประเมินคุณภาพ (Quality Assessment, QA)	2
4. การประกันคุณภาพผลการทดสอบ (Quality Assurance) ด้านเคมีผลิตภัณฑ์	3
5. การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control, IQC)	3
5.1 การวิเคราะห์ Independent Reference Material (IRM)	3
5.2 การตรวจสอบสมรรถนะ (performance) ของเครื่องมือ	4
5.3 การวิเคราะห์สารมาตรฐานที่มาจากแหล่งที่ต่างกัน (Calibration Verification Standard, CVS)	4
5.4 การวิเคราะห์ Reagent blank หรือ Field blank	5
5.5 การวิเคราะห์ Matrix spiked sample ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตลอดช่วงใช้งาน	7
5.6 การวิเคราะห์ซ้ำ (Duplicate) ในตัวอย่างเดียวกัน	7
6. ตัวอย่างการควบคุมคุณภาพเฉพาะเทคนิคของห้องปฏิบัติการ	8
6.1 การประกันคุณภาพผลการทดสอบโครมาโทกราฟี (Chromatography)	8
6.2 การประกันคุณภาพผลการทดสอบ UV-visible spectrophotometry	8
7. เอกสารอ้างอิง	10

1. ขอบข่าย

เอกสารฉบับนี้ใช้สำหรับห้องปฏิบัติการที่ยื่นขอการรับรองหรือได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบตาม ISO/IEC 17025 และมาตรฐานการยอมรับความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบของกรมวิทยาศาสตร์บริการ

2. นิยาม

- 2.1 วัสดุอ้างอิง (Reference Material, RM) หมายถึง วัสดุที่มีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความเสถียร โดยนำมาใช้ในการสอบเทียบหรือควบคุมคุณภาพเครื่องมือวัด
- 2.2 วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material, CRM) หมายถึง วัสดุอ้างอิงที่ได้รับการรับรองคุณสมบัติทางมาตรวิทยาจากองค์กรที่มีความน่าเชื่อถือ มีการระบุค่าอ้างอิงพร้อมค่าความไม่แน่นอน และมีการแสดงความสามารถสอบกลับได้ทางมาตรวิทยา
- 2.3 การประกันคุณภาพ (Quality Assurance, QA) หมายถึง กระบวนการและกิจกรรมที่จัดทำเพื่อให้มั่นใจว่าผลการวัดหรือการวิเคราะห์มีความน่าเชื่อถือ
- 2.4 ขีดจำกัดของการตรวจหา (Limit of Detection, LOD) หมายถึง ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ แต่ไม่ยืนยันว่าสามารถวัดเชิงปริมาณได้ถูกต้อง คุณลักษณะข้อนี้ต้องจัดทำในกรณีตัวอย่างที่วัดมีสารที่ต้องการวิเคราะห์ปริมาณน้อยหรือตรวจไม่พบ การรายงานค่าขีดจำกัดการตรวจหาไม่ต้องแสดงค่าความไวเชิงปริมาณ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่าความไม่แน่นอนของการวัด
- 2.5 ขีดจำกัดของการวัดปริมาณ (Limit of Quantification, LOQ) หมายถึง ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวัดปริมาณได้ โดยมีความแม่นยำและความเที่ยงตามที่กำหนด และให้ความไม่แน่นอนของการวัดอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ
- 2.6 Method Detection Limit (MDL) หมายถึง ความเข้มข้นสามารถวัดได้ต่ำสุดของสารที่สามารถรายงานที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ว่าความเข้มข้นที่วัดได้นั้นสามารถแยกจากผลลัพธ์ของวัตถุที่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ได้จากการเตรียมเหมือนกับการเตรียมตัวอย่างจริง (Method blank)
- 2.7 System Suitability Test (SST) หมายถึง การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ จำเป็นต้องทำก่อนเริ่มการวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์ว่าระบบโครมาโทกราฟีที่ใช้มีความสามารถในการแยก (resolution) และการวิเคราะห์ผลให้เหมือนเดิมทุกครั้ง (reproducibility) เพียงพอสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3. การประกันคุณภาพ (Quality Assurance)

การประกันคุณภาพ (Quality Assurance) เป็นส่วนหนึ่งของการสร้างความมั่นใจในความใช้ได้ของผลการวัด (ensuring the validity of results) ซึ่งห้องปฏิบัติการต้องมีขั้นตอนการดำเนินงานในการเฝ้าระวังความใช้ได้ของผลการวัด ข้อมูลต้องได้รับการบันทึกในลักษณะที่สามารถตรวจสอบแนวโน้มได้ การเฝ้าระวังนี้จะต้องมีการวางแผนและทบทวน อย่างเหมาะสม โดยการสร้างความมั่นใจของผลการวัดสามารถทำได้โดยการประกันคุณภาพ ซึ่งเป็นการดำเนินกิจกรรมบริหารงานคุณภาพ เพื่อทำให้เกิดความมั่นใจว่าจะบรรลุข้อกำหนดทางด้านคุณภาพ องค์ประกอบที่สำคัญของการประกันคุณภาพผลการวัดจะต้องอาศัยบุคลากรที่มีความรู้ความสามารถ ผ่านการฝึกอบรมและมีทักษะความชำนาญ ภาวะแวดล้อมห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม การใช้เครื่องมืออุปกรณ์ที่ได้รับการสอบเทียบ และบำรุงรักษา การใช้วิธีการวัดที่ผ่านการทวนสอบ/ตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีแล้ว การจัดการตัวอย่าง ความสามารถสอบกลับได้ทางมาตรวิทยา การประเมินความไม่แน่นอนของการวัด การควบคุมคุณภาพ และการเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการหรือเปรียบเทียบกับผลระหว่างห้องปฏิบัติการ

การประกันคุณภาพ ประกอบด้วย การควบคุมคุณภาพ (Quality Control) และการประเมินคุณภาพ (Quality Assessment)

3.1 การควบคุมคุณภาพ (Quality Control, QC)

การควบคุมคุณภาพเป็นการปฏิบัติงานที่ทำให้เกิดความเชื่อมั่น ในผลการวัดว่ามีความถูกต้อง ความเที่ยง และความไม่แน่นอนของการวัดเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด การควบคุมคุณภาพประกอบด้วย การควบคุมคุณภาพภายในและการควบคุมคุณภาพภายนอก

การควบคุมคุณภาพภายในของห้องปฏิบัติการจะต้องกระทำอย่างสม่ำเสมอ และทำได้หลายวิธีตามความเหมาะสม อาทิ การวัดซ้ำ การใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง (certified reference materials, CRMs) วัสดุอ้างอิง (reference materials, RMs) ตัวอย่างควบคุม (control samples) ตัวอย่างที่เติมสารมาตรฐาน (spiked samples) แบลงค์ (blank) รีเอเจนต์แบลงค์ (reagent blank) ตัวอย่างไม่ทราบค่า (blind sample) รวมทั้งการตรวจสอบการทำงานตามหน้าที่ของเครื่องมือทดสอบและเครื่องมือวัด (functional check) การตรวจสอบเครื่องมือวัดระหว่างใช้งาน (intermediate check) ทั้งนี้ขึ้นกับลักษณะตัวอย่างและประเภทของการทดสอบ อาจใช้แผนภูมิควบคุม (control chart) ในการเฝ้าระวังและดูแนวโน้มของผลการวัด

ส่วนการควบคุมคุณภาพภายนอกเป็นส่วนสนับสนุนที่จำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการเช่นกัน เพื่อให้เกิดความมั่นใจในการปฏิบัติงานที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ห้องปฏิบัติการต้องเฝ้าระวังความสามารถโดยการเปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่น (ถ้ามีและเหมาะสม) ซึ่งต้องมีการวางแผนและทบทวนโดยการเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ (proficiency testing) หรือการเข้าร่วมการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison)

3.2 การประเมินคุณภาพ (Quality Assessment, QA)

เป็นกิจกรรมการประเมินทั้งระบบของข้อมูลจากการควบคุมคุณภาพว่ามีประสิทธิภาพเป็นไปตามข้อกำหนดและต้องดำเนินการอย่างต่อเนื่องให้เป็นไปตามระบบคุณภาพ โดยข้อมูลจากกิจกรรมการเฝ้าระวังต้องได้รับการวิเคราะห์หรือประเมินคุณภาพ และนำไปใช้ควบคุม คุณภาพ และปรับปรุงกิจกรรมของห้องปฏิบัติการ หากพบว่าผลอยู่นอกเกณฑ์ที่กำหนดต้องมีการดำเนินการอย่างเหมาะสม

4. การประกันคุณภาพผลการทดสอบด้านเคมีผลิตภัณฑ์

การทดสอบด้านเคมีผลิตภัณฑ์มีบทบาทสำคัญต่อการคุ้มครองผู้บริโภค การควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ และการกำกับดูแลตามข้อกำหนดของกฎหมายและมาตรฐานที่เกี่ยวข้อง โดยครอบคลุมผลิตภัณฑ์หลากหลายประเภท เช่น ยา เครื่องสำอาง อาหาร เครื่องนุ่งห่ม วัสดุก่อสร้าง อิเล็กทรอนิกส์ เกษตรกรรม พลังงาน และการผลิตในภาคอุตสาหกรรมต่าง ๆ ผลิตภัณฑ์เหล่านี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต พัฒนาคุณภาพชีวิต เพิ่มความสะดวกสบาย และสนับสนุนนวัตกรรมทางเทคโนโลยีและเศรษฐกิจ

อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในขอบข่ายการทดสอบด้านเคมีผลิตภัณฑ์จำเป็นต้องได้รับการประเมินด้านความปลอดภัย เนื่องจากมีความเสี่ยงต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องดำเนินการทดสอบด้านเคมีผลิตภัณฑ์อย่างถูกต้องและได้มาตรฐาน เพื่อให้มั่นใจว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค มีคุณภาพและประสิทธิภาพเป็นไปตามที่ระบุ มีความบริสุทธิ์และปราศจากสารปนเปื้อนที่เป็นอันตราย สอดคล้องกับกฎหมาย มาตรฐานสากล และข้อกำหนดทางอุตสาหกรรม ช่วยสร้างความเชื่อมั่นต่อผลิตภัณฑ์ และป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดขึ้น รวมทั้งลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

ดังนั้น การประกันคุณภาพผลการทดสอบในห้องปฏิบัติการด้านเคมีจึงมีบทบาทสำคัญมาก เพื่อให้ผลวิเคราะห์เชื่อถือได้ ถูกต้อง ตรวจสอบย้อนกลับได้ และเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญของความปลอดภัย คุณภาพสินค้า และภาพลักษณ์ขององค์กรผู้ผลิต

ข้อกำหนด ISO/IEC 17025: 2017 คือ มาตรฐานสากลสำหรับความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบและสอบเทียบ ที่กำหนดข้อกำหนดทั่วไปทั้งด้านการบริหารจัดการ (Quality Management) และด้านวิชาการ (Technical Requirements) เพื่อให้มั่นใจว่าผลการทดสอบ/สอบเทียบมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ เป็นที่ยอมรับระดับสากล และมีประสิทธิภาพในการดำเนินงาน หัวใจสำคัญของข้อกำหนดครอบคลุมทุกด้าน ตั้งแต่การเตรียมตัวอย่าง การเลือกวิธีทดสอบ การประเมินค่าความไม่แน่นอน ไปจนถึงการบันทึกและรายงานผลโดยเน้นความสามารถทางเทคนิค ความถูกต้องของวิธีการทดสอบ และความชำนาญของบุคลากร เน้นความเสี่ยง (Risk-Based Thinking) เน้นการประเมินความเสี่ยงและโอกาสในการดำเนินงานมากขึ้น

ข้อกำหนด ISO/IEC 17025 ข้อ 7.7 กำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องแสดงหลักฐานว่าผลการทดสอบ/สอบเทียบถูกต้อง โดยต้องเข้าร่วมกิจกรรม ทดสอบความสามารถ (Proficiency Testing - PT) หรือ การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory Comparisons - ILC) เพื่อติดตามผลการดำเนินงาน และปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง หากผลลัพธ์ไม่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด ก็ต้องดำเนินการแก้ไขเพื่อป้องกันการรายงานผลที่ผิดพลาด

5. การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control, IQC)

เป็นการดำเนินงานควบคุมคุณภาพโดยห้องปฏิบัติการ ในการเฝ้าระวังการทดสอบและผลการทดสอบ ให้น่าเชื่อถือก่อนออกรายงานผลการทดสอบ และเป็นการเฝ้าระวังสมรรถนะการทดสอบแบบ day-to-day, batch-to-batch ซึ่งสามารถเลือกใช้วิธีที่เกี่ยวข้องต่างๆ ก็ชั่งก็ได้แต่ต้องครอบคลุมการควบคุมคุณภาพทั้ง 3 ด้าน คือ ความแม่นยำ ความเที่ยง และการปนเปื้อน ซึ่งสามารถเลือกได้จากวิธีต่างๆ ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของวิธีทดสอบธรรมชาติของตัวอย่าง หรือความเข้มข้นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ ได้ดังนี้

5.1. การวิเคราะห์ Independent Reference Material (IRM)

หลักการ : การใช้วัสดุอ้างอิง Reference Material (RM) หรือ วัสดุอ้างอิงรับรอง Certified Reference Material (CRM) เพื่อทดสอบวิธีทดสอบหรือตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการวิเคราะห์โดยใช้ความเข้มข้นใกล้เคียงกับตัวอย่างจริง เตรียม IRM ตามขั้นตอนเดียวกับการเตรียมตัวอย่างปกติและวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างจริง โดยใช้เครื่องมือและโปรแกรมการตั้งค่าเดียวกัน

การดำเนินงาน :

- เลือก RM/CRM ที่ช่วงความเข้มข้นสอดคล้องกับตัวอย่างจริงและมีการระบุค่าพร้อมความไม่แน่นอนและการสอบกลับได้ (traceability) ตามนิยาม CRM/NIST และนโยบาย ILAC P10
- เตรียม IRM เหมือนการเตรียมตัวอย่างจริงทุกขั้นตอน
- วิเคราะห์ด้วยสภาวะเดียวกับตัวอย่างจริง
- คำนวณ %Accuracy เทียบกับค่าอ้างอิงของ CRM และบันทึกในแบบฟอร์ม IQC เพื่อดูแนวโน้มระยะยาว

ความถี่ : อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้ง หรือทุกครั้งที่ทำการทดสอบ

เกณฑ์การยอมรับ :

- %accuracy ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับค่าจริง (true value) ในทุกระดับความเข้มข้น หรือมีค่าอยู่ในเกณฑ์ตามที่มาตรฐานกำหนดไว้

5.2 การตรวจสอบสมรรถนะ (performance) ของเครื่องมือ

หลักการ : การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) โดยปกติใช้ Standard 3 - 5 ระดับความเข้มข้น (หรือตามที่มาตรฐานกำหนดไว้) ฉีดเข้าสู่เครื่องมือหรือทำการวัดด้วยวิธีที่กำหนด แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นและสัญญาณ (Calibration curve) แล้วจึงพิสูจน์ linear range จากค่า r หรือ R^2 เพื่อตรวจสอบว่าระบบให้สัญญาณตอบสนองเป็นเชิงเส้นกับความเข้มข้นตามหลักของเครื่องมือหรือไม่

การดำเนินงาน :

- เตรียมสารมาตรฐาน โดยปกติใช้ Standard 3 - 5 ระดับความเข้มข้น (หรือตามที่มาตรฐานกำหนดไว้) ให้ครอบคลุมช่วงใช้งาน
- สร้าง Calibration curve และประเมินความเป็นเชิงเส้น (linearity) ตามนิยามใน ICH Q2(R2)/Eurachem (พิจารณา residual plot, ความชัน, ความเชิงเส้นเชิงสถิติ ไม่อาศัย R^2 เพียงลำพัง)
- พิสูจน์ linear range และกำหนด working range ที่ใช้รายงานผลจริง
- บันทึกค่าและนำเกณฑ์ไปควบคุมคุณภาพรายวัน (เช่น ใช้จุดตรวจสอบคงที่/verification)

ความถี่ : ตามคำแนะนำที่ผู้ผลิตเครื่องมือกำหนด ตามที่มาตรฐานกำหนดไว้

เกณฑ์การยอมรับ : $r = 0.995$ หรือ $R^2 = 0.990$ และการรายงานผลไม่ควรเกินจุดสูงสุดของกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) หากไม่ผ่านเกณฑ์ต้องทำการล้างระบบหรือเปลี่ยนสารละลายมาตรฐาน การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) เพื่อการตรวจสอบสมรรถนะ (performance) ของเครื่องมือสามารถใช้กราฟเดียวกันกับการวิเคราะห์ตัวอย่างได้ แต่ต้องพิจารณาวัตถุประสงค์ของการใช้งานให้ชัดเจน ในเชิงปฏิบัติกราฟมาตรฐานที่สร้างขึ้นเพื่อวิเคราะห์ตัวอย่าง (Sample

Analysis) จะแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณตอบสนองและความเข้มข้น ซึ่งผลลัพธ์จากกราฟนี้เองที่ใช้บ่งชี้ สมรรถนะ (Performance) ของเครื่องมือในขณะนั้นได้ เช่น ค่าความชัน (Sensitivity), ค่าจุดตัดแกน (Background), และค่าสหสัมพันธ์

เงื่อนไขสำคัญ: หากใช้กราฟนี้เพื่อ "ตรวจสอบสมรรถนะ" อย่างเป็นทางการ (เช่น การทำ System Suitability Test) กราฟนั้นต้องครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสมและมีเกณฑ์การยอมรับ (Acceptance Criteria) ที่ชัดเจนตามที่วิธีวิเคราะห์กำหนดไว้ รวมทั้งเป็นเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความเสถียรสูง และผลการตรวจสอบ Calibration Verification (การรัน Check Standard) อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ มีการทำ Intermediate Check ตามแผนการประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการ

กรณีที่มีการสร้างกราฟใหม่ขึ้นมาเพื่อการวิเคราะห์ตัวอย่างเพิ่มเติม เมื่อเป็นข้อกำหนดของวิธีมาตรฐาน (เช่น HPLC ในบาง Standard Method ต้องสร้าง Calibration Curve ทุก Batch หรือทุกวัน) หรือมีการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสำคัญ เช่น เปลี่ยนคอลัมน์ใหม่, เตรียม Mobile phase ใหม่, หรือหลังจากซ่อมบำรุงเครื่องมือ

5.3 การวิเคราะห์สารมาตรฐานที่มาจากแหล่งที่ต่างกัน (Calibration Verification Standard, CVS)

หลักการ : อาจเรียกว่า Calibration check หรือ IRM ก็ได้ ซึ่งคือสารมาตรฐานที่มาจากแหล่งที่ต่างกัน หรือรุ่นการผลิต (batch) ที่ต่างกัน หรือ ผู้ผลิต (supplier) ที่ต่างกับสารมาตรฐานที่ใช้นำมาสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) โดยใช้ความเข้มข้นเดียวที่ความเข้มข้นใกล้จุดกึ่งกลางของ calibration range นำมาวิเคราะห์เหมือนตัวอย่างจริง เพื่อเป็นการทวนสอบความถูกต้องของกราฟมาตรฐาน ช่วยตรวจสอบว่าความผิดปกติที่ไม่สามารถสังเกตได้จากการคำนวณค่า R^2 เช่น จุดสอบเทียบที่ผิดปกติ และการสอบเทียบที่สร้างไว้ยังคงใช้งานได้อยู่

การดำเนินงาน :

- เลือกมาตรฐานจาก ล็อตหรือผู้ผลิตที่แตกต่างจากสารมาตรฐานที่ใช้สร้าง Calibration curve
- วิเคราะห์ที่ ระดับใกล้กึ่งกลาง ของช่วงสอบเทียบ (หรือหลายระดับหากต้องควบคุมหลายช่วง)
- คำนวณ %Recovery เทียบค่าที่คาดจาก Calibration curve
- หากไม่ผ่าน ให้ตรวจสอบ curve/สารมาตรฐาน/ระบบ และทำการสอบเทียบใหม่หากจำเป็น

ความถี่ : ทุก 10-20 ตัวอย่าง หรือทดสอบระหว่างตัวอย่างแต่ละชุด (batch)

เกณฑ์การยอมรับ : %accuracy $\pm 10\%$ ของค่าจริง (true value) หากไม่ผ่านเกณฑ์ให้ต้องทำการสอบเทียบใหม่ หรือทวนสอบสารมาตรฐานที่ใช้

5.4 การวิเคราะห์ Reagent blank หรือ Field blank

หลักการ : Blank คือ วัตถุที่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ ซึ่งการวิเคราะห์ blank ด้วยสภาวะเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่างจริง เพื่อให้แน่ใจว่า สัญญาณทั้งหมดเป็นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ ไม่ได้มาจาก Reagent ที่ใช้ในการวิเคราะห์หรือการปนเปื้อนจากเครื่องแก้วและสารเคมี

ความถี่ : ทุก 10-20% ของจำนวนตัวอย่างในแต่ละชุดตัวอย่าง (batch)

5.4.1 ประเภทของ Blank

5.4.1.1 Calibration blank หรือ Instrument blank คือ วัตถุที่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ใช้สำหรับทดสอบหรือปรับศูนย์ของเครื่องมือ เช่น เมทานอล หรือน้ำกลั่น เป็นต้น

หลักการ : นำ Calibration blank หรือ Instrument blank ฉีดเข้าระบบและทำการวิเคราะห์ในสถานะเดียวกับตัวอย่างจริง เพื่อตรวจสอบว่าระบบของเครื่องมือไม่มีสัญญาณพื้นหลัง (Background noise) สูงผิดปกติที่อาจมีผลต่อค่าต่ำสุดของการวิเคราะห์

การดำเนินงาน :

- เตรียม Blank ที่เป็นตัวทำละลายบริสุทธิ์หรือ Mobile phase (HPLC/GC) ที่ไม่มี analyte
- ฉีดหรือวัด Blank ด้วยสถานะเดียวกับที่ใช้กับตัวอย่างจริง
- บันทึกสัญญาณที่ตรวจได้ (peak area / absorbance / counts)
- เปรียบเทียบสัญญาณนี้กับเกณฑ์ของวิธี (LOD หรือค่า baseline ที่กำหนด)
- หากพบสัญญาณผิดปกติ ให้ทำความสะอาดระบบ / purge / ล้างคอลัมน์ / เปลี่ยนสารละลาย แล้ววัด Blank ใหม่

ความถี่ : ก่อนเริ่มวิเคราะห์ตัวอย่างทุก Batch และหลังตัวอย่างความเข้มข้นสูง หากเสี่ยง carry-over

เกณฑ์การยอมรับ : สัญญาณต้องใกล้เคียงศูนย์ ค่าที่วัดได้ < LOD ของวิธี ห้ามมี peak ที่ตำแหน่ง Analyte หากค่าที่วัดได้สูงเกินเกณฑ์ต้องตรวจสอบความสะอาดของระบบ

5.4.1.2 Method หรือ Reagent blank คือ วัตถุที่ไม่มีสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ได้จากการเตรียมเหมือนกับการเตรียมตัวอย่างจริง แต่ใช้ตัวทำละลายแทนตัวอย่าง

หลักการ : เพื่อตรวจสอบว่าการเตรียมสาร Reagent กระบวนการย่อย หรือการสกัดตัวอย่าง ไม่มีการปนเปื้อน กรณีวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูง ต้องวิเคราะห์ blank ตามทันที เพื่อป้องกันการตกค้างของสารจากตัวอย่างที่ทำการวิเคราะห์ก่อนหน้านี้ ที่ส่งผลให้ตัวอย่างถัดไปมีสัญญาณผิดปกติ แม้ตัวอย่างถัดไปจะไม่มีสารนั้นอยู่จริงก็ตาม (carry over)

การดำเนินงาน :

- ใช้สารรีเอเจนต์หรือน้ำบริสุทธิ์ที่ปราศจาก analyte
- ผ่านขั้นตอนเดียวกับตัวอย่างจริงทั้งหมด เช่น
 - digestion / extraction / filtration
 - เติมสารเคมีเหมือนการเตรียมตัวอย่าง
- นำไปวิเคราะห์เหมือนตัวอย่าง
- เปรียบเทียบผลกับเกณฑ์ที่กำหนด
- ถ้าพบการปนเปื้อน ให้ตรวจสอบรีเอเจนต์ เครื่องแก้ว อาคารระบบไหล และ analyst technique

ความถี่ : อย่างน้อย 1 blank ต่อ 1 batch การเตรียมตัวอย่าง

เกณฑ์ยอมรับ : ค่า Blank น้อยกว่า MDL ถือว่ายอมรับได้ หรือ Blank มากกว่า MDL แต่ผลการทดสอบมากกว่า LOQ ก็ยอมรับได้เช่นกัน แต่ควรตรวจสอบว่ามีสารหรือองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ในตัวอย่าง (Analyte) ปะปนกับ blank หรือไม่ ดังนั้นต้องมีการระบุค่า MDL, LOQ ไว้ในวิธีทดสอบด้วย

5.4.1.3 Field blank

หลักการ : เหมือนกับ reagent blank แต่นำออกจากห้องปฏิบัติการไปยังบริเวณที่มีการสุ่มตัวอย่างเพื่อให้สัมผัสกับสิ่งแวดล้อม ถ่ายใส่ขวดตัวอย่าง แล้วนำกลับมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการเหมือนกับ

ตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบการปนเปื้อนจากการเก็บตัวอย่าง ใช้เมื่อมีการเก็บตัวอย่าง แล้วมีการขนย้าย ถ่ายเท และสงสัยว่ามีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อน

การดำเนินงาน :

- เติมน้ำบริสุทธิ์หรือตัวทำละลายที่ไม่มี analyte ลงในภาชนะเก็บตัวอย่าง
- นำออกไป “ภาคสนาม” พร้อมกับตัวอย่างจริง
- เปิดปิดบรรจุ / สัมผัสสภาพแวดล้อมแบบเดียวกับตัวอย่างจริง
- ส่งกลับห้องปฏิบัติการและวิเคราะห์เหมือนตัวอย่าง
- ใช้เพื่อหาว่าเกิดการปนเปื้อนจาก
 - อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง
 - การขนส่ง
 - สภาพแวดล้อม

ความถี่ : 1 blank ต่อ 1 วัน / 1 matrix หรือ 1 blank ต่อ 20 ตัวอย่าง (บางโปรแกรมกำหนดเข้มข้นขึ้น: 1 blank ต่อชุดงานภาคสนาม)

เกณฑ์ยอมรับ : Field Blank ต้อง ไม่มีการตรวจพบ analyte (non-detect) หากตรวจพบจะต้อง “flag” ตัวอย่างทั้งหมดในชุดหรือพิจารณาทำซ้ำ

5.5 การวิเคราะห์ Matrix spiked sample ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตลอดช่วงใช้งาน

หลักการ : การเติมสารมาตรฐานความเข้มข้นสูงๆ แต่ปริมาณน้อยๆ ลงในตัวอย่าง เพื่อตรวจสอบกระบวนการวิเคราะห์ว่าสามารถกู้คืนสารหรือองค์ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ได้ดีเพียงใด (analyte recovery) หรือตรวจสอบผลการรบกวนจาก matrix ของตัวอย่าง โดยสารมาตรฐานที่นำมา spiked ควรมาจากคนละแหล่งกับที่ใช้เตรียม calibration curve และความเข้มข้นของ spiked sample ควรอยู่ในช่วงเดียวกับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ ทั้งนี้ผู้วิเคราะห์ทดสอบควรแน่ใจว่าสิ่งที่เติมลงไปมีคุณสมบัติทางเคมี เหมือนตัวอย่างและรวมตัวเป็นเนื้อเดียวกับตัวอย่าง

การดำเนินงาน :

- แบ่ง “ตัวอย่างจริง” ออกเป็น 2 ส่วน: Unspiked และ Spiked (เติมมาตรฐานที่ทราบปริมาณ/ความเข้มข้นที่เหมาะสม)
- เตรียม/สกัด/วิเคราะห์เหมือนกัน
- คำนวณ %Recovery = $\frac{(\text{ผล Spiked} - \text{ผล Unspiked})}{\text{ปริมาณที่เติม}} \times 100$
- ใช้ผลเพื่อประเมิน อิทธิพลเมทริกซ์ และความถูกต้องของกระบวนการในเมทริกซ์นั้น ๆ (ปรับด้วย dilution/standard addition/เปลี่ยนขั้นตอนสกัดหากจำเป็น)

ความถี่ : อย่างน้อย ทุก batch สำหรับงานเมทริกซ์ซับซ้อนให้ทำถี่ขึ้น หรืออย่างน้อย 10–20% ของจำนวนตัวอย่างในแต่ละชุดตัวอย่าง (batch)

เกณฑ์การยอมรับ : เกณฑ์การยอมรับของห้องปฏิบัติการ คือ 80-115 %

5.6 การวิเคราะห์ซ้ำ (Duplicate) ในตัวอย่างเดียวกัน

หลักการ : การวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันสองครั้ง ภายใต้เงื่อนไขเดียวกัน เช่น วิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกัน เครื่องมือเดียวกัน ผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน เพื่อตรวจสอบความเที่ยง (Precision) ของการวิเคราะห์ และขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างว่าผลการวิเคราะห์ไม่แปรผันเกินเกณฑ์

การดำเนินงาน :

- วิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน อย่างน้อย 2 ครั้ง (อาจเป็น field dup., lab dup. หรือ การเตรียมซ้ำทั้งกระบวนการ)
- คำนวณ %RPD = $\frac{|x_1 - x_2|}{\left(\frac{x_1 + x_2}{2}\right)} \times 100$
- ใช้เพื่อประเมิน ความเที่ยง (precision) ของวิธี/กระบวนการเตรียม/นักวิเคราะห์/เครื่องมือ
- ความถี่ : ทุก 10-20% ของจำนวนตัวอย่างในแต่ละชุดตัวอย่าง (batch) หรืออย่างน้อย 1 คู่/1 batch

เกณฑ์การยอมรับ : จาก %RPD ไม่เกิน 10% ขึ้นกับระดับความเข้มข้นของสิ่งที่ต้องการวิเคราะห์ ในกรณีที่ตัวอย่างมีค่าน้อยมากหรือตรวจไม่พบ อาจใช้วิธี Matrix spiked duplicate หรือทำซ้ำใน spiked sample ซึ่งสามารถหาได้ทั้งความแม่นยำและความเที่ยงได้ในเวลาเดียวกัน เพื่อให้เกิดการเชื่อมั่นในผลการทดสอบ

6. ตัวอย่างการควบคุมคุณภาพเฉพาะเทคนิคของห้องปฏิบัติการ

6.1 การประกันคุณภาพผลการทดสอบโครมาโทกราฟี (Chromatography)

เน้นการตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (System Suitability Test, SST) เช่น การปรับสภาวะเครื่องและตัวอย่างที่เหมาะสม เพื่อให้มั่นใจว่าเครื่องมือและวิธีวิเคราะห์ทำงานได้ตามที่คาดการณ์ ก่อนการวิเคราะห์จริง พร้อมทั้งต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) สำหรับการเปลี่ยนแปลงสำคัญของเครื่อง เช่น คอลัมน์, wavelength และตัวทำละลาย (mobile phase) ตามหลักการสากล เช่น USP เพื่อให้มั่นใจว่าผลที่ได้ถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ และมีคุณภาพ.

6.1.1 องค์ประกอบสำคัญในการประกันคุณภาพ (Quality Assurance)

6.1.1.1 การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบ (System Suitability Test, SST) โดยทำก่อนและ/หรือระหว่างการวิเคราะห์จริง เช่น ทุกครั้งที่ฉีดตัวอย่างอ้างอิง

6.1.1.2 การประเมินการทำงานของระบบโครมาโทกราฟี เช่น ความละเอียดของพีค (Resolution), ความสมมาตรของพีค (Tailing Factor), จำนวนหัววัด (Plate Count) ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนคอลัมน์ใหม่, ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (Mobile Phase) ที่เปลี่ยนไปมาก.

6.1.1.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) ทำเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงวิธีวิเคราะห์ที่สำคัญ เช่น เปลี่ยนชนิดคอลัมน์, ความยาวคลื่น, อัตราการไหล (Flow Rate), สัดส่วน Mobile Phase

6.1.2 ประเมินคุณสมบัติของวิธีวิเคราะห์ เช่น ความจำเพาะ (Specificity), ความแม่นยำ (Accuracy), ความเที่ยง (Precision), ความไว (Sensitivity), ขอบเขตการหาปริมาณ (Range) การควบคุมคุณภาพ (Quality Control) โดยการใช้สารมาตรฐาน (Standards) และสารควบคุม (Controls) ในทุกครั้งที่ทำการทดสอบ การบันทึกและตรวจสอบผล SST และ QC เพื่อยืนยันความสม่ำเสมอ

6.1.3 การจัดการสารเคมีและตัวทำละลาย

6.1.3.1 เลือกใช้ตัวทำละลาย เช่น Acetonitrile, Methanol, Water และบัฟเฟอร์ เช่น Ammonium Acetate ที่มีคุณภาพ และเหมาะสมกับเทคนิค เช่น ESI, APCI

6.1.3.2 ข้อควรระวัง คือการหลีกเลี่ยงบัฟเฟอร์ที่อาจสร้างปัญหา (เช่น Phosphate ใน ESI)

การประกันคุณภาพต้องทำตั้งแต่การเลือกสารเคมีและอุปกรณ์ การตรวจสอบความเหมาะสมของระบบก่อนใช้ และการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์เมื่อมีการเปลี่ยนแปลง เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่เชื่อถือได้ในอุตสาหกรรมยาและห้องปฏิบัติการทั่วไป

6.2 การประกันคุณภาพผลการทดสอบ UV-visible spectrophotometry

เน้นการควบคุมปัจจัยต่างๆ ตั้งแต่เครื่องมือ เช่น การสอบเทียบ, ความถูกต้องของความยาวคลื่น การเตรียมตัวอย่าง เช่น ความบริสุทธิ์ของคิวเวตต์, สารละลาย การใช้หลักการทางทฤษฎี เช่น กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต) การตรวจสอบค่าที่ได้ เช่น ค่าการดูดกลืนแสง, ความเข้มข้น โดยเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงหรือสารมาตรฐาน เพื่อให้มั่นใจว่าข้อมูลที่ได้มีความแม่นยำ เที่ยงตรง, และเชื่อถือได้ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารหรือลักษณะเฉพาะของสาร

6.2.1 องค์ประกอบสำคัญในการประกันคุณภาพ

6.2.1.1 การสอบเทียบเครื่องมือ (Instrument Calibration) คือความถูกต้องของความยาวคลื่น (Wavelength Accuracy)

6.2.1.2 ใช้สารมาตรฐานที่มีค่า $\lambda_{\max}$ คือมีค่าความยาวคลื่นดูดกลืนสูงสุด ที่ทราบค่าแน่นอน เช่น โฮล์เมียมออกไซด์ (Holmium Oxide) เพื่อตรวจสอบว่าเครื่องอ่านค่าความยาวคลื่นถูกต้องหรือไม่.

6.2.1.3 ความแม่นยำของค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance Accuracy) โดยใช้สารมาตรฐาน เช่น โพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium Dichromate) ในช่วงความยาวคลื่นต่างๆ เพื่อยืนยันความถูกต้องของค่าการดูดกลืนแสง (A)

6.2.1.4 ความเสถียรของเครื่อง (Instrument Stability) เป็นการตรวจสอบความเสถียรของสัญญาณแสง (Baseline Stability) และความสม่ำเสมอของการวัดซ้ำๆ

6.2.1.5 การควบคุมตัวอย่างและสารเคมี คือการควบคุมคุณภาพสารเคมีและตัวทำละลาย โดยใช้สารเกรดวิเคราะห์ และตัวทำละลายที่ผ่านการกลั่นบริสุทธิ์

6.2.1.6 การใช้คิวเวตต์ที่เหมาะสม (Cuvette Quality) ควรเลือกใช้คิวเวตต์แก้วหรือควอตซ์ที่สะอาด ไม่มีรอยขีดข่วน และสะอาดปราศจากคราบ เพื่อป้องกันการรบกวนสัญญาณแสง

6.2.1.7 การเตรียมตัวอย่าง ควรเตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงที่ Beer-Lambert Law สามารถใช้ได้ (Linear Range)

6.2.1.8 การตรวจสอบข้อมูล (Data Verification) ตามกฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert Law) คือการตรวจสอบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างค่าดูดกลืนแสง (A) กับความเข้มข้น (c) ($A = \epsilon \cdot c \cdot l$)

6.2.1.9 การใช้สารมาตรฐาน (Standard Solutions) โดยสร้างเส้นกราฟมาตรฐาน (Calibration Curve) เพื่อหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่ไม่ทราบค่า

6.2.1.10 Blank Measurement โดยทำการวัดค่า Blank (ตัวทำละลาย) ก่อนวัดตัวอย่างเสมอ เพื่อหักล้างค่าการดูดกลืนแสงพื้นหลัง

6.2.1.11 การบำรุงรักษาและบันทึก ควรทำการบำรุงรักษาเชิงป้องกัน (Preventive Maintenance) โดยการทำความสะอาดภายในเครื่อง เปลี่ยนหลอดไฟ เมื่อจำเป็น และบันทึกข้อมูล เช่น ประวัติการสอบเทียบ, การซ่อมบำรุง, และผลการตรวจสอบ QC อย่างละเอียด.

การประกันคุณภาพในงาน UV-Vis คือการสร้างความมั่นใจว่า "แสง", "เครื่อง", "สาร", และ "ขั้นตอน" ล้วนถูกต้องและสม่ำเสมอ เพื่อให้ผลการทดลองที่ได้สะท้อนความเป็นจริงของสารที่วิเคราะห์.

เอกสารอ้างอิง

1. ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. (2025). [Online]. Eurachem. Available from: <https://www.eurachem.org>
3. คณะทำงานจัดทำคู่มือวิชาการด้านการตรวจสอบและรับรอง กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2568). แนวทางการจัดทำความใช้ได้ของการวัด. กรุงเทพมหานคร: กรมวิทยาศาสตร์บริการ.