การบริการตรวจสารพิษตกค้างในน้ำตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

ผู้ดำเนินงาน มลิสา เวชยานนท์ พงศ์ศรี ใบอดุลย์ ภิญญา จุลินทร วิภา ตั้งนิพนธ์ ศิวาภรณ์ สกุลเที่ยงตรง ผกาสินี อินอ่อน ปรีชา ฉัตรสันติประภา และบังอร ธารพล

กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร

.....

บทคัดย่อ

การบริการตรวจสารพิษตกค้างในน้ำตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 จะต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดมาตรฐาน โดยห้องปฏิบัติการจะต้องขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบสำหรับวิธีทดสอบวิธีใดวิธีหนึ่ง ในครั้งนี้ได้ขอการรับรองวิธีการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ และต้องปฏิบัติตามหลักเกณฑ์และข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 โดยเขียนเอกสารวิธีทดสอบ พร้อมทั้งทำรายงานการหาค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบ ต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ และผ่านการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ รวบรวมเอกสารทั้งหมดส่งสำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (สมป.) กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งเป็นหน่วยงานที่ให้การรับรองห้องปฏิบัติการ เพื่อขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ โดย สมป. จัดส่งเจ้าหน้าที่ตรวจสอบเอกสารและการปฏิบัติงานจริงของการให้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatograph เมื่อพบข้อพกพร่องและแก้ไขแล้วจัดส่งเอกสารให้ สมป. เพื่อนำเข้าพิจารณาในคณะกรรมการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองแล้วสามารถใช้เครื่องหมายการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 กับผลการวิเคราะห์ ทำให้เป็นที่เชื่อถือและยอมรับทั่วโลก

คำนำ

ห้องปฏิบัติการที่ให้บริการตรวจวิเคราะห์ (ทดสอบ) สารต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นทางด้านเคมี จุลินทรีย์ อุตสาหกรรมอาหาร หรือเภสัชกรรม เป็นต้น เป็นห้องปฏิบัติการที่จะต้องใช้ประสบการณ์ ความรู้ความสามารถ ความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน เครื่องมือที่พร้อมใช้งาน รวมทั้งความละเอียดรอบคอบในการทำงาน เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์ถูกต้องและให้ความเชื่อมั่นทั้งผู้ปฏิบัติและผู้ที่ต้องการผลการวิเคราะห์นั้น เดิมทีนั้นผู้ปฏิบัติงานจะปฏิบัติตามระบบห้องปฏิบัติการดีที่เหมาะสม (Good laboratory practice) จนกระทั่งได้มีนำระบบการควบคุมคุณภาพ (Quality control) และระบบการประกันคุณภาพ (Quality assurance) มาใช้ในการปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการ (Taylor, 1912 และ 1987) ต่อมาภายหลังได้มีการนำระบบมาตรฐานสากล ISO 9000 มาใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อควบคุมคุณภาพของผลผลิต ซึ่งทำให้ผลผลิตที่ผลิตจากโรงงานที่ได้ผ่านการรับรองระบบ ISO 9000 แล้ว ได้รับความเชื่อถือในคุณภาพและเป็นที่ยอมรับกัน

ทั่วโลก แต่ไม่ได้มีมาตรฐานสากลสำหรับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ (ทดสอบ) เพื่อใช้ควบคุมทางด้านวิชาการ (Technical) จนกระทั่งปี 1978 ได้มีการนำมาตรฐาน ISO Guide 25 มาใช้ในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ (ทดสอบ) โดยควบคุมทางด้านการบริหาร (Management) และด้านวิชาการ (Technical) เพื่อที่จะให้ผลการตรวจวิเคราะห์ถูกต้อง ตรวจสอบย้อนกลับได้และเป็นที่ยอมรับกันทั่วโลก ซึ่งจะเป็นผลดีต่อสินค้าต่าง ๆ ที่มีการส่งออกหรือนำเข้าจะได้ไม่มีสารปนเปื้อนเกินค่ากำหนดของ Codex หรือของแต่ละประเทศ

มาตรฐาน ISO Guide 25 ได้มีการปรับปรุงและแก้ไขให้เหมาะสมจนในที่สุดเปลี่ยนเป็นมาตรฐาน ISO/IEC 17025-1999 และได้ปรับปรุงใหม่เป็นมาตรฐาน ISO/IEC 17025-2005 ซึ่งมีข้อกำหนดต่าง ๆ ที่ห้องปฏิบัติการจะต้องปฏิบัติตามทางด้านการบริหาร 15 หัวข้อ ได้แก่ องค์กร ระบบการบริหารงาน การควบคุมเอกสาร การทบทวนคำขอ ข้อเสนอการประมูลและข้อสัญญา การจ้างเหมาช่วงงานทดสอบและสอบเทียบ การจัดซื้อสินค้าและบริการ การให้บริการลูกค้า ข้อร้องเรียน การควบคุมงานทดสอบและ/หรือสอบเทียบที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด การปรับปรุง การปฏิบัติการแก้ไข การปฏิบัติการป้องกัน การควบคุมบันทึก การตรวจติดตามคุณภาพภายใน และการทบทวนการบริหาร ส่วนข้อกำหนดทางด้านวิชาการ 10 หัวข้อ ได้แก่ ข้อกำหนดทั่วไป บุคลากร สถานที่และสภาวะแวดล้อม วิธีทดสอบ/สอบเทียบและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี เครื่องมือ ความสอบกลับได้ของการวัด การชักตัวอย่าง การจัดการตัวอย่างทดสอบและการสอบเทียบ การประกันคุณภาพผลการทดสอบและการสอบเทียบ และการรายงานผล

การที่ห้องปฏิบัติการจะให้การบริการตรวจวิเคราะห์ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ได้นั้น ห้องปฏิบัติการจะต้องขอการรับรองความสามารถตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สำหรับวิธีทดสอบวิธีใดวิธีหนึ่งเสียก่อนโดยจัดทำเอกสารตามข้อกำหนด ซึ่งระดับของเอกสารที่จะต้องจัดทำเริ่มตั้งแต่ เอกสารระบบคุณภาพ (Quality manual) เอกสารวิธีปฏิบัติงาน (Quality procedure) เอกสารขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Working Instruction) ซึ่งรวมวิธีทดสอบ (Test method) และ แบบฟอร์ม (Form sheet) หรือเอกสารสนับสนุนอื่น ๆ

ในการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ สำหรับวิธีทดสอบวิธีใดวิธีหนึ่งไม่ว่าวิธีนั้นจะเป็นวิธีมาตรฐาน (Standard method) หรือวิธีที่ดัดแปลงมาใช้เป็นวิธีของห้องปฏิบัติการ (In-house method) จะต้องเป็นวิธีทดสอบที่ได้ผ่านการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ (Method validation) นั้น ๆ ตามข้อกำหนดของมาตรฐาน เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีที่นำมาใช้นั้น ถูกต้อง แม่นยำ เป็นที่ยอมรับ และตรวจสอบย้อนกลับได้ รวมทั้งจะต้องคำนวณค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของวิธีทดสอบ และจัดทำเป็นเอกสารไว้ด้วย นอกจากนี้ห้องปฏิบัติการจะต้องผ่านการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (Proficiency testing) โดยเข้าร่วมทำการทดสอบตัวอย่างที่ไม่ทราบว่ามีสารอะไรบ้าง (Unknown) ตามวิธีทดสอบของห้องปฏิบัติการอย่างน้อยปีละครั้ง เมื่อห้องปฏิบัติการจัดทำเอกสารทั้งหมดตามข้อกำหนดเรียบร้อยแล้ว สามารถจัดส่งเอกสารทั้งหมดให้กับหน่วยงานที่ทำหน้าที่ให้การรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สำหรับการบริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography ได้ขอการรับรองจาก

สำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (สมป.) สังกัดกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งทาง สมป. ได้จัดส่งเจ้าหน้าที่ (Auditor) ตรวจสอบเอกสารและการปฏิบัติงานทั้งหมดที่เกี่ยวข้องกับวิธีทดสอบนั้น ๆ ถ้าพบข้อบกพร่องก็จะให้ทำการแก้ไขและจัดส่งเอกสารให้ สมป. ภายในกำหนด ทาง สมป.จะนำเอกสารและข้อมูลต่างๆ ที่ได้จากการตรวจสอบเข้าประชุมคณะกรรมการเพื่อพิจารณาผลการตรวจสอบ เมื่อผ่านการพิจารณาห้องปฏิบัติการจะได้รับการรับรองวิธีทดสอบนั้น และสามารถใช้เครื่องหมายการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 กับผลการวิเคราะห์ ทำให้เป็นที่เชื่อถือและยอมรับทั่วโลก ซึ่งห้องปฏิบัติการจะต้องรักษาความสามารถของห้องปฏิบัติการอย่างต่อเนื่อง โดยจะต้องได้รับการตรวจสอบทุก 2 ปี

การได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025 สำหรับห้องปฏิบัติการทดสอบเป็นเรื่องที่สำคัญมาก โดยเฉพาะในเรื่องสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ ซึ่งเป็นสารพิษที่มีความคงทนอยู่ในสภาพแวดล้อมได้นานหลายปี และสารพิษส่วนใหญ่ในกลุ่มนี้มีฤทธิ์ตกค้างยาวนานในสภาพแวดล้อม (Persistent Organic Pollutants, POPs) ซึ่งต้องมีการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เพื่อไม่ให้เกิดผลกระทบต่อห่วงโซ่อาหาร นอกจากนี้การส่งสินค้าออกของไทยไปยังต่างประเทศ จะถูกกีดกันจากการนำเอาปัญหาสิ่งแวดล้อมมาเป็นข้อกีดกันทางการค้า เมื่อห้องปฏิบัติการได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 ช่วยให้ผู้ซื้อเกิดความมั่นใจในผลการวิเคราะห์และไม่สามารถนำมาเป็นข้ออ้างในการไม่รับซื้อสินค้า ดังนั้นการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการเรื่องการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography โดยกลุ่มงานวิจัยผลกระทบจากการใช้วัตถุมีพิษการเกษตร กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ที่ขอการรับรองจาก สมป. จึงเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการให้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในน้ำตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 รวมทั้งต่อเศรษฐกิจและวงการสิ่งแวดล้อมของไทย และสามารถขยายเครือข่ายไปยังห้องปฏิบัติการส่วนภูมิภาคของกรมวิชาการเกษตร เพื่อให้บริการตรวจวิเคราะห์แก่ลูกค้าได้อย่างกว้างขวางและมีประสิทธิภาพเป็นที่เชื่อถือต่อลูกค้าทั่วโลก

วัตถุประสงค์

เพื่อให้การบริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ เป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 โดยห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร ได้รับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

วิธีดำเนินการ

การดำเนินงานในการขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 จะต้องดำเนินงานตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1. เขียนวิธีการทดสอบ เขียนเอกสารวิธีทดสอบเรื่อง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO/IEC 17025 – 2005 ในวิธีทดสอบนี้ได้ดำเนินการหาค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty) ของวิธีทดสอบ

ขั้นตอนที่ 2. การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ โดย วิธี Gas Chromatography

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว

1.1 เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ separatory funnel ขนาด 1,000 ml พร้อมฝาจุกแก้ว/teflon, beaker ขนาด 1,000 ml, cylinder ขนาด 100 และ 1,000 ml และ Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 ml, round bottom flask ขนาด 250 ml, graduated tube ขนาด 12 ml / 15 ml, glass vial for Auto sampler ขนาด 2 ml , disposable pasture pipette และ glass funnel

1.2 เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน และการทำ standard calibration curve ได้แก่ volumetric pipette class A ขนาด 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml, volumetric flask class A ขนาด 10, 25 และ 50 ml

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

2.1 สารเคมีชนิด analytical grade สำหรับใช้ในการสกัดตัวอย่าง ได้แก่ hexane และ anhydrous sodium sulfate ยี่ห้อ J.T. Baker

2.2 สารเคมี pesticide grade สำหรับใช้ในการเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน และปรับปริมาตรตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph ได้แก่ hexane และ iso-octane ยี่ห้อ J.T. Baker

2.3 aluminum foil, filter paper No. 1 ขนาด 11 cm และจุกยาง

2.4 สารพิษมาตรฐาน กลุ่มออร์กาโนคลอรีน pesticide grade ความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า 96.0 % ของ Dr. Ehrenstofer จำนวน 16 ชนิด ได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, endrin, alpha -endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-TDE, p,p'- TDE, o,p'-DDT และ p,p'-DDT

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.1 เครื่องชั่งละเอียด ที่ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.00001 กรัม

3.2 เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด separatory funnel shaker

3.3 เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator

3.4 ตู้อบสารเคมี (digital oven)

3.5 เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace)

3.6 เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump)

3.7 เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator

3.8 ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

3.9 เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)

3.10 เครื่อง Gas Chromatograph ของบริษัท Agilent Technology รุ่น HP 6890 พร้อมหัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (ECD)

4. วัสดุที่ใช้ ได้แก่ น้ำจากแหล่งต้นน้ำ จากเขื่อนศรีนครินทร์ จ. กาญจนบุรี

วิธีการ

1 การเตรียมสารมาตรฐาน เพื่อทำ Calibration curve

1.1 การเตรียม stock standard solution ของ สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิด

ชั่ง standard ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน แต่ละชนิดให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน อยู่ในช่วงประมาณ 10 mg ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 ml เติม iso–octane เพื่อละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน เขย่าด้วย vortex mixer ประมาณ 1 นาที ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 วินาที ค่อย ๆ เติม iso–octane ลงไปทีละน้อย ปรับปริมาตรจนถึงขีดปริมาตรพอดี จะได้ stock standard solution (sss) ที่มีความเข้มข้นประมาณ 1,000 μg/ml

1.2 การเตรียม intermediate standard solution ใช้ pipette ขนาด 2, 3, 4 หรือ 5 ml ดูด stock standard solution แต่ละชนิด ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ intermediate standard solution ของสารมาตรฐานแต่ละชนิดมีความเข้มข้นประมาณ 50-200 μg/ml

1.3 การเตรียม working standard solution

1.3.1 ใช้ pipette ขนาด 0.5 ml หรือ 1 ml ดูดสารละลาย intermediate standard solution ของสารมาตรฐานแต่ละชนิด ใส่รวมใน volumetric flask ใบเดียวกัน ขนาด 50 ml ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ mixed working standard solution ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 1-2 μg/ml

1.3.2 ใช้ pipette ดูดสารละลาย mixed working standard solution ความเข้มข้นในข้อ 1.3.1 0.5 ml และ 2 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 50 ml ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ mixed working standard solution ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 0.01-0.02 μg/ml และ 0.04–0.08 μg/ml ตามลำดับ

1.3.3 ใช้ pipette ดูดสารละลาย mixed working standard solution ความเข้มข้นในข้อ 1.3.1 2 ml และ 5 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 ml ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ mixed working standard solution ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 0.08–0.16 μg/ml และ 0.2–0.4 μg/ml ตามลำดับ

1.3.4 ใช้ pipette ดูดสารละลาย mixed working standard solution ความเข้มข้นในข้อ 1.3.1 5 ml และ 7 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 10 ml ปรับปริมาตรด้วย hexane (PR) เขย่าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ mixed working standard solution ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงประมาณ 0.5–1.0 μg/ml และ 0.7 – 1.4 μg/ml ตามลำดับ

2. การเตรียม fortified sample, sample blank และ reagent blank

ตวงน้ำปริมาตร 1,000 ml ด้วยcylinder ขนาด 1,000 ml ลงใน separatory funnel ขนาด 1,000 ml ดูดสารละลายผสมในช่วง working standard solution ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับช่วงที่จะประเมินผลการทดสอบด้วย pipette ขนาด 1 ml ใส่ลงไป หมุนวนให้สารละลายผสมกับน้ำเป็นเนื้อเดียวกันตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง และเตรียม sample blank ซึ่งเหมือนกับการเตรียม fortified sample แต่จะไม่เติมสารละลายของสารมาตรฐานลงในตัวอย่างน้ำที่ทดสอบ การเตรียม reagent blank จะใช้เพียงสารเคมีที่ใช้สกัดในปริมาตรเท่ากับที่ใช้ในการทดสอบ แล้วทำตามขั้นตอนของวิธีการสกัดตัวอย่าง

3. การเตรียมเครื่อง Gas Chromatograph โดยควบคุมสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

mode : splitless

GLC column : column DB 1701P, 30 m.long x 0.32 mm. i.d.x 0.25 μm film thickness

temperature : injector : 230 °C

: detector : 300 °C

: oven โดยตั้ง program ดังนี้

$$80\,^{\circ}C\ (1\ min) \xrightarrow{20\,^{\circ}C/min} 220\,^{\circ}C\ (2\ min) \xrightarrow{1\,^{\circ}C/min} 235\,^{\circ}C\ (1\ min)$$

$$\xrightarrow{20\,^{\circ}C/min} 240\,^{\circ}C\ (1\ min) \xrightarrow{20\,^{\circ}C/min} 280\,^{\circ}C\ (2\ min)$$

carrier gas : helium flow 1.4 ml/min

make up gas : nitrogen flow 30 ml/min

injection volume : 1 μl

4. วิธีการสกัดตัวอย่าง

ตวงน้ำปริมาตร 1,000 ml โดยใช้ cylinder ขนาด 1,000 ml ลงใน separatory funnel ขนาด 1,000 ml ตวง hexane (AR) 100 ml ด้วย cylinder ขนาด 100 ml เติมลงใน separatory funnel ปิดฝาจุกให้แน่นเขย่าเบา ๆ แล้วเปิดปลายของ separatory funnel เพื่อปล่อยความดันไอออก เสร็จแล้วนำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นล่างซึ่งเป็นชั้นน้ำเก็บไว้ใน beaker ขนาด 1,000 ml ชั้นบนเป็นชั้นของ hexane กรองผ่าน anh. Na_2SO_4 ที่บรรจุใน funnel รองด้วยกระดาษกรอง ลงใน round bottom flask ขนาด 250 ml เทน้ำจาก beaker ใส่ใน separatory funnel ใบเดิม เติม hexane (AR) 50 ml ปิดฝาให้แน่น เขย่าเบา ๆ แล้วเปิดปลายของ separatory funnel เพื่อปล่อยความดันไอออก นำไปเขย่าโดยใช้ separatory funnel shaker นาน 3 นาที ตั้งไว้ให้แยกชั้น ไขชั้นน้ำเก็บไว้ใน beaker ใบเดิม ชั้นบนกรองผ่าน anh. Na_2SO_4 เก็บรวมกับครั้งแรก ทำการสกัดซ้ำอีกครั้งด้วย hexane (AR) 50 ml และเก็บสารละลายชั้นบนรวมกัน เมื่อกรองเสร็จแล้วกลั้ว (rinse) separatory funnel ด้วย hexane (AR) ประมาณ 10 ml 2 ครั้ง นำไปลดปริมาตรโดยใช้ rotary evaporator จนเกือบแห้ง rinse round bottom flask ด้วย hexane (PR) ครั้งละประมาณ 2-3 ml เขย่าด้วย vortex mixer ให้ทั่ว ทำเช่นนี้อย่างน้อย 4 ครั้ง ใช้ pasteur pipette ดูด hexane จากการ rinse แต่ละครั้ง เก็บไว้ใน graduated tube ขนาด 12 ml/15 ml ลดปริมาตรสารสกัดด้วย nitrogen evaporator และปรับปริมาตรให้ได้ 1 ml แล้วใช้ pasteur pipette ดูดสารสกัดใส่ vial ขนาด 2 ml นำไป inject ด้วยเครื่อง GC (Electron Capture Detector)

5. การทดสอบและประเมินจากการวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ

5.1 ตรวจสอบช่วงความเข้มข้น / ปริมาณของสารที่ใช้ทดสอบสามารถวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้องและแม่นยำ (range) และตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่าง response กับความเข้มข้น/ ปริมาณของสารที่วิธีทดสอบสามารถจะตรวจวิเคราะห์ที่ให้ค่าเป็นสมการเส้นตรงได้ (linearity)

5.1.1 การหา range

ทดสอบ reagent blank และ fortified sample 7 ความเข้มข้น ๆ ละ 1 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไป plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample (แกน X) กับ response (แกน Y) พิจารณาช่วงที่เป็นเส้นตรง

5.1.2 การหา linearity

ทดสอบ reagent blank และ fortified sample ที่ความเข้มข้นภายใน range ของการทดสอบ 6 ความเข้มข้น ๆ ละ 3 ซ้ำ plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample (แกน X) กับ response (แกน Y) คำนวณหา correlation coefficient (r), เกณฑ์การยอมรับ correlation coefficient,

$r \geq 0.95$

5.2 ประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่ศึกษากับค่าอ้างอิงจากตัวอย่าง (accuracy)

ทดสอบ reagent blank , sample blank และ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น (low, medium, high) ความเข้มข้นละ10 ซ้ำ ทดสอบตามวิธีทดสอบข้อ 4 หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบที่ลบค่า reagent blank ของ sample blank (X_1) และ fortified sample (X_2)

การประเมิน accuracy จากค่า recovery

$$\% \text{ recovery} = \frac{X_2 - X_1}{C} \times 100$$

โดยที่ C = ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่างมีหน่วยเป็น μg/ml

5.3 ประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ (Precision)

ทดสอบ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น (low, medium, high) ความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ หาค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบ ($\overline{X}$) และ SD ของผลการทดสอบ คำนวณ % RSD , $\% \text{ RSD} = \frac{SD}{\overline{X}} \times 100$

ประเมิน precision โดยใช้ HORRAT (Horwitz ' s ratio) หรือ จาก % RSD

$$\text{HORRAT (Horwitz ' s ratio)} = \frac{\% \text{ RSD จากการทดลอง}}{\text{Predicted Horwitz RSD}}$$

Predicted Horwitz RSD คำนวณได้จาก Horwitz equation

$$\text{Repeatability : } RSD_r = 0.66 \times 2^{(1 - 0.5 \log C)}$$

โดยที่ C = concentration ratio

กำหนดเกณฑ์การยอมรับ HORRAT (Horwitz ' s ratio $\leq$ 2)

5.4 การหาค่าความเข้มข้น / ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD)

วิเคราะห์ fortified sample ที่ระดับความเข้มข้นภายในช่วงการทดสอบ 3 ระดับความเข้มข้น ๆ ละ 10 ซ้ำ คำนวณค่า SD ของผลการทดสอบแต่ละความเข้มข้น plot graph ระหว่างความเข้มข้น (แกน X) กับ SD (แกน Y) หาค่า So โดย extrapolate เส้นกราฟมาตัดแกน Y LOD = 3 So

5.5 การหาค่าความเข้มข้น / ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้อย่างถูกต้อง โดยมี accuracy และ precision ตามที่กำหนด (Limit of Quantitation ,LOQ)

คำนวณค่า predicted LOQ จาก ข้อ 5.4 โดย LOQ = 10 So และเตรียม fortified sample ที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า predicted LOQ (10 So) วิเคราะห์ fortified sample 10 ซ้ำ คำนวณค่า accuracy และ precision ต้องผ่านการประเมิน accuracy และ precision

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบหา range ของการสกัดสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำด้วยเครื่อง GC จะได้ range ของสารพิษที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ที่กำหนดจากช่วงที่เป็นเส้นตรง จะได้ range สารพิษกลุ่มออร์กาโนนคลอรีน ทั้ง 16 ชนิด คือ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, alpha-endosulfan, p,p'-DDE, dieldrin, o,p'-TDE, endrin, o,p'-DDT, p,p'-TDE, beta-endosulfan, p,p'-DDT และ endosulfan sulfate 0.01-1.6, 0.01-1.9, 0.01-1.6, 0.01-1.9, 0.01-1.8, 0.01-1.4, 0.01-1.5, 0.01-1.8, 0.01-1.6, 0.01-1.9, 0.01-1.7, 0.01-1.6, 0.01-1.7, 0.01-1.3, 0.01-1.8 และ 0.01-1.3 μg/L ตามลำดับ เมื่อนำ range ไปตรวจสอบ linearity จะได้ค่า correlation coefficient, r เท่ากับ 0.985, 0.988, 0.985,0.991, 0.991, 0.993, 0.990, 0.989, 0.991, 0.991, 0.992, 0.987, 0.989, 0.991, 0.981 และ 0.989 ตามลำดับ

การประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างผลการวิเคราะห์ที่ได้จากวิธีที่ศึกษากับค่าอ้างอิงจากตัวอย่าง (accuracy) โดยการประเมินจากค่า recovery พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 16 ชนิด ได้แก่ ระดับต่ำ ความเข้มข้น 0.02 - 0.08 μg/L มีค่า recovery 78.9 – 100.8 % (ตารางที่ 1) ที่ระดับกลาง ความเข้มข้น 0.2–0.4 μg/L มีค่า recovery 65.2 – 94.4 % (ตารางที่ 2) และที่ระดับสูง ความเข้มข้น 1-1.9 μg/L มีค่า recovery 79.8 – 98.5 % (ตารางที่ 3) อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด และสามารถยอมรับได้

ผลการประเมินค่าความใกล้เคียงกันระหว่างข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำ (precision) โดยการประเมินจากค่า % RSD และกำหนดเกณฑ์การยอมรับ พบว่า ทุกระดับความเข้มข้นของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน ทั้ง 16 ชนิด ได้แก่ ที่ระดับต่ำความเข้มข้น 0.02 – 0.08 μg/L (ตารางที่ 4) มีค่า % RSD 2.6-8.9 ที่ระดับกลางความเข้มข้น 0.2–0.4 μg/L มีค่า % RSD 5.1-10.7 (ตารางที่ 5) และระดับสูง ความเข้มข้น 1-1.9 μg/L มีค่า % RSD 2.6 - 4.7 (ตารางที่ 6) และผ่านเกณฑ์ที่กำหนดและเมื่อนำไปประเมินค่า HORRAT (Horwitz' s ratio) พบว่า สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิด ทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น มีค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.03 – 0.79 ตามเกณฑ์ที่กำหนด ค่า HORRAT, (Horwitz' s ratio) ≤ 2 และสามารถยอมรับได้

ค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจพบได้ (Limit of Detection, LOD) ได้แก่ alpha-BHC, heptachlor และ o,p'-TDE มีค่า LOD 0.02 μg/L สารพิษชนิด gamma-BHC, heptachlor epoxide, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, aldrin, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, p,p'-DDE, p,p'-TDE, o,p'-DDT และ p,p'-DDT มีค่า LOD 0.01 μg/Lสำหรับค่าความเข้มข้น/ปริมาณต่ำสุดที่สามารถวิเคราะห์และรายงานผลได้อย่างถูกต้อง (Limit of Quantitation, LOQ) ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนทั้ง 16 ชนิด โดยประเมินจากค่าความเข้มข้นที่ต่ำกว่า predicted 10 So มีค่า 0.05 μg/L (ตารางที่ 7 และ 8)

ขั้นตอนที่ 3. การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการเรื่อง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography

วัสดุและอุปกรณ์

1. เครื่องแก้ว

1.1 เครื่องแก้วที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ separatory funnel ขนาด 1,000 ml พร้อมฝาจุกแก้ว /Teflon, beaker ขนาด 1,000 ml, cylinder ขนาด100 , 500 และ1,000 ml, Erlenmeyer flask ขนาด 1,000 ml, round bottom flask ขนาด 250 ml, graduated tube ขนาด 12 ml/15 ml, glass vial for auto sampler ขนาด 2 ml, disposable pasture pipette, glass funnel, ขวดแก้ว ขนาด 1, 2 และ 25 L และ ขวดแก้วสีชา ขนาด 4 L

1.2 เครื่องแก้วที่ใช้ในการเตรียมสารละลายของสารมาตรฐาน และการทำ standard calibration curve ได้แก่ volumetric pipette class A ขนาด 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ml, volumetric flask class A ขนาด 10, 25 และ 50 ml

2. เคมีภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ

2.1 สารเคมีชนิด analytical grade สำหรับใช้ในการสกัดตัวอย่าง ได้แก่ hexane, anhydrous sodium sulfate ยี่ห้อ J.T. Baker

2.2 สารเคมีชนิด pesticide grade สำหรับใช้ในการเตรียมสารละลายมาตรฐาน และปรับปริมาตรตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph ได้แก่ hexane, iso-octane และ acetone ยี่ห้อ J.T. Baker

2.3 aluminum foil, filter paper No.1 ขนาด 11 cm และจุกยาง

2.4 สารพิษมาตรฐาน กลุ่มออร์กาโนคลอรีน pesticide grade ความบริสุทธิ์ ไม่น้อยกว่า 96.0 % ของ Dr. Ehrenstofer ได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, endrin, alpha -endosulfan, beta -endosulfan, endosulfan sulfate, o,p'-DDE, p,p'-DDE, o,p'-TDE, p,p'- TDE, o,p'-DDT และ p,p'-DDT

3. เครื่องมือวิทยาศาสตร์

3.1 เครื่องชั่งละเอียด ที่ชั่งน้ำหนักได้ละเอียด 0.00001 กรัม

3.2 เครื่องสกัดวัตถุมีพิษชนิด separatory funnel shaker

3.3 เครื่องลดปริมาตรชนิด rotary evaporator

3.4 ตู้อบสารเคมี (digital oven)

3.5 เตาเผาอุณหภูมิสูง (muffle furnace)

3.6 เครื่องทำสุญญากาศ (vacuum pump)

3.7 เครื่องลดปริมาตรชนิด nitrogen evaporator

3.8 ตู้ดูดความชื้น (desiccator)

3.9 เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)

3.10 ตู้เย็นอุณหภูมิต่ำ (Freezer)

3.11 เครื่อง Gas Chromatograph ของบริษัท Agilent Technology รุ่น HP 6890 พร้อมหัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (ECD)

4. วัสดุที่ใช้ ได้แก่ น้ำจากแหล่งต้นน้ำ จากเขื่อนศรีนครินทร์ และน้ำประปา

วิธีการ

1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน เช่นเดียวกับวิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน ขั้นตอนที่ 2

2. การเตรียม fortified sample, sample blank และ reagent blank

2.1 การเตรียม fortified sample ตวงน้ำปริมาตรที่แน่นอนโดยใช้ cylinder ขนาด 1,000 ml ลงในขวดแก้ว ดูดสารละลายมาตรฐานผสมลงไปในน้ำให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการ ส่วนใหญ่อยู่ในช่วง working standard solution ของสารมาตรฐาน

2.2 การเตรียม sample blank จะเหมือนกับการเตรียม fortified sample แต่จะไม่เติมสารละลายมาตรฐานลงในตัวอย่างที่ทดสอบ แล้วทำตามขั้นตอนของวิธีการสกัดตัวอย่าง

2.3 การเตรียม reagent blank จะใช้เพียงสารเคมีที่ใช้ในการสกัดในปริมาตรเท่ากับที่ใช้ในการทดสอบ แล้วทำตามขั้นตอนของวิธีการสกัดตัวอย่าง

3. วิธีการสกัดตัวอย่าง และการเตรียมเครื่อง Gas Chromatograph เช่นเดียวกับวิธีการสกัดตัวอย่าง และการเตรียมเครื่อง Gas Chromatograph ในขั้นตอนที่ 2

4. การทดสอบ

4.1 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของตัวอย่าง

ทดสอบ fortified sample โดยการเติม mixed standard solution ความเข้มข้นในช่วง 0.08 – 1.6 μg/ml ปริมาตร 20 ml ในตัวอย่างน้ำปริมาตร 9.98 L ที่บรรจุในขวดแก้วขนาด 25 L หมุนวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แบ่งตัวอย่างโดยใช้ cylinder ขนาด 1,000 ml ตวงน้ำปริมาตร 1,000 ml ใส่ในขวดแก้วขนาด 1 L จากนั้นแบ่งตัวอย่างจากขวดแก้วนี้ออกเป็น 2 ตัวอย่าง โดยใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำปริมาตร 500 ml ลงใน separatory funnel ขนาด 1,000 ml และตวงน้ำ sample blank ปริมาตร 500 ml เติมลงไปอีก เพื่อให้ปริมาตรน้ำเป็น 1,000 ml ซึ่งจะได้ตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง และนำ

ตัวอย่างไปทดสอบตามวิธีการสกัดข้างต้น ผลการทดสอบที่ได้นำไปคำนวณความเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้การวิเคราะห์ตามหลักสถิติดังนี้

แบบที่ 1 One Way ANOVA (ANOVA : Single Factor)

F value $\left[= \frac{MSB}{MSW}\right]$ should be < critical F - value (F distribution,ที่ 95 %)

เมื่อ MSB : mean square between , MSW : mean square within

ค่า F value < critical F- value แสดงว่าตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

แบบที่ 2 ทดสอบด้วย สมการ Horwitz equation

โดย Horwitz predicted RSD (RSDp) $= 2^{1 - 0.5 \log C}$

$SDp = \frac{RSDp \times 100}{mean}$, $\frac{Ss}{SDp} < 0.3$ ตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อ C : fractional concentration

SDp : standard deviation หน่วยเป็น μg/L

Ss : sampling variance

mean : ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของผลการทดสอบ หน่วยเป็น μg/L

แบบที่ 3 หา % CV : $\%\ CV = \frac{SD \times 100}{mean}$, % CV < 5 % แสดงว่าตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อ % CV : ความแปรปรวนของข้อมูล

SD : standard deviation หน่วยเป็น μg/L

mean : ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของผลการทดสอบหน่วยเป็น μg/L

ถ้าทดสอบแล้ว % CV > 5% แสดงว่าตัวอย่างไม่เป็นเนื้อเดียวกันต้องทำการผสมและวิเคราะห์ตัวอย่างใหม่

4.2. การทดสอบความคงทน (Stability) ของตัวอย่าง

1. เก็บใน Freezer อุณหภูมิประมาณ – 20 ± 5 องศาเซลเซียส

ทดสอบ fortified sample โดยการเติม mixed standard solution ความเข้มข้นในช่วง 0.08 – 1.5 μg/ml ปริมาตร 20 ml ในตัวอย่างน้ำปริมาตร 9.98 L ที่บรรจุในขวดแก้วขนาด 25 L หมุนวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแบ่งตัวอย่าง โดยใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำปริมาตร 500 ml ใส่ขวดแก้วขนาด 1 L จำนวน 20 ขวด ตัวอย่าง 2 ขวดแรก ถ่ายใส่ separatory funnel ขนาด 1,000 ml เติมน้ำ sample blank ปริมาตร 500 ml เพื่อให้ได้ปริมาตรตัวอย่างเป็น 1,000 ml แล้วสกัดตามวิธีข้างต้นเป็นการทดสอบที่ 0 วัน ตัวอย่างที่เหลือ 18 ขวด นำไปเก็บในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิประมาณ – 20 องศาเซลเซียส (Freezer) และนำตัวอย่างชุดนี้มาทดสอบเมื่อครบกำหนดที่ 1, 3, 7, 14, 30 และ 54 วัน ๆ ละ 3 ขวด ซึ่งก่อนทำการทดสอบจะต้องทำละลายตัวอย่างให้

มีอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง แล้วถ่ายตัวอย่างใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 ml ตวงน้ำ sample blank ปริมาตร 500 ml เติมลงไปเพื่อให้ได้ปริมาตรน้ำเป็น 1,000 ml ผสมตัวอย่างให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำตัวอย่างไปทำการทดสอบเหมือนการทดสอบที่ 0 วัน

2. เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 5 องศาเซลเซียส

ทดสอบ fortified sample โดยการเติม mixed standard solution ความเข้มข้นในช่วง 0.08 – 1.5 μg/ml ปริมาตร 20 ml ในตัวอย่างน้ำปริมาตร 9.98 L ที่บรรจุในขวดแก้วขนาด 25 L หมุนวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งตัวอย่างโดยใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำปริมาตร 500 ml ใส่ขวดแก้วขนาด 1 L จำนวน 20 ขวด ตัวอย่าง 4 ขวดแรก ถ่ายใส่ separatory funnel ขนาด 1,000 ml ใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำ sample blank เติมลงไปอีก 500 ml ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะมีความเข้มข้นของสารพิษอยู่ในช่วง 0.08 – 1.5 μg/L จากนั้นนำไปทดสอบตัวอย่างตามวิธีการสกัดข้างต้นเป็นการทดสอบที่ 0 วัน ตัวอย่างที่เหลือ 16 ขวด นำไปเก็บไว้ในห้องที่ไม่มีการควบคุมอุณหภูมิ และนำตัวอย่างชุดนี้มาทดสอบเมื่อครบกำหนดที่ 1, 3, 7 และ 14 วัน ๆ ละ 4 ขวด

4.3 ทดสอบน้ำที่ใช้ผสม

1. น้ำเขื่อน

ทดสอบ fortified sample โดยการเติม mixed standard solution ความเข้มข้นในช่วง 0.08 – 1.5 μg/ml ปริมาตร 5 ml ในตัวอย่างน้ำปริมาตร 2.995 L ที่บรรจุในขวดแก้วขนาด 4 L หมุนวนให้เป็นเนื้อเดียวกัน ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง แบ่งตัวอย่าง โดยใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำปริมาตร 250 ml ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1,000 ml แล้วตวงน้ำที่เก็บจากแหล่งต้นน้ำ (น้ำจากเขื่อน) ปริมาตร 750 ml เติมลงไปผสมจะได้ปริมาตรน้ำเป็น 1,000 ml จำนวน 6 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างไปสกัดตามวิธีการสกัดข้างต้น

2. น้ำประปา

ใช้ fortified sample ที่เหลือจากการทดสอบในข้อ 1 แบ่งตัวอย่าง โดยใช้ cylinder ขนาด 500 ml ตวงน้ำปริมาตร 250 ml ใส่ใน separatory funnel ขนาด 1 L แล้วตวงน้ำประปา ปริมาตร 750 ml เติมลงไป ผสมให้ตัวอย่างน้ำเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้ปริมาตรน้ำตัวอย่างเป็น 1 L จำนวน 6 ตัวอย่าง แล้วนำตัวอย่างไปทดสอบตามวิธีข้างต้น

4.4 การเตรียมตัวอย่างอ้างอิง เพื่อใช้ทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการ

เตรียมตัวอย่างน้ำ 2 ชุด โดยใช้ cylinder ขนาด 1 L ตวงน้ำจำนวน 5 L ใส่ในขวดแก้วขนาด 25 L จำนวน 2 ขวด ชุดที่ 1 ใช้ volumetric pipette ขนาด 10 ml ดูดสารมาตรฐานผสม 10 ชนิด ได้แก่ alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, heptachlor, heptachlor epoxide, aldrin, dieldrin, o,p'-DDE, o,p'- TDE, และ p,p'-DDT ความเข้มข้น 1.4123, 1.0217, 1.0670, 1.1349, 1.6885, 1.7635,

1.2947, 1.9729, 1.8244 และ 1.2358 μg/ml ตามลำดับ เติม (spiked) ลงในขวดตัวอย่าง หมุนวนให้ผสมกัน แล้วตวงน้ำเพิ่มอีก 10 L รวมเป็น 15 L จะได้ตัวอย่างชุดที่ 1 (No.1) เตรียมตัวอย่างชุดที่ 2 (No. 2) ให้เปลี่ยนปริมาตรของสารมาตรฐานที่เติมเป็น 2 ml แล้วทำการผสมตัวอย่างเหมือนกับชุดที่ 1 ทั้ง 2 ชุดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 ชั่วโมง การแบ่งตัวอย่างจะใช้ cylinder ขนาด 1 L ตวงตัวอย่างน้ำที่เตรียมไว้ใส่ขวดแก้วสีชาปริมาตร 4 L ชุดละ 1 ขวด และเตรียมตัวอย่างที่เป็น sample blank ใส่ขวดแก้วสีชาอีก 4 L นำตัวอย่างทั้งหมดแช่ในกล่องน้ำแข็ง จากนั้นทำการจัดส่งให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมการทดสอบซึ่งได้รับการรับรองมาตรฐาน ส่วนตัวอย่างที่เหลือนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตามวิธีการทดสอบของห้องปฏิบัติการข้างต้น

ผลการทดลอง

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) พบว่าตัวอย่างที่เตรียมโดยการเติม (spiked) สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอนในตัวอย่างน้ำ 25 L เมื่อนำมาทดสอบและวิเคราะห์คำนวณผลโดยใช้ One Way ANOVA (ANOVA: Single Factor) สมมุติฐานว่าถ้าตัวอย่างเป็นเนื้อเดียวกัน ค่า $F_{value} < F_{critical}$ จากการทดสอบและคำนวณผล $F_{critical}$ เท่ากับ 3.86 ค่า F_{value} ของสารพิษ ได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, alpha-endosulfan, p,p'-DDE, dieldrin, o,p'-TDE, endrin, o,p'-DDT, p,p'-TDE, beta-endosulfan, p,p'-DDT และ endosulfan sulfate มีค่า 9.72, 67.23, 7.04, 16.10, 110.46, 26.32, 78.62, 0.24, 78.73, 97.16, 79.58, 93.15, 74.89, 30.91, 28.22 และ 3.92 ตามลำดับ (ตารางที่ 9) จากการคำนวณโดยใช้สถิติแบบ One Way ANOVA พบว่าตัวอย่างจะไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่างระดับ
μg/L (ppb) เป็นความเข้มข้นในระดับที่ต่ำมาก โอกาสในการละลายและกระจายตัวของสารพิษในตัวอย่างน้ำก็มีจะมีน้อยด้วย ความเป็นไปได้ของค่าผลการทดสอบในแต่ละตัวอย่างจึงเกิดความแตกต่างกัน
เมื่อคำนวณผลการทดสอบโดยใช้สมการ Horwitz equation ซึ่งจะใช้ความเข้มข้นของตัวอย่างเป็นเกณฑ์ในการคำนวณ และผล Ss/SDp ของการวิเคราะห์สารพิษทั้ง 16 ชนิดนี้ มีค่า 0.07, 0.07, 0.09, 0.06, 0.13, 0.07, 0.09, 0.08, 0.07, 0.05, 0.07, 0.08, 0.06, 0.06, 0.06 และ 0.02 ตามลำดับ และมีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด (Ss/SDp < 0.3) พบว่าตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

ความคงทน (stability) ของตัวอย่าง ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 5 องศาเซลเซียส การทดสอบที่ 0 วัน % recovery ของสารพิษ ได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor, aldrin, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, alpha-endosulfan, p,p'-DDE, dieldrin, o,p'-TDE, endrin, o,p'-DDT, p,p'-TDE, beta-endosulfan, p,p'-DDT และ endosulfan sulfate มีค่า 84.6, 85.5, 63.2, 57.9, 101.3, 72.5, 100.9, 79.2, 102.9, 85.9, 108.2, 82.8, 83.3, 107.1, 94.3 และ 113.7 % ตามลำดับ อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด การทดสอบที่ 1 วัน สารพิษที่มี % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ ชนิด alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor epoxide, o,p'-DDE, p,p'-DDE, dieldrin, o,p'-TDE, endrin, p,p'-TDE, p,p'-DDT และ endosulfan sulfate

มีค่า 68.0, 73.3, 46.5, 43.9, 67.9, 49.4, 78.2, 45.6, 66.4, 78.7 และ 64.7 % ตามลำดับ การทดสอบที่ 3 วัน พบสารพิษที่มี % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ ชนิด alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor epoxide, endrin และ endosulfan sulfate มีค่า 52.4, 64.4, 43.1, 56.0 และ 74.9 % ตามลำดับ การทดสอบที่ 7 วัน พบสารพิษมี % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC, heptachlor epoxide, endrin และendosulfan sulfate มีค่า 47.9, 56.8 , 41.8, 40.8 และ 50.9 % ตามลำดับ และการทดสอบที่ 14 วัน มีสารพิษเพียง 3 ชนิดจาก 16 ชนิด ที่มี % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ได้แก่ alpha-BHC, gamma-BHC และ endosulfan sulfate มีค่า 40.4, 49.9 และ 43.0 % ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ส่วนการทดสอบความคงทน (stability) ของตัวอย่าง ที่เก็บใน Freezer อุณหภูมิ – 20 ± 5 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบ % recovery ที่ 0, 1, 3, 7, 14, 30 และ 54 วัน ของสารพิษแต่ละชนิดอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด ดังนี้ ชนิด alpha-BHC มีค่า 86.3, 89.1, 76, 87, 78.4, 86.3 และ 89.9 %, ชนิด gamma-BHC มีค่า 93.5, 92.3, 90.6, 103.7, 83.4, 92.2 และ 97.7 % ชนิด heptachlor มีค่า 93.9, 62.2, 68.6, 79.2, 62.9, 54.3 และ 70.6 % ชนิด aldrin มีค่า 70.8, 54.4, 57.8, 65.2, 59.4, 61.6, และ 55.4 % ชนิด heptachlor epoxide มีค่า 102.9, 102.5, 104, 119.6, 89.8, 98.2 และ 103.1 % ชนิด o,p'-DDE มีค่า 95.1, 78.7, 84.1, 93.6, 67.3, 67.4 และ 81.3 % ชนิด alpha-endosulfan มีค่า 104.2, 92.1, 98.6, 112.2, 85.1, 89.9 และ 98.6 % ชนิด p,p'-DDE มีค่า 101.1, 78.9, 84.6, 97.6, 67.8, 73.7 และ 81.2 % ชนิด dieldrin มีค่า 122.9, 123.8, 127.2, 127.8, 109.4, 118.0 และ 124.4 % ชนิด o,p'-TDE มีค่า 100.4, 97.6, 99.9, 115.5, 85.3, 87.6 และ 97.1 % ชนิด endrin มีค่า 118.7, 119.6, 126.6, 124.8, 105.1, 109.7 และ 113.9 % ชนิด o,p'-DDT มีค่า 114.5, 86.3, 99.8, 118.5, 76.9, 86.5 และ 90.7 % ชนิด p,p'-TDE มีค่า 98.7, 97.8, 94, 110.7, 86.9, 71.9 และ 92.6 % ชนิด beta-endosulfan มีค่า 116, 93.9, 102.4, 115.9, 95.3, 99.9 และ 101.5 % ชนิด p,p'-DDT มีค่า 127.9, 92.3, 103.2, 120, 84.6, 89.5 และ 100.4 % ชนิด endosulfan sulfate มีค่า 102.5, 106.5, 108.6, 116.5, 93.4, 99.8 และ 103.2 % ตามลำดับ (ตารางที่ 11)

การทดสอบน้ำที่ใช้ผสม ได้แก่ น้ำประปา ปริมาตร 900 และ 750 ml ผสมในตัวอย่างปริมาตร 100 และ 250 ml ตามลำดับ ได้ % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือสารพิษชนิด alpha-BHC มีค่า 77.8 และ 71.6 % ชนิด gamma-BHC มีค่า 64.8 และ 73.5 % ชนิด heptachlor มีค่า 69.6 และ 64.3 % ชนิด aldrin มีค่า 57.3 และ 57.1 % ชนิด heptachlor epoxide มีค่า 89.4 และ 78.4 % ชนิด o,p'-DDE มีค่า 76.5 และ 69.9 % ชนิด alpha-endosulfan มีค่า 87.3 และ77.9 % ชนิด p,p'-DDE มีค่า 77.6 และ74.6 % ชนิด dieldrin มีค่า 73 และ 82 % ชนิด o,p'-TDE มีค่า 71.2 และ 77.2 % ชนิด endrin มีค่า 97.9 และ 88.7 % ชนิด o,p'-DDT มีค่า 85.9 และ 80.3 % ชนิด p,p'-TDE มีค่า 88.7 และ 81.4 % ชนิด beta-endosulfan มีค่า 96.3 และ 84.9 % ชนิด p,p'-DDT มีค่า 89.5 และ 91.1 % และชนิด endosulfan sulfate มีค่า 106.2 และ 95.2 % ตามลำดับ และ % recovery ของการทดสอบผสมตัวอย่างด้วยน้ำเขื่อนปริมาตร 900 และ 750 ml ตามลำดับ ในตัวอย่างปริมาตร 100 และ 250 ml ได้ % recovery อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดคือ สารพิษชนิด alpha-BHC มี

ค่า 83.8 และ84.6 % ชนิด gamma-BHC มีค่า 88.9 และ 85.5 % ชนิด heptachlor มีค่า 67.3 และ 63.2 % ชนิด aldrin มีค่า 62.7 และ 57.9 % ชนิด heptachlor epoxide มีค่า 95.7 และ 101.3 % ชนิด o,p'-DDE มีค่า 77.3 และ 72.5 % ชนิด alpha-endosulfan มีค่า 85.6 และ 100.9 % ชนิด p,p'-DDE มีค่า 80.2 และ 79.2 % ชนิด dieldrin มีค่า 120 และ 102.9 % ชนิด o,p'-TDE มีค่า 91.9 และ 85.9 % ชนิด endrin มีค่า 106.4 และ 108.1 % ชนิด o,p'-DDT มีค่า 85.2 และ 82.8 % ชนิด p,p'-TDE มีค่า 88.2 และ 89.3 % ชนิด beta-endosulfan มีค่า 84.9 และ 107.1 % ชนิด p,p'-DDT มีค่า 89.3 และ94.3 % และ ชนิด endosulfan sulfate มีค่า 104.1 และ 113.7 % ตามลำดับ (ตารางที่ 12)

ผลการทดสอบสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 10 ชนิด ที่เตรียมโดยห้องปฏิบัติการเพื่อใช้เปรียบเทียบการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรกับห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานทางด้านการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง สารพิษที่เติม (spiked) ในตัวอย่างชุดที่ 1 ได้แก่ heptachlor, heptachlor epoxide, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, o,p'-TDE และ p,p'-DDT มีความเข้มข้นของสารพิษในตัวอย่าง 1.17, 0.86, 0.94, 0.68, 0.71, 0.76, 1.13, 1.32,1.22 และ 0.82 μg/L ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรตรวจพบในปริมาณ 0.53, 0.61, 0.63, 0.51, 0.57, 0.58, 0.75, 0.79, 0.88 และ 0.67 μg/L ตามลำดับ ห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานทางด้านการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตรวจพบ heptachlor, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, o,p'-TDE และ p,p'-DDT ปริมาณ 0.62, 0.82, 0.51, 1.13, 0.82, 1.09, 0.93, 0.83 และ 0.53 μg/L ในตัวอย่างชุดที่ 2 สารพิษที่เติม (spiked) ลงในตัวอย่างจะเหมือนชุดที่ 1 แต่ความเข้มข้นจะแตกต่างกัน ได้แก่ heptachlor, heptachlor epoxide, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, o,p'-TDE และ p,p'-DDT ความเข้มข้น 0.24, 0.17, 0.19, 0.14, 0.14, 0.15, 0.23, 0.26, 0.24 และ0.16 μg/L ตามลำดับ ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรตรวจพบสารพิษปริมาณ 0.12, 0.15, 0.16, 0.14, 0.15, 0.15, 0.21, 0.22, 0.26 และ 0.17 μg/L ตามลำดับ และห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองตามมาตรฐานทางด้านการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างตรวจพบสารพิษ heptachlor, alpha-endosulfan, beta-endosulfan, endosulfan sulfate, dieldrin, endrin, o,p'-DDE, o,p'-TDE และ p,p'-DDT ปริมาณ 0.10, 0.16, 0.10, 0.22, 0.16, 0.21, 0.21, 0.17 และ 0.10 μg/L ตามลำดับ และ ตรวจไม่พบสารพิษชนิด heptachlor epoxide ในตัวอย่างทั้ง 2 ชุด แต่ตรวจพบสารพิษที่ไม่ได้เติม (spiked) ในตัวอย่างทั้ง 2 ชุด ได้แก่ ชนิด p,p'-TDE และ o,p'-DDT ในตัวอย่างชุดที่ 1 ปริมาณ 0.38 และ 0.08 μg/L ตามลำดับ และในตัวอย่างชุดที่ 2 ปริมาณ 0.10 และ 0.03 μg/L ตามลำดับ (ตารางที่ 13) ส่วนการหาประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบ (% recovery) ซึ่งทำโดยห้องปฏิบัติการ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ 68 –114 %

ขั้นตอนที่ 4. การขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 เรื่อง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography จะต้องปฏิบัติดังนี้

1.จัดส่งเอกสารระบบคุณภาพของห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรทางด้านการบริหารและด้านวิชาการ เอกสารขั้นตอนการปฏิบัติงาน วิธีทดสอบ รายงานการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ การหาค่าความไม่แน่นอนของวิธีทดสอบ และการทำ Proficiency testing ของการตรวจวิเคราะห์สารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography ให้กับสำนักงานมาตรฐานห้องปฏิบัติการกระทรวงสาธารณะสุข (สมป.)

2. สมป. ส่งเจ้าหน้าที่ตรวจสอบเอกสารและการปฏิบัติงานจริง

3. แก้ไขข้อบกพร่อง และจัดส่งเอกสารที่แก้ไขเรียบร้อยแล้ว ตามกำหนด

4. คณะกรรมการของ สมป. พิจารณา ข้อมูลต่าง ๆ

5. ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

6. สามารถใช้เครื่องหมายรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 กับผลการวิเคราะห์ตามวิธีทดสอบเรื่อง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography

สมป. ได้ส่งเจ้าหน้าที่มาตรวจสอบเอกสารและการปฏิบัติงานจริงในวันที่ 24–25 พฤศจิกายน 2548 พบข้อพกพร่องที่จะต้องแก้ไข ซึ่งได้ทำการแก้ไขและส่งให้ สมป. เพื่อพิจารณาเป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนให้ใบรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอนที่ 5 การให้บริการตรวจสารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

เป็นการให้บริการตามปกติเช่นเดียวกับการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มอื่น ๆ ในน้ำ หรือในดิน โดยใช้วิธีทดสอบที่ได้ขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการแล้วมาตรวจวิเคราะห์ โดยปฏิบัติตามแนวทางข้อกำหนดในมาตรฐาน ซึ่งจะทำให้เกิดความมั่นใจทั้งผู้ปฏิบัติงานและผู้รับบริการว่า ผลการวิเคราะห์ถูกต้อง เชื่อถือได้ และสามารถตรวจสอบย้อนกลับได้ ซึ่งห้องปฏิบัติการจะแสดงเครื่องหมายการได้รับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการบนใบรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ และมีสัญลักษณ์พิเศษเฉพาะกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำ แสดงให้ทราบว่าผลการวิเคราะห์นี้ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025

แม้ว่าห้องปฏิบัติการจะเริ่มขอการรับรองวิธีทดสอบสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีนเป็นกลุ่มแรก แต่การให้บริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มอื่น ๆ ก็ใช้แนวทางดำเนินงานเช่นเดียวกับกลุ่มออร์กาโนคลอรีน และห้องปฏิบัติการจะขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการสำหรับวิธีทดสอบสารพิษในน้ำกลุ่มอื่น ๆ ต่อไป

สรุป

การบริการตรวจสอบสารพิษตกค้างในน้ำตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 จำเป็นจะต้องขอการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการทดสอบ เรื่อง การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography โดยต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดตามมาตรฐานและผ่านเกณฑ์การยอมรับ เมื่อผ่านการพิจารณาและได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการจาก สมป. แล้ว ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรสามารถใช้เครื่องหมายการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 กับผลการวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่มออร์กาโนคลอรีนในน้ำโดยวิธี Gas Chromatography ทำให้เป็นที่เชื่อถือและยอมรับทั่วโลก รวมทั้งสามารถขยายเครือข่ายไปยังหน่วยงานภูมิภาคเพื่อให้การบริการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในน้ำเป็นไปตามมาตรฐานและครอบคลุมทั้งประเทศ

การนำไปใช้ประโยชน์

1. ผลการวิเคราะห์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สำนักวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ที่ผ่านการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการแล้วมีความน่าเชื่อถือ และยอมรับทั่วโลก
2. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร สามารถจะสร้างเครือข่ายร่วมกับห้องปฏิบัติการของสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 – 8 ในการทำการทดสอบความชำนาญระหว่างห้องปฏิบัติการร่วมกัน เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นไปในแนวทางเดียวกัน เชื่อถือได้ และเป็นที่ยอมรับทั่วโลก
3. ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตรสามารถจะสร้างเครือข่ายร่วมกับห้องปฏิบัติการของภาคเอกชน เพื่อที่จะขยายโอกาสให้กับภาคเอกชนในธุรกิจการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในอนาคต ตามแนวทางของรัฐบาลที่ต้องการให้ภาคเอกชนรับดำเนินการโดยอยู่ภายใต้การควบคุมดูแลของรัฐบาล

บรรณานุกรม

กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย (2547). Method Validation, เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กนกพร อธิสุข . 2548. การทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์ (Proficiency Testing). เอกสารประกอบการอบรมสัมมนาวิชาการ. ฝ่ายบริการห้องปฏิบัติการ สถาบันอาหาร กรุงเทพฯ.

ดุษฎี มั่นความดี และ อุมาพร สุขม่วง (2544). การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี (Chemical Method Validation), เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์บริการ.

ประภาศรี ภูวเสถียร และ ครรชิต จุดประสงค์. 2548. การทดสอบความชำนาญระหว่างห้องปฏิบัติการ (Proficiency test). เอกสารประกอบการอบรมเชิงปฏิบัติการ. กลุ่มวิจัยวัตถุมีพิษการเกษตร กรมวิชาการเกษตร.

ฝ่ายวิเคราะห์ทางสถิติ กองแผนงานและวิชาการ. 2532. การใช้สถิติกับงานวิจัย. เอกสารประกอบคำบรรยายการฝึกอบรมสถิติ. กรมวิชาการเกษตร. 348 หน้า

สถาบันอาหาร (2547). การตรวจพิสูจน์ความถูกต้องของวิธีทดสอบทางเคมี, เอกสารประกอบการอบรมสัมมนาวิชาการด้านอุตสาหกรรมอาหาร.

Anonymous,1993. Organochlorine Pesticides in Water by Gas Chromatographic Method. AOAC Official Method 990.06.

AOAC Peer – Verified Methods. Nov.1993.

EURACHEM, 1998

ISO/IEC Guide 25, 1990. General Requirements for the Competence of Calibration and Testing Laboratories.

ISO/IEC Guide 43-1, 1997. Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons.

ISO/IEC 17025, 1999. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories.

ISO/IEC 17025, 2005. General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories.

Taylor, J.K., 1912. Quality Assurance of Chemical Measurements. Library of Congress Cataloging-in-Publication data.

Taylor, J.K., 1987. Quality Assurance of Chemical Measurements. Lewis Publishers Inc. 328 pp.

ตารางที่ 1 % Recovery ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ low concentration (0.02 – 0.08 μg/L)

Sample No.	Recovery (%)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'- DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'- DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'-DDT	endosulfan sulfate
1	76.40	81.15	78.44	75.93	85.10	82.4	77.97	81.84	81.57	84.37	84.89	94.7	86.79	84.01	98.03	87.88
2	78.74	82.11	78.47	76.67	86.40	84.21	78.53	83.58	81.05	84.81	84.9	96.08	90.12	82.46	99.18	91.59
3	79.23	85.58	82.54	82.45	93.98	92.04	85.68	93.51	91.09	95.2	96.12	103.87	99.07	90.56	107.24	98.59
4	83.73	87.68	80.76	81.03	91.48	89.59	82.76	90.99	88.33	91.90	91.16	102.7	97.61	87.83	104.11	96.2
5	78.67	83.75	77.91	78.53	90.45	88.59	82.74	90.23	86.45	92.90	91.67	99.86	95.77	87.45	102.04	93.66
6	81.65	84.42	78.9	74.29	86.87	80.16	75.94	77.81	79.35	80.70	84.2	92.42	83.11	75.55	93.39	83.23
7	84.08	85.86	77.03	75.64	85.28	77.16	73.8	76.37	78.45	76.78	77.6	88.83	80.63	72.4	92.98	82.08
8	77.73	84.13	87.8	86.27	106.08	99.7	93.27	97.94	98.95	102.06	104.15	112.05	103.99	96.09	112.69	103.7
9	80.95	83.90	80.72	74.32	90.78	79.71	76.65	77.94	79.73	79.74	85.07	91.82	83.71	74.65	93.98	85.02
10	88.73	88.13	87.06	83.73	98.87	90.73	85.13	88.45	89.64	92.25	94.92	102.96	92.17	84.75	104.20	94.88
$\overline{X}$	80.99	84.67	80.96	78.89	91.53	86.43	81.25	85.87	85.46	88.07	89.47	98.53	91.30	83.58	100.78	91.68
SD	3.69	2.21	3.77	4.24	6.68	6.93	5.84	7.42	6.62	8.01	7.65	7.05	7.76	7.53	6.50	7.06
% RSD	4.56	2.61	4.66	5.37	7.30	8.02	7.18	8.64	7.74	9.10	8.55	7.15	8.50	9.01	6.45	7.71
fortified (μg/L)	0.0628	0.0750	0.0603	0.0720	0.0710	0.0543	0.0401	0.0717	0.0600	0.0744	0.0667	0.0626	0.0648	0.0508	0.0714	0.0491

ตารางที่ 2 % Recovery **ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ** medium concentration (0.2 – 0.4 μg/L)

Sample No.	Recovery (%)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'- DDT	endosulfan sulfate
1	61.17	67.69	89.42	73.41	90.10	95.35	90.66	92.76	93.53	98.77	99.02	95.83	96.01	95.79	93.23	95.38
2	57.02	66.09	65.24	70.82	89.89	95.42	90.52	92.75	93.54	98.7	97.78	96.57	96.19	96.18	93.99	97.56
3	58.30	66.72	67.37	71.85	92.22	99.16	93.73	97.23	97.31	103.72	103.31	100.33	101.76	100.93	98.55	101.44
4	58.94	74.19	63.92	78.17	81.29	85.63	81.42	81.68	83.06	86.76	87.42	84.22	84.58	84.15	82.14	83.94
5	59.57	66.93	69.88	68.00	80.77	84.88	83.91	88.66	88.32	92.02	94.35	93.17	94.32	93.35	92.08	94.7
6	72.95	71.20	77.16	83.95	95.18	93.64	92.59	93.17	95.4	98.09	100.05	99.18	100.40	97.16	98.04	99.38
7	74.86	74.55	82.46	78.75	86.96	88.43	84.35	83.64	85.76	89.28	89.22	88.05	87.25	86.13	85.44	87.13
8	71.36	74.60	76.83	79.89	88.73	89.01	85.19	85.14	88.69	91.95	91.43	90.08	90.98	88.94	88.54	90.74
9	71.68	71.05	77.16	76.04	87.52	88.44	84.36	84.19	86.86	90.82	91.39	87.20	88.43	87.40	85.80	89.17
10	66.26	69.86	74.18	74.65	83.10	87.65	83.87	84.25	85.81	88.8	90.29	86.84	86.23	87.54	85.23	86.89
$\overline{X}$	65.21	70.29	74.36	75.55	87.58	90.76	87.06	88.35	89.83	93.89	94.43	92.15	92.61	91.76	90.30	92.63
SD	6.96	3.37	8.00	4.77	4.70	4.79	4.35	5.29	4.78	5.54	5.32	5.65	6.02	5.64	5.70	5.90
% RSD	10.68	4.79	10.75	6.32	5.37	5.27	4.99	5.99	5.32	5.90	5.63	6.13	6.50	6.14	6.31	6.37
fortified (μg/L)	0.3139	0.3750	0.3020	0.3602	0.3552	0.2716	0.2005	0.3586	0.3002	0.3721	0.3343	0.3131	0.3238	0.2539	0.3570	0.2454

ตารางที่ 3 % Recovery ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ high concentration (1 – 1.9 µg/L)

Sample No.	Recovery (%)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'- DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'-DDT	endosulfan sulfate
1	82.43	78.49	87.69	86.55	93.75	90.46	91.61	93.58	93.27	93.92	95.87	95.83	96.73	96.34	99.82	98.73
2	83.47	79.38	88.03	86.31	94.29	90.33	91.64	93.47	93.45	94.29	96.41	95.98	97.41	96.25	100.57	98.79
3	81.14	77.33	86.49	83.86	91.44	88.83	89.52	91.91	91.98	93.04	94.65	94.38	95.39	94.26	99.26	97.41
4	84.74	74.43	89.06	88.71	97.70	91.40	95.24	98.08	98.86	97.36	101.6	101.39	102.73	100.77	106.18	103.59
5	88.98	86.55	94.34	83.32	99.86	97.19	96.94	97.19	100.24	100.18	104.94	100.75	102.22	100.59	104.55	102.13
6	84.97	83.09	92.31	90.24	96.59	93.49	93.52	92.63	95.57	94.77	98.09	95.97	95.73	95.53	98.49	96.83
7	81.32	79.58	88.99	86.91	91.75	88.63	88.87	87.04	90.77	89.74	92.15	90.00	90.12	90.02	91.52	90.62
8	82.16	80.70	89.53	88.01	94.05	91.93	91.76	90.48	93.53	93.42	96.80	93.95	93.80	94.10	95.83	95.58
9	81.53	77.72	90.04	91.01	95.83	91.90	92.96	91.70	94.85	93.51	96.66	93.91	95.11	93.81	96.06	95.69
10	79.46	80.42	89.16	86.42	91.85	89.52	89.59	88.86	91.66	91.76	94.09	91.02	93.31	91.64	92.98	93.89
$\overline{X}$	83.02	79.77	89.56	87.13	94.71	91.37	92.17	92.49	94.42	94.20	97.13	95.32	96.26	95.33	98.53	97.33
SD	2.69	3.31	2.28	2.47	2.78	2.54	2.58	3.39	3.07	2.88	3.72	3.64	3.85	3.43	4.65	3.79
% RSD	3.23	4.15	2.54	2.83	2.93	2.78	2.80	3.66	3.26	3.05	3.83	3.81	4.00	3.60	4.72	3.89
fortified (µg/L)	1.5070	1.8754	1.5098	1.8008	1.7760	1.3582	1.0026	1.7931	1.5008	1.8603	1.6672	1.5656	1.6191	1.2695	1.7852	1.2271

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบ precision ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ low concentration (0.02 – 0.08 μg/L)

Sample No.	Pesticide residues conc. (μg/L)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'- DDT	endosulfan sulfate
1	0.046	0.0610	0.047	0.055	0.060	0.045	0.031	0.059	0.049	0.063	0.057	0.059	0.056	0.043	0.070	0.043
2	0.047	0.0620	0.047	0.055	0.061	0.046	0.031	0.06	0.049	0.063	0.057	0.06	0.058	0.042	0.071	0.045
3	0.048	0.0640	0.05	0.059	0.067	0.05	0.034	0.067	0.055	0.071	0.064	0.065	0.064	0.046	0.077	0.048
4	0.05	0.0660	0.049	0.058	0.065	0.049	0.033	0.065	0.053	0.068	0.061	0.064	0.063	0.045	0.074	0.047
5	0.047	0.0630	0.047	0.057	0.064	0.048	0.033	0.065	0.052	0.069	0.061	0.063	0.062	0.044	0.073	0.046
6	0.049	0.0630	0.048	0.054	0.062	0.044	0.03	0.056	0.048	0.060	0.056	0.058	0.054	0.038	0.067	0.041
7	0.051	0.0640	0.047	0.054	0.061	0.042	0.03	0.055	0.047	0.057	0.052	0.056	0.052	0.037	0.066	0.04
8	0.047	0.0630	0.053	0.062	0.075	0.054	0.037	0.07	0.059	0.076	0.069	0.07	0.067	0.049	0.08	0.051
9	0.053	0.0660	0.053	0.06	0.07	0.049	0.034	0.063	0.054	0.069	0.063	0.064	0.06	0.043	0.074	0.047
10	0.049	0.063	0.049	0.054	0.064	0.043	0.031	0.056	0.048	0.059	0.057	0.058	0.054	0.038	0.067	0.042
$\overline{X}$	0.049	0.064	0.049	0.057	0.065	0.047	0.033	0.062	0.052	0.066	0.060	0.062	0.060	0.043	0.072	0.045
SD	0.0022	0.0017	0.0025	0.0028	0.0049	0.0036	0.0023	0.0051	0.0039	0.0059	0.0051	0.0043	0.0050	0.0037	0.0045	0.0035
% RSD	4.44	2.62	5.10	4.99	7.61	7.61	7.06	8.15	7.53	8.96	8.46	6.90	8.32	8.70	6.22	7.72
Predicted Horwitz RSD	47.07	45.22	47.02	45.95	45.06	47.25	50.01	45.37	46.64	44.94	45.62	45.38	45.67	47.96	44.34	47.58
HORRAT	0.09	0.06	0.11	0.11	0.17	0.79	0.14	0.18	0.16	0.20	0.19	0.15	0.18	0.18	0.14	0.16

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบ precision ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ medium concentration (0.2 – 0.4 μg/L)

Sample No.	Pesticide residues (μg/L)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'- DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'- DDT	endosulfan sulfate
1	0.192	0.254	0.207	0.264	0.320	0.259	0.182	0.333	0.281	0.367	0.330	0.300	0.311	0.243	0.333	0.234
2	0.179	0.248	0.197	0.255	0.319	0.259	0.182	0.333	0.281	0.367	0.326	0.302	0.311	0.244	0.336	0.239
3	0.183	0.25	0.203	0.259	0.328	0.269	0.188	0.349	0.292	0.39	0.344	0.314	0.33	0.256	0.352	0.249
4	0.185	0.217	0.193	0.25	0.29	0.231	0.168	0.318	0.265	0.342	0.315	0.292	0.305	0.237	0.329	0.232
5	0.187	0.251	0.211	0.269	0.295	0.238	0.168	0.302	0.258	0.33	0.301	0.272	0.279	0.222	0.304	0.213
6	0.229	0.278	0.229	0.282	0.289	0.233	0.163	0.293	0.249	0.32	0.291	0.264	0.274	0.214	0.293	0.206
7	0.235	0.267	0.249	0.302	0.338	0.254	0.186	0.334	0.286	0.365	0.334	0.311	0.33	0.247	0.35	0.244
8	0.224	0.280	0.232	0.284	0.309	0.24	0.169	0.300	0.257	0.332	0.297	0.276	0.283	0.219	0.305	0.214
9	0.225	0.280	0.233	0.288	0.315	0.242	0.171	0.305	0.266	0.342	0.305	0.282	0.295	0.226	0.316	0.223
10	0.208	0.267	0.224	0.274	0.311	0.24	0.169	0.302	0.261	0.338	0.305	0.27	0.286	0.22	0.31	0.219
$\overline{X}$	0.205	0.259	0.218	0.272	0.311	0.247	0.175	0.317	0.270	0.349	0.315	0.289	0.300	0.233	0.322	0.227
SD	0.022	0.020	0.018	0.017	0.017	0.013	0.009	0.019	0.014	0.021	0.018	0.018	0.019	0.014	0.021	0.014
% RSD	10.68	7.53	8.38	6.32	5.36	5.19	5.11	6.03	5.33	5.90	5.65	6.11	6.50	6.09	6.37	6.35
Predicted Horwitz RSD	37.92	36.59	37.56	36.33	35.60	36.87	38.84	35.51	36.38	34.99	35.54	36.01	35.80	37.19	35.42	37.33
HORRAT	0.26	0.21	0.22	0.17	0.23	0.14	0.13	0.17	0.15	0.17	0.16	0.17	0.18	0.16	0.18	0.17

ตารางที่ 6 ผลการทดสอบ precision ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ high concentration (1 – 1.9 μg/L)

Sample No.	Pesticide residues (μg/L)															
	alpha - BHC	gamma -BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p' - DDE	alpha - endosulfan	p,p'- DDE	dieldrin	o,p' - TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p' - TDE	beta - endosulfan	p,p'-DDT	endosulfan sulfate
1	1.242	1.472	1.324	1.559	1.665	1.229	0.918	1.678	1.400	1.747	1.598	1.500	1.566	1.223	1.782	1.212
2	1.258	1.489	1.329	1.554	1.676	1.227	0.919	1.676	1.403	1.754	1.607	1.503	1.577	1.222	1.795	1.212
3	1.223	1.450	1.306	1.510	1.624	1.206	0.898	1.648	1.380	1.731	1.578	1.478	1.544	1.197	1.772	1.195
4	1.277	1.396	1.345	1.597	1.74	1.240	0.955	1.759	1.484	1.81	1.694	1.587	1.663	1.279	1.896	1.271
5	1.341	1.623	1.424	1.681	1.774	1.320	0.972	1.743	1.504	1.86	1.749	1.577	1.655	1.277	1.866	1.253
6	1.28	1.558	1.394	1.625	1.715	1.270	0.938	1.661	1.434	1.76	1.635	1.502	1.55	1.213	1.758	1.188
7	1.225	1.493	1.344	1.565	1.629	1.204	0.891	1.561	1.362	1.669	1.536	1.41	1.459	1.143	1.634	1.112
8	1.238	1.510	1.325	1.585	1.670	1.249	0.920	1.622	1.404	1.738	1.614	1.471	1.52	1.20	1.711	1.173
9	1.229	1.460	1.359	1.639	1.702	1.250	0.932	1.640	1.423	1.740	1.61	1.470	1.54	1.191	1.715	1.174
10	1.197	1.508	1.346	1.556	1.631	1.216	0.898	1.593	1.376	1.707	1.569	1.425	1.511	1.163	1.66	1.152
$\overline{X}$	1.251	1.496	1.350	1.587	1.682	1.241	0.925	1.659	1.417	1.752	1.619	1.492	1.558	1.210	1.759	1.194
SD	0.0405	0.0620	0.0353	0.0498	0.0494	0.0346	0.0274	0.0609	0.0461	0.0536	0.0619	0.0568	0.0623	0.0435	0.0829	0.0465
% RSD	3.24	4.14	2.62	3.14	2.94	2.79	2.96	3.67	3.25	3.06	3.82	3.81	4.00	3.59	4.71	3.89
Predicted Horwitz RSD	28.87	28.11	28.55	27.86	27.61	28.91	30.22	27.68	28.34	27.45	27.78	28.12	27.94	29.02	27.43	29.08
HORRAT	0.11	0.15	0.09	0.11	0.11	0.08	0.06	0.03	0.11	0.11	0.14	0.14	0.14	0.12	0.17	0.13

ตารางที่ 7 ระดับ LOQ ความเข้มข้นน้อยกว่า predicted 10 So ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ โดยประเมินจากค่า % Recovery

Sample No.	Pesticide residues (μg/L)															
	alpha-BHC	gamma-BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p'-DDE	alpha-endosulfan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p'-TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p'-TDE	beta-endosulfan	p,p'-DDT	endosulfan sulfate
1	80.29	80.20	88.24	100.00	92.46	92.31	92.71	90.40	93.99	93.90	91.30	91.37	93.15	102.94	95.55	102.24
2	82.14	80.20	84.99	85.31	93.69	94.33	94.74	94.20	97.19	97.36	97.63	95.58	97.98	101.96	101.01	104.08
3	80.90	81.22	84.79	81.22	90.22	91.30	89.27	91.00	92.99	95.73	96.64	93.37	95.36	100.98	99.39	103.67
4	85.22	83.27	90.47	85.51	94.09	95.14	93.93	96.20	99.00	101.02	103.36	100.20	102.22	107.65	110.32	110.61
5	77.62	77.55	80.32	76.73	83.71	84.21	82.59	83.00	84.97	87.80	82.21	84.74	87.10	90.39	87.45	88.78
6	81.93	75.51	83.16	97.96	89.41	86.23	89.07	87.20	90.98	88.01	96.25	88.55	88.31	91.37	91.70	93.47
7	74.13	73.06	74.85	73.47	82.28	82.79	81.58	82.00	83.57	83.74	90.51	81.73	83.67	87.65	85.63	90.61
8	78.64	77.55	82.15	79.39	87.78	87.65	87.65	88.00	90.38	91.06	99.21	90.36	93.15	96.67	96.76	100.61
9	77.41	78.57	83.98	83.06	96.74	96.76	96.96	97.80	100.80	100.41	111.66	101.00	102.42	109.61	108.50	112.04
10	78.23	77.55	87.22	78.98	88.39	87.85	88.06	89.60	91.18	92.28	100.40	91.97	94.76	99.41	97.37	103.67
$\overline{X}$	79.65	78.47	84.02	84.16	89.88	89.86	89.66	89.94	92.51	93.13	96.92	91.89	93.81	98.86	97.37	100.98
SD	3.10	2.92	4.38	8.64	4.58	4.80	5.04	5.19	5.58	5.65	7.92	6.11	6.18	7.31	8.03	7.84
% RSD	3.90	3.73	5.22	10.28	5.10	5.34	5.63	5.78	6.04	6.08	8.18	6.65	6.60	7.40	8.25	7.77
fortified (μg/L)	0.0487	0.0490	0.0493	0.0485	0.0491	0.0494	0.0494	0.0450	0.0499	0.0492	0.0506	0.0498	0.0496	0.0510	0.0494	0.0490
LOQ	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05

ตารางที่ 8 ผลการทดสอบ precision ของสารพิษกลุ่มออร์กาโนคลอรีน 16 ชนิดในน้ำ ที่ระดับ LOQ ความเข้มข้นน้อยกว่า predicted 10 So

Sample No.	Pesticide residues (μg/L)															
	alpha - BHC	gamma - BHC	heptachlor	aldrin	heptachlor epoxide	o,p'-DDE	alpha - endosulfan	p,p'-DDE	dieldrin	o,p'-TDE	endrin	o,p'-DDT	p,p'-TDE	beta - endosulfan	p,p'-DDT	endosulfan sulfate
1	0.039	0.039	0.043	0.049	0.045	0.045	0.045	0.045	0.046	0.046	0.046	0.045	0.046	0.052	0.047	0.050
2	0.040	0.039	0.041	0.041	0.046	0.046	0.046	0.047	0.048	0.047	0.049	0.047	0.048	0.052	0.049	0.051
3	0.039	0.039	0.041	0.039	0.044	0.045	0.044	0.045	0.046	0.047	0.048	0.046	0.047	0.051	0.049	0.050
4	0.041	0.040	0.044	0.041	0.046	0.047	0.046	0.048	0.049	0.049	0.052	0.049	0.050	0.054	0.054	0.054
5	0.037	0.038	0.039	0.037	0.041	0.041	0.040	0.041	0.042	0.043	0.041	0.042	0.043	0.046	0.043	0.043
6	0.039	0.037	0.041	0.048	0.043	0.042	0.044	0.043	0.045	0.043	0.048	0.044	0.043	0.046	0.045	0.045
7	0.036	0.035	0.036	0.036	0.040	0.040	0.040	0.041	0.041	0.041	0.045	0.040	0.041	0.044	0.042	0.044
8	0.038	0.038	0.040	0.038	0.043	0.043	0.043	0.044	0.045	0.044	0.050	0.045	0.046	0.049	0.047	0.049
9	0.037	0.038	0.041	0.040	0.047	0.047	0.047	0.048	0.050	0.049	0.056	0.050	0.050	0.055	0.053	0.054
10	0.038	0.038	0.043	0.038	0.043	0.043	0.043	0.044	0.045	0.045	0.050	0.045	0.047	0.050	0.048	0.050
$\overline{X}$	0.038	0.038	0.041	0.041	0.044	0.044	0.044	0.045	0.046	0.045	0.049	0.0458	0.046	0.050	0.048	0.049
SD	0.0015	0.0014	0.0022	0.0040	0.0022	0.0024	0.0025	0.0026	0.0028	0.0028	0.0040	0.0030	0.0031	0.0037	0.0040	0.003
%RSD	3.90	3.73	5.22	10.28	5.10	5.34	5.63	5.78	6.04	6.08	8.18	6.65	6.60	7.40	8.25	7.77
Predicted Horwitz RSD	48.71	48.78	48.23	48.26	47.77	47.73	47.75	47.64	47.45	47.51	47.02	47.51	47.40	46.83	47.16	46.96
HORRAT	0.08	0.08	0.11	0.21	0.11	0.11	0.12	0.12	0.13	0.13	0.17	0.14	0.14	0.16	0.18	0.17

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของสารพิษในน้ำ โดยใช้ One way ANOVA (ANOVA: Single Factor) และ Horwitz equation

pesticides	ANOVA : Single Factor ($F_{critical}$ = 3.86) F_{value}	Horwitz equatuion Ss/SDp
1. alpha-BHC	9.72	0.07
2. gamma-BHC	67.23	0.07
3. heptachlor	7.04	0.09
4. aldrin	16.10	0.06
5. heptachlor epoxide	110.46	0.13
6. o,p'-DDE	26.32	0.07
7. alpha-endosulfan	78.62	0.09
8. p,p'-DDE	0.24	0.08
9. dieldrin	78.73	0.07
10. o,p'-TDE	97.16	0.05
11. endrin	79.58	0.07
12. o,p'-DDT	93.15	0.08
13. p,p'-TDE	74.89	0.06
14. beta-endosulfan	30.91	0.06
15. p,p'-DDT	28.22	0.06
16. endosulfan sulfate	3.92	0.02

ตารางที่ 10 % recovery ของการทดสอบความคงทน (stability) ของสารพิษในน้ำ ที่อุณหภูมิห้อง 25 ± 5 องศาเซลเซียส

pesticides	% recovery				
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน
1. alpha-BHC	84.6	68.0	52.4	47.9	40.4
2. gamma-BHC	85.5	73.3	64.4	56.8	49.9
3. heptachlor	63.2	39.6	12.1	14.0	4.5
4. aldrin	57.9	33.9	13.5	15.5	4.9
5. heptachlor epoxide	101.3	46.5	43.1	41.8	30.2
6. o,p'-DDE	72.5	43.9	13.4	14.8	8.8
7. alpha-endosulfan	100.9	18.6	11.2	10.7	2.2
8. p,p'-DDE	79.2	67.9	12.9	13.5	7.5
9. dieldrin	102.9	49.4	39.7	20.8	10.3
10. o,p'-TDE	85.9	78.2	23.1	18.6	15.2
11. endrin	108.2	45.6	56.0	40.8	20.3
12. o,p'-DDT	82.8	36.2	22.9	18.8	16.1
13. p,p'-TDE	83.3	66.4	19.9	15.5	11.7
14. beta-endosulfan	107.1	11.7	5.9	4.3	2.5
15. p,p'-DDT	94.3	78.7	26.3	20.9	16.5
16. endosulfan sulfate	113.7	64.7	74.9	50.9	43.0

ตารางที่ 11 % recovery ของการทดสอบความคงทน (Stability) ของสารพิษในน้ำ ที่อุณหภูมิ – 20 ± 5 องศาเซลเซียส

pesticides	% recovery						
	0 วัน	1 วัน	3 วัน	7 วัน	14 วัน	30 วัน	54 วัน
1. alpha-BHC	86.3	89.1	76.0	87.0	78.4	86.3	89.9
2. gamma-BHC	93.5	92.3	90.6	103.7	83.4	92.2	97.7
3. heptachlor	93.9	62.2	68.6	79.2	62.9	54.3	70.6
4. aldrin	70.8	54.4	57.8	65.2	59.4	61.6	55.4
5. heptachlor epoxide	102.9	102.5	104.0	119.6	89.8	98.2	103.1
6. o,p'-DDE	95.1	78.7	84.1	93.6	67.3	67.4	81.3
7. alpha-endosulfan	104.2	92.1	98.6	112.2	85.1	89.9	98.6
8. p,p'-DDE	101.1	78.9	84.6	97.6	67.8	73.7	81.2
9. dieldrin	122.9	123.8	127.2	127.8	109.4	118.0	124.4
10. o,p'-TDE	100.4	97.6	99.9	115.5	85.3	87.6	97.1
11. endrin	118.7	119.6	126.6	124.8	105.1	109.7	113.9
12. o,p'-DDT	114.5	86.3	99.8	118.5	76.9	86.5	90.7
13. p,p'-TDE	98.7	97.8	94.0	110.7	86.9	71.9	92.6
14. beta-endosulfan	116.0	93.9	102.4	115.9	95.3	99.9	101.5
15. p,p'-DDT	127.9	92.3	103.2	120.0	84.6	89.5	100.4
16. endosulfan sulfate	102.5	106.5	108.6	116.5	93.4	99.8	103.2

ตารางที่ 12 % recovery ของการทดสอบการใช้น้ำประปาและน้ำเขื่อนผสม fortified sample

pesticides	% recovery			
	น้ำประปาที่เติม (ml)		น้ำเขื่อนที่เติม (ml)	
	900	750	900	750
1. alpha-BHC	77.8	71.6	83.8	84.6
2. gamma-BHC	64.8	73.5	88.9	85.5
3. heptachlor	69.6	64.3	67.3	63.2
4. aldrin	57.3	57.1	62.7	57.9
5. heptachlor epoxide	89.4	78.4	95.7	101.3
6. o,p'-DDE	76.5	69.9	77.3	72.5
7. alpha-endosulfan	87.3	77.9	85.6	100.9
8. p,p'-DDE	77.6	74.6	80.2	79.2
9. dieldrin	73.0	82.0	120.0	102.9
10. o,p'-TDE	71.2	77.2	91.9	85.9
11. endrin	97.9	88.7	106.4	108.1
12. o,p'-DDT	85.9	80.3	85.2	82.8
13. p,p'-TDE	88.7	81.4	88.2	89.3
14. beta-endosulfan	96.3	84.9	84.9	107.1
15. p,p'-DDT	89.5	91.1	89.3	94.3
16. endosulfan sulfate	106.2	95.2	104.1	113.7

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ

sample	pesticides	spiked sample (μg/L)	ห้องปฏิบัติการ กลุ่มวัตถุมีพิษการเกษตร		ห้องปฏิบัติการ ที่มีมาตรฐานด้านการตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้าง	
			result (μg/L)	% recovery	result (μg/L)	% recovery
No. 1	heptachlor	1.17	0.53	97	0.62	72
	heptachlor epoxide	0.86	0.61	95	-	-
	alpha-endosulfan	0.94	0.63	90	0.82	104
	beta-endosulfan	0.68	0.51	97	0.51	106
	endosulfan sulfate	0.71	0.57	91	1.13	100
	dieldrin	0.76	0.58	98	0.82	104
	endrin	1.13	0.75	92	1.09	98
	o,p'-DDE	1.32	0.79	94	0.93	106
	o,p'-TDE	1.22	0.88	103	0.83	108
	p,p'-DDT	0.82	0.67	114	0.53	74
	p,p'-TDE	-	-	-	0.38	108
	o,p'-DDT	-	-	-	0.08	68
No. 2	heptachlor	0.24	0.12	97	0.10	72
	heptachlor epoxide	0.17	0.15	95	-	-
	alpha-endosulfan	0.19	0.16	90	0.16	104
	beta-endosulfan	0.14	0.14	97	0.10	106
	endosulfan sulfate	0.14	0.15	91	0.22	100
	dieldrin	0.15	0.15	98	0.16	104
	endrin	0.23	0.21	92	0.21	98
	o,p'-DDE	0.26	0.22	94	0.21	106
	o,p'-TDE	0.24	0.26	103	0.17	108
	p,p'-DDT	0.16	0.17	114	0.10	74
	p,p'-TDE	-	-	-	0.10	108
	o,p'-DDT	-	-	-	0.03	68
Method			In-house method Based on AOAC (1999)		Modified AWWA method (1975), GLC-ECD	

หมายเหตุ : - หมายถึง Not spiked / Not reported

% recovery หมายถึง ประสิทธิภาพของวิธีการทดสอบซึ่งทำโดยห้องปฏิบัติการ