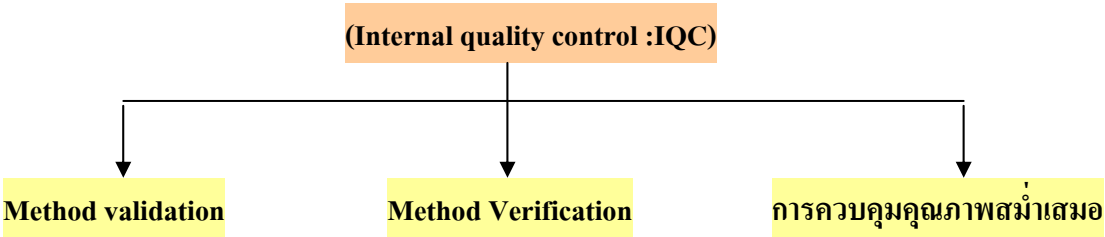


# การควบคุมและการประกันคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ

โดย นางสาวยุพิน รัตนะแพร



การควบคุมคุณภาพภายในปฏิบัติการ (Internal quality control :IQC) หมายถึง การดำเนินการของห้องปฏิบัติการในการเฝ้าระวัง ตรวจสอบความถูกต้องของการทดสอบ เพื่อให้ เกิดความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบก่อน รายงานผล ซึ่งแผนการควบคุมคุณภาพที่ดี ประกอบด้วย



Method validation เป็นกระบวนการยืนยันความถูกต้อง ความเหมาะสมของวิธีการวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมาเพื่อนำมาใช้วิเคราะห์ตัวอย่าง เพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติ เงื่อนไข หรือข้อจำกัดของวิธีการนั้นๆ ซึ่ง วิธีการทำ Method validation จะประกอบด้วย Accuracy, Precision, Selectivity, Sensitivity, Limit of detection, Limit of quantitation, Linearity และ Range

Method Verification เป็นการทดสอบเพื่อที่จะประกันว่าวิธีการวิเคราะห์มาตรฐานหรือวิธีการวิเคราะห์อ้างอิงที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการมีความถูกต้อง แม่นยำ เป็นไปตามคุณสมบัติที่กล่าวไว้ของวิธีการนั้นๆ โดยทั่วไป Method Verification จะเป็นส่วนหนึ่งของ Method validation ซึ่งวิธีการทำ Method Verification จะประกอบด้วย Accuracy, Precision, Sensitivity และ Linearity

การควบคุมคุณภาพสม่ำเสมอ (routine quality control) เป็นการควบคุมคุณภาพผลการทดสอบในระหว่างการทดสอบ เพื่อให้แน่ใจว่าการทดสอบมีความถูกต้อง แม่นยำ และมีความน่าเชื่อถือ โดยทั่วไปการควบคุมคุณภาพการทดสอบ จะประกอบด้วย การตรวจสอบแบลงค์ (blank check) ,การวิเคราะห์สารมาตรฐาน สำหรับการตรวจสอบกราฟ (Calibration Check Standard), การวิเคราะห์ซ้ำ (Duplicates), การวิเคราะห์การกลับคืนของสารที่ทราบปริมาณ (recovery of known addition)และการทำแผนภูมิควบคุมคุณภาพ (Control chart)



## คุณสมบัติของวิธีการวิเคราะห์ที่ควรจะทำทดสอบในการทำ Method validation และ Method Verification มีดังนี้

**1. Accuracy** หมายถึง ความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ที่วัดได้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่แท้จริง (True Value) มากที่สุด

การทำ Accuracy ของวิธีวิเคราะห์

1.1 ทำการวิเคราะห์ reference material แล้วนำมาหาค่า % bias

1.2 ในกรณีที่ไม่มี reference material ให้ทำ recovery โดยการ spike sample ซึ่งการทำ spike sample มีข้อจำกัดคือจะครอบคลุม เฉพาะขั้นตอนที่วิเคราะห์ spike sample เท่านั้น หรือหากไม่ทำ spike sample อาจใช้วิธีการทางสถิติเข้ามาใช้เพื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์

**2. Precision** หมายถึงความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์ซ้ำๆกันหลายๆครั้ง ความแตกต่างของค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำๆ มักแสดงเป็นค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation ,SD) หรือสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient of Variation, CV) มีวิธีวิเคราะห์ 2 ลักษณะ ดังนี้

2.1 Repeatability คือ ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำๆในสถานะเดียวกันโดยใช้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน วิธีการนี้จะครอบคลุมเพียงความคลาดเคลื่อนขั้นต่ำเท่านั้น ดังนั้นค่า Repeatability จะวิเคราะห์ซ้ำในช่วงเวลาสั้นๆเท่านั้น

2.2 Reproducibility คือ ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำๆ โดยใช้วิธีเดียวกัน ผู้วิเคราะห์ต่างกัน เครื่องมือที่ใช้ต่างกัน และทำการวิเคราะห์ต่างห้องปฏิบัติการ มักวิเคราะห์ซ้ำโดยใช้ช่วงเวลานานพอสมควร

**3. Selectivity ( Specificity)** หมายถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่จะสามารถวิเคราะห์เฉพาะสารที่ต้องการวิเคราะห์ โดยสารนั้นเป็นเพียงส่วนประกอบหนึ่งในสารละลายนั้นๆ วิธีการวิเคราะห์ใดที่มีความสามารถในการเลือกวัดเฉพาะสารที่ต้องการจะวัดซึ่งมีความจำเพาะ (specific) การศึกษา Specificity ของวิธีการวิเคราะห์ทำได้โดยการวัดตัวอย่างหลายชนิด ตั้งแต่สารมาตรฐาน ไปจนถึงการวัดสิ่งที่มีส่วนประกอบซับซ้อน (Complex Matrices) ในกรณีนี้การทำ recovery study โดยการเติมสารที่ต้องการจะวัดลงในตัวอย่างจะมีประโยชน์ นอกจากการศึกษา Specificity แล้ว ยังต้องคำนึงถึงสารรบกวน (Interfering Substances) ด้วยซึ่งในบางครั้งสารรบกวนอาจจะทำให้ค่าที่วัดได้เพิ่มขึ้นและอาจจะไปรบกวนความถูกต้องของการวัดได้

**4. Sensitivity** หรือความไวของวิธีวิเคราะห์ หมายถึงความสามารถในการวัดความเข้มข้นที่แตกต่างกันน้อยที่สุด วิธีการวิเคราะห์ที่มีความไวสูงจะสามารถตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณน้อยมากหรือเป็นวิธีการที่สามารถแยกความเข้มข้นของสารที่แตกต่างกันน้อยมากได้ถูกต้อง



## 5. Limit of detection และ Limit of quantitation

Limit of detection หมายถึง การวัด blank หลายๆ ครั้งและนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (Mean) และค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และนำมาคำนวณหา Limit of detection ดังนี้

$$\text{Limit of detection} = \bar{x} + 3SD$$

Limit of quantitation หมายถึงความเข้มข้นน้อยที่สุดที่วิธีการวิเคราะห์จะวัดได้โดยที่มี accuracy และ precision ที่ยอมรับได้ ซึ่งจะทำให้ได้โดยการวัดสารมาตรฐานหรือตัวอย่างที่เหมาะสม โดยทั่วไปจะเป็นความเข้มข้นต่ำสุดของ Calibration curve (ยกเว้น blank)

**6. Linearity** หมายถึงความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่จะทำให้วิเคราะห์แล้วได้ผลการวิเคราะห์ที่เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นของสารที่วิเคราะห์ในช่วงความเข้มข้นที่กำหนด ซึ่งสามารถจะหาได้โดยทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ต่ำไปจนมากที่สุดที่จะวัดได้

**7. Range** หมายถึงช่วงความเข้มข้นของสารที่จะวัดตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดที่วัดแล้วมี accuracy ,precision ,linearity อยู่ในระดับที่มีความถูกต้องยอมรับได้ตามข้อกำหนด โดยทั่วไปจะทำการวัด reference material ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างน้อย 5 จุด อย่างไรก็ตามการที่จะวัดก็จุดนั้นขึ้นอยู่กับวิธีการวิเคราะห์แต่ละวิธี



## การควบคุมคุณภาพสม่ำเสมอ (routine quality control)

ตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่าง จะต้องมีการควบคุมคุณภาพที่สำคัญ ดังนี้

### 1. การตรวจสอบแบลงค์ (blank check)

การตรวจสอบแบลงค์เป็นการประเมินการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นได้ คือ

1.1 แบลงค์ของน้ำยาเคมี (reagent blank) เป็นการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของน้ำยาเคมีที่ใช้ โดยเตรียมสารละลายที่มีน้ำยาเคมีทั้งหมดที่ต้องใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่าง

1.2 แบลงค์ของวิธีวิเคราะห์ (method blank) เป็นการตรวจสอบการปนเปื้อนที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการเตรียมตัวอย่าง โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง และดำเนินการเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง

### 2. การวิเคราะห์สารมาตรฐานสำหรับการตรวจสอบกราฟ (Calibration Check Standard)



เป็นการยืนยันความถูกต้องของกราฟมาตรฐาน โดยการเตรียมสารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นจากสารมาตรฐานที่เตรียมใหม่ วัดความเข้มข้นสารมาตรฐานหลังจากทำกราฟมาตรฐานแล้ว ทำการตรวจสอบสารมาตรฐานทุก 10 % ของการวิเคราะห์ตัวอย่าง ในกรณีที่สารมาตรฐานที่เดิมลงไปไม่อยู่ในเกณฑ์การยอมรับอาจใช้สารมาตรฐานที่ได้รับการรับรอง (certified reference materials)

3. การวิเคราะห์ซ้ำ (Duplicates) เป็นการประเมินความแม่นยำของการวิเคราะห์ โดยการตรวจสอบซ้ำอย่างน้อย 5% ของจำนวนตัวอย่าง

4. การวิเคราะห์การกลับคืนของสารที่ทราบปริมาณ (recovery of known addition)

เป็นการตรวจสอบความถูกต้องของการวิเคราะห์ตัวอย่างจากองค์ประกอบที่ซับซ้อน (matrix) ในตัวอย่าง การเติมสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณให้มีความเข้มข้นอยู่ที่ระหว่าง 1 และ 10 เท่าของระดับที่มีในตัวอย่าง และวิเคราะห์หาความเข้มข้น ทำ recovery ทุก 1 ตัวอย่างต่อการวิเคราะห์ 10 ตัวอย่าง สามารถคำนวณ % recovery จาก

$$\% \text{ recovery} = \frac{C_1 - C_0}{C_A} \times 100$$

เมื่อ  $C_1$  = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างรวมกับความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติมแล้ว  
วิเคราะห์ได้

$C_0$  = ความเข้มข้นของสารในตัวอย่างที่วิเคราะห์ได้

$C_A$  = ความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่เติม

5. การทำแผนภูมิควบคุมคุณภาพ (Control chart)

เป็นวิธีการที่ใช้สำหรับควบคุมกระบวนการวิเคราะห์ ให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่มีเสถียรภาพในขอบเขตที่ยอมรับได้ ที่ควรใช้ในห้องปฏิบัติการมี ดังนี้

5.1 means control chart เป็นแผนภูมิสำหรับควบคุมการวิเคราะห์สารมาตรฐานหรือการวิเคราะห์เบสลงค์ สร้างขึ้นจากค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลการวิเคราะห์

5.2 range control chart เป็นแผนภูมิสำหรับควบคุมการวิเคราะห์ซ้ำ สร้างขึ้นจากค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของผลความแตกต่างของการวิเคราะห์ซ้ำ



ระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการมาตรฐาน ISO/IEC17025 กำหนดให้ต้องมีระบบควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (Internal quality control :IQC) การควบคุมคุณภาพการทดสอบตามมาตรฐานสากลย่อมสร้างความเชื่อมั่นและความน่าเชื่อถือในผลการทดสอบให้แก่ห้องปฏิบัติการและผู้ที่น่าผลการทดสอบไปใช้งาน รวมทั้งเป็นการปฏิบัติที่สอดคล้องกับมาตรฐาน ISO / IEC 17025 อีกด้วย

## อ้างอิง

คู่มือการควบคุมและประกันคุณภาพงานห้องปฏิบัติการสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมมลพิษ ,2547

[www.nfi.or.th](http://www.nfi.or.th)