

The Role of Reference Materials in Validation of Test Method



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

วิทยากร : ดารณี สมบูรณ์จิตต์

เอกสารอ้างอิงที่แนะนำ

- **ISO GUIDE 33 : Third edition 2015 : Reference materials – Good practice in using reference materials.**
- **ILAC-G9 : 2005 : Guideline for the Selection and Use of Reference Materials.**
- **EURACHEM Guide : Second Edition 2014 : The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method validation and Related Topic.**



Axco Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เดมิตอลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

Definition of RM/CRM

- **REFERENCE MATERIAL (RM) / วัสดุอ้างอิง**

วัสดุ หรือสารที่มีคุณสมบัติหนึ่งอย่างหรือหลายอย่าง ที่เตรียมขึ้นอย่างดีมีความเป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อใช้สำหรับการกำหนดค่าของวัสดุต่างๆหรือเพื่อใช้สำหรับการสอบเทียบเครื่องมือวัด หรือเพื่อประเมินวิธีการวัด

- **CERTIFIED REFERENCE MATERIAL (CRM) / วัสดุอ้างอิงรับรอง**

วัสดุอ้างอิงที่มีใบประกาศรับรองค่าของคุณสมบัติอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่าง ผ่านการรับรองโดยวิธีการที่สามารถสอบกลับได้ไปยังค่าที่ถูกต้อง พร้อมระบุค่าความไม่แน่นอนที่ระดับความเชื่อมั่นตามที่กำหนด



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ๊กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส จำกัด

RM/CRMs สำหรับการทดสอบทางเคมี

1. สารเคมีที่มีความบริสุทธิ์สูง และสารละลายที่ได้จากสารที่มีความบริสุทธิ์สูงนั้น (High Purity Substance Reference Materials / Solution of High Purity Substance) ซึ่งมีใบรับรองความบริสุทธิ์หรือความเข้มข้น สำหรับกำหนดค่าของสิ่งที่ทำการวัด / สำหรับสอบเทียบเครื่องมือวัด
2. สารเคมีที่อยู่ในวัสดุที่ทำการวัด (Matrix Reference Materials) ซึ่งมีใบรับรองความเข้มข้นของสารเคมีที่มีอยู่ในวัสดุนั้น เช่น น้ำที่มีโลหะปรอท เป็นต้น สำหรับประเมินสมรรถนะของวิธีการวัด

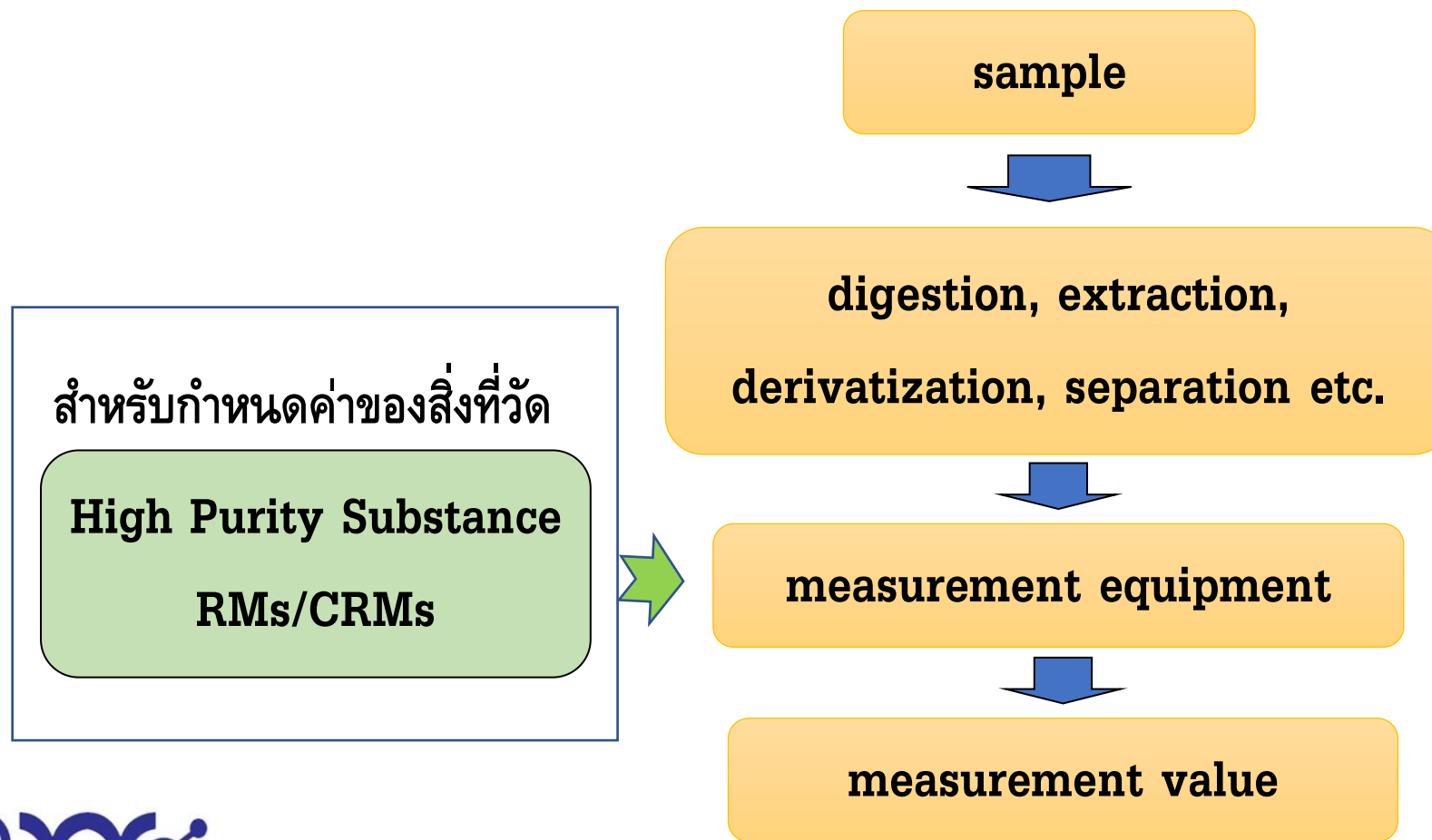


Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด



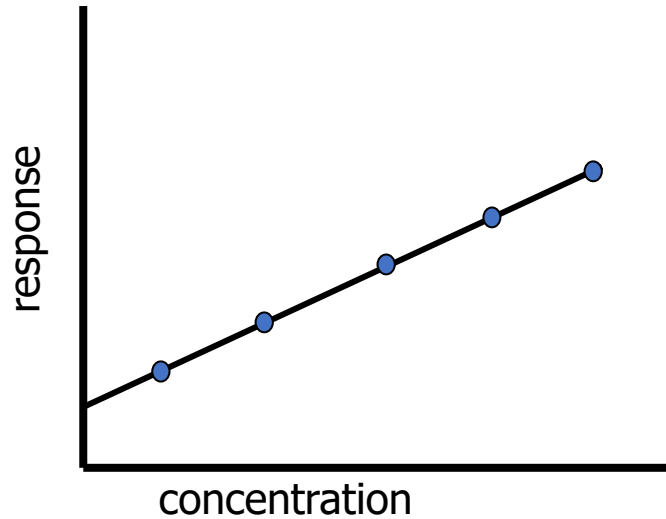
Role of high purity substance RMs/CRMs in Test Method



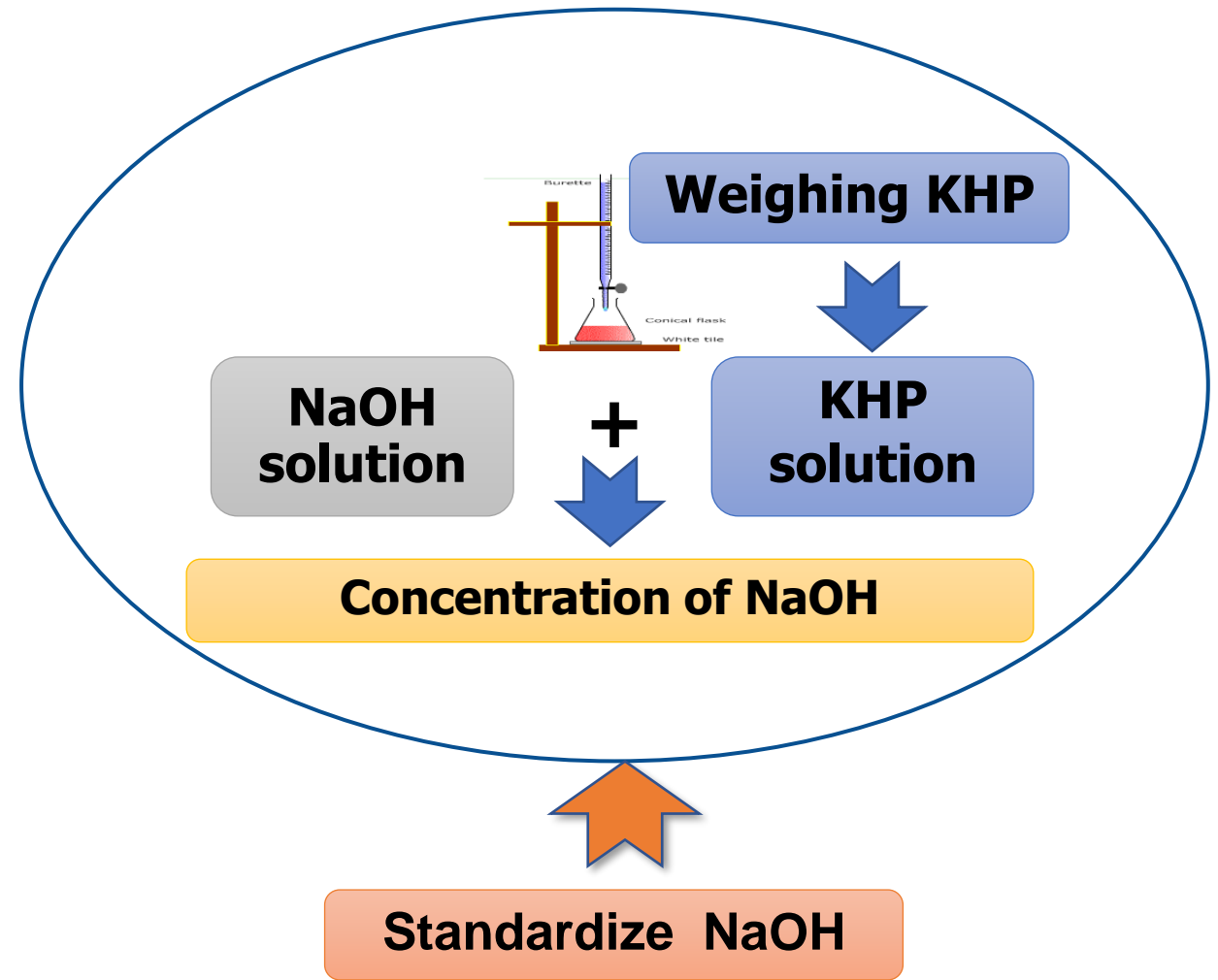
Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส จำกัด

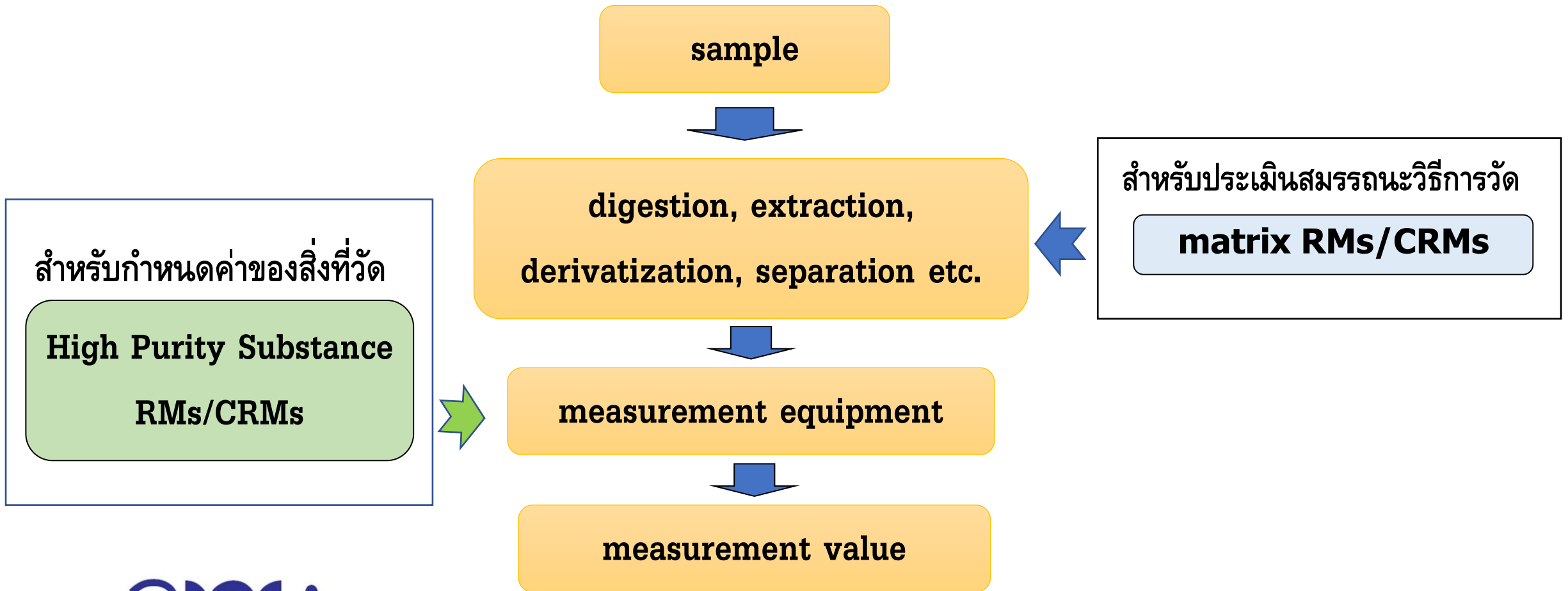
Role of high purity substance RMs/CRMs in Test Method



Calibration Curve



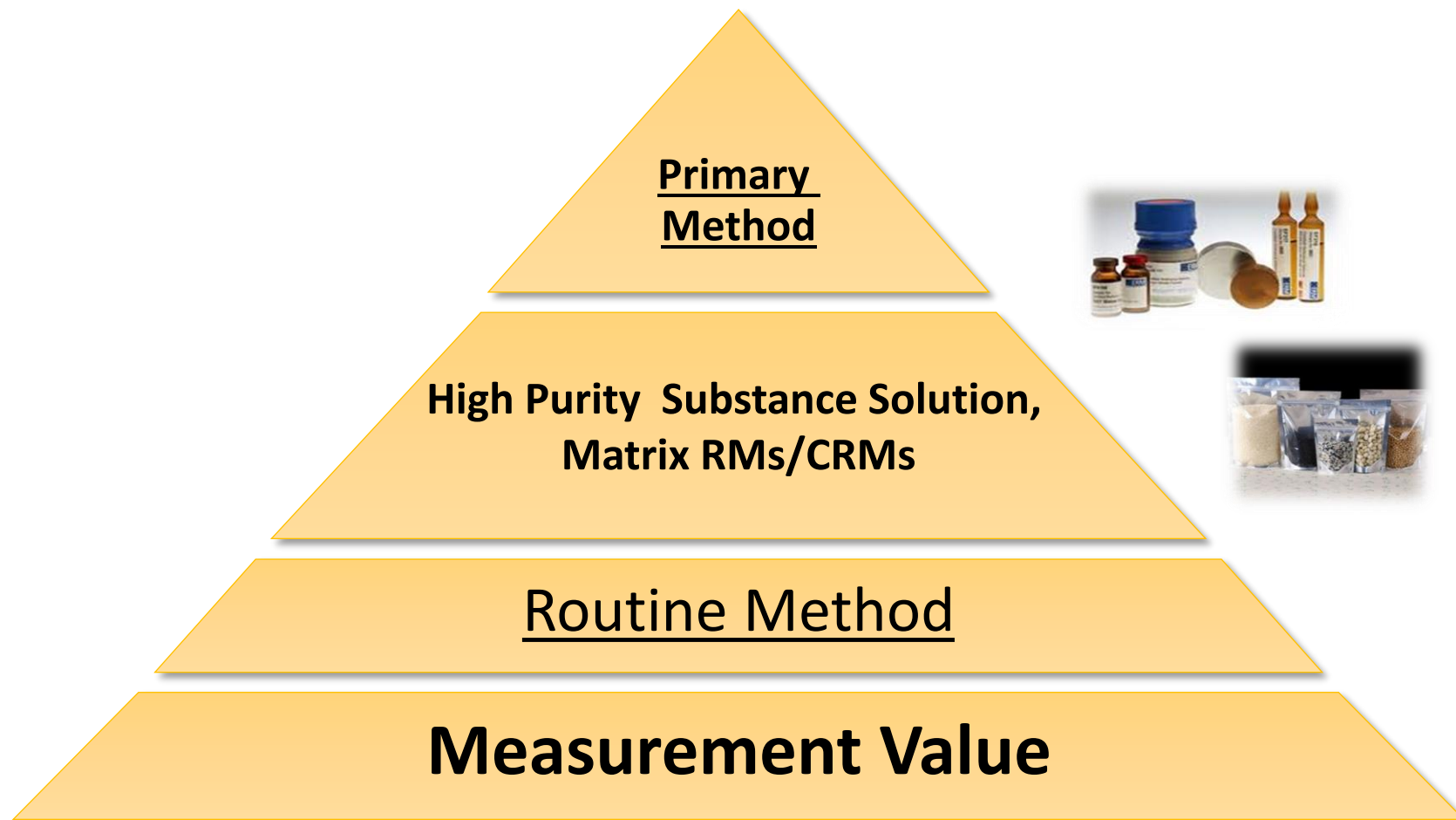
Role of matrix RMs/CRMs in Test Method



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด

ความสอบกลับได้ทางมาตรวิทยา ของการทดสอบทางเคมี ผ่านทาง RMs/CRMs



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส เซส จำกัด

Method Validation /Method Verification

การตรวจสอบ/ทวนสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ

การตรวจสอบความใช้ได้ (Method Validation) หมายถึง

การหาพยานหลักฐานให้มั่นใจว่าวิธีทดสอบนั้นมี สมรรถนะ (performance characteristics) ที่เหมาะสมกับ ขอบข่ายและวัตถุประสงค์ของการใช้งาน

การทวนสอบความใช้ได้ (Method Verification) หมายถึง

การหาพยานหลักฐานให้มั่นใจว่าเมื่อห้องปฏิบัติการได้นำวิธีทดสอบที่เป็นวิธีมาตรฐาน(Standard Method) มาใช้ ว่ายังคงมี สมรรถนะ(performance characteristics) เป็นไปตามที่วิธีมาตรฐานนั้นๆกำหนดไว้



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

สมรรถนะของวิธีทดสอบทางเคมี (Performance Characteristics of the method)

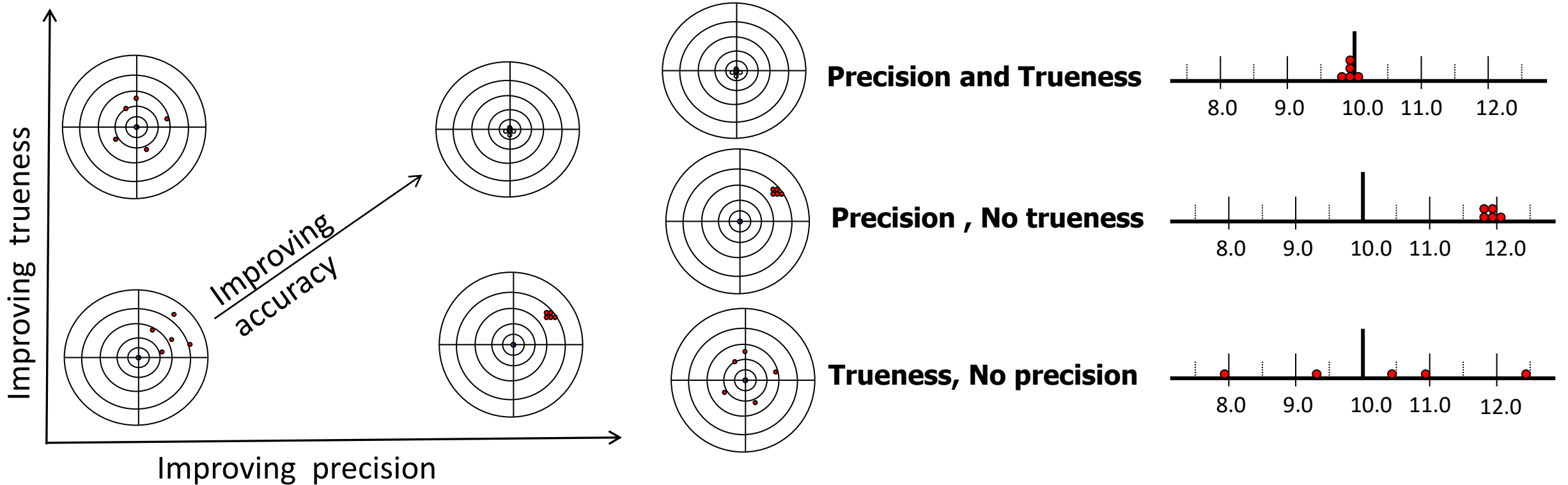
- ▶ **Accuracy (Precision & Trueness/Bias)**
- ▶ **LOD & LOQ (ความสามารถในการตรวจวัดที่ปริมาณต่ำๆ)**
- ▶ **Working Range & Linearity of Calibration Curve**
(ช่วงของการทดสอบ และความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ของ calibration curve)
- ▶ **Selectivity or Specificity or Identity**
(ความสามารถในการแยกแยะสารที่ต้องการวัดออกจากสารอื่นๆที่อยู่ในตัวอย่าง)
- ▶ **Ruggedness or Robustness (ความคงทนต่อการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆ)**



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

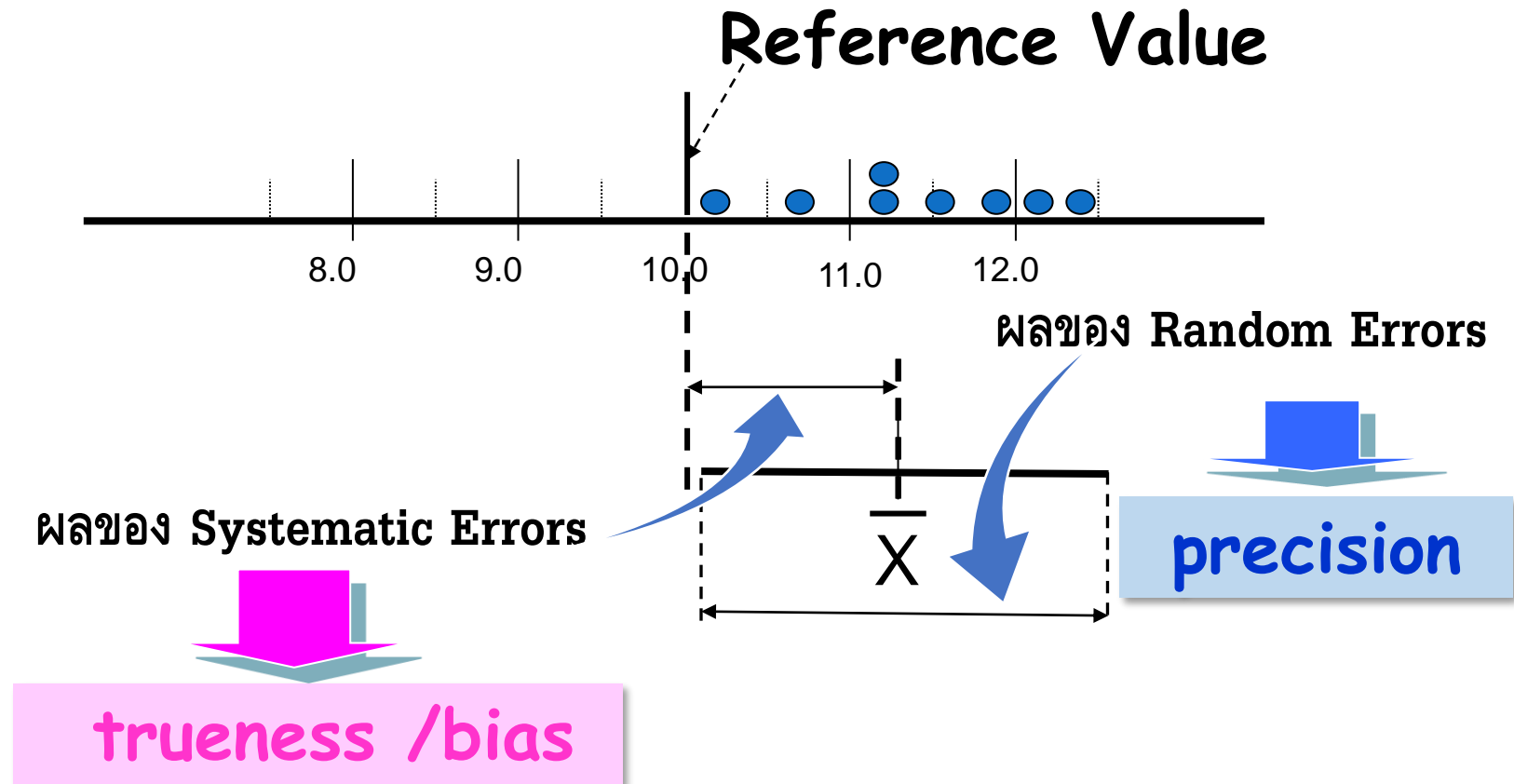
Accuracy (ความแม่นยำ) ของผลการวัด



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

Accuracy (ความแม่นยำ)



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด

Accuracy (ความแม่นยำ)

Precision

คุณสมบัติที่บอกความใกล้เคียงกันของผลการทดสอบ เมื่อทำการทดสอบซ้ำ

Trueness (Bias)

คุณสมบัติที่บอกความใกล้เคียงกันของค่าเฉลี่ยของการทดสอบซ้ำกับค่าอ้างอิง



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส เซส จำกัด

Precision

คุณสมบัติที่แสดงถึงความใกล้เคียงกัน ของกลุ่มผลการทดสอบที่ทำซ้ำหลายๆครั้ง ภายใต้เงื่อนไขที่กำหนด

- การทดสอบซ้ำ ภายใต้เงื่อนไข Repeatability
- การทดสอบซ้ำ ภายใต้เงื่อนไข Intermediate precision
- การทดสอบซ้ำ ภายใต้เงื่อนไข Reproducibility



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ๊กโซ เคมีคอลลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

เงื่อนไขการทดสอบซ้ำ ของการประเมิน precision

parameters	Repeatability	Intermediate precision	Reproducibility
sample	same	same	same
analyst	same	different	different
instrument	same	different	different
time period	short	long	long
calibration	same	different	different
laboratory	same	same	difference

การแสดงค่า
precision

$$\%RSD = \%CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด

Role of the RMs/CRMs in Validation /Verification of Test Method

Trueness(Bias) : คุณสมบัติที่บอกความใกล้เคียงกันของค่าเฉลี่ยของการทดสอบซ้ำ กับค่าอ้างอิง

Matrix RMs / CRMs

Fortified Materials



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส เซส จำกัด

Fortified Materials

- วัสดุ(matrix) ที่ถูกเติมด้วยสารที่ต้องการทดสอบ(analyte) ซึ่งในรูปของ solution of high purity substance ในปริมาณที่ทราบแน่นอน เพื่อให้มีสารที่ต้องการทดสอบในระดับตามที่ต้องการ
- โดยก่อนการเติม วัสดุ(matrix) นั้นต้องไม่มี analyte หรือถ้ามี ควรมีในระดับที่ต่ำกว่าปริมาณที่เติม



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

การประเมิน Trueness / Bias ด้วย matrix CRM

ทำการทดสอบ matrix RMs/CRMs ที่เหมาะสม แล้วเปรียบเทียบผลที่ได้ กับค่าที่แสดงไว้ในใบ certificate

ใบรับรองระบุค่า ซึ่งระบุค่าความไม่แน่นอน

$$10.0 \pm 0.5 = 9.5 - 10.5$$



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด

แนวทางการประเมินผล : แบบที่ 1

$$|\bar{X}_{\text{lab}} - \bar{X}_{\text{CRM}}| \leq k \sqrt{u^2_{\text{lab}} + u^2_{\text{CRM}}}$$

อ้างอิงจาก :

ISO Guide 33 : 2015

$$\frac{|\bar{X}_{\text{lab}} - \bar{X}_{\text{CRM}}|}{\sqrt{u^2_{\text{lab}} + u^2_{\text{CRM}}}} \leq 2$$

$$\frac{|\bar{X}_{\text{lab}} - \bar{X}_{\text{CRM}}|}{\sqrt{U^2_{\text{lab}} + U^2_{\text{CRM}}}} \leq 1$$

ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

\bar{X}_{lab} = ผลการทดสอบของ lab

u_{lab} = standard uncertainty ของผลการทดสอบของ lab

U_{lab} = expanded uncertainty ของผลการทดสอบของ lab

\bar{X}_{CRM} = certified value ของ CRM

u_{CRM} = standard uncertainty ของ CRM

U_{CRM} = expanded uncertainty ของ CRM



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส เซส จำกัด

แนวทางการประเมินผล : แบบที่ 2

ผลทดสอบต้องอยู่ในช่วงของ $\bar{X}_{CRM} \pm U_{CRM}$

$$\bar{X}_{CRM} - U_{CRM} \leq \bar{X}_{lab} \leq \bar{X}_{CRM} + U_{CRM}$$



$$\frac{|\bar{X}_{lab} - \bar{X}_{CRM}|}{U_{CRM}} \leq 1$$

ที่ระดับความ
เชื่อมั่น 95 %

\bar{X}_{lab} = ผลการทดสอบของ lab

\bar{X}_{CRM} = certified value ของ CRM

U_{CRM} = expanded uncertainty ของ CRM



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

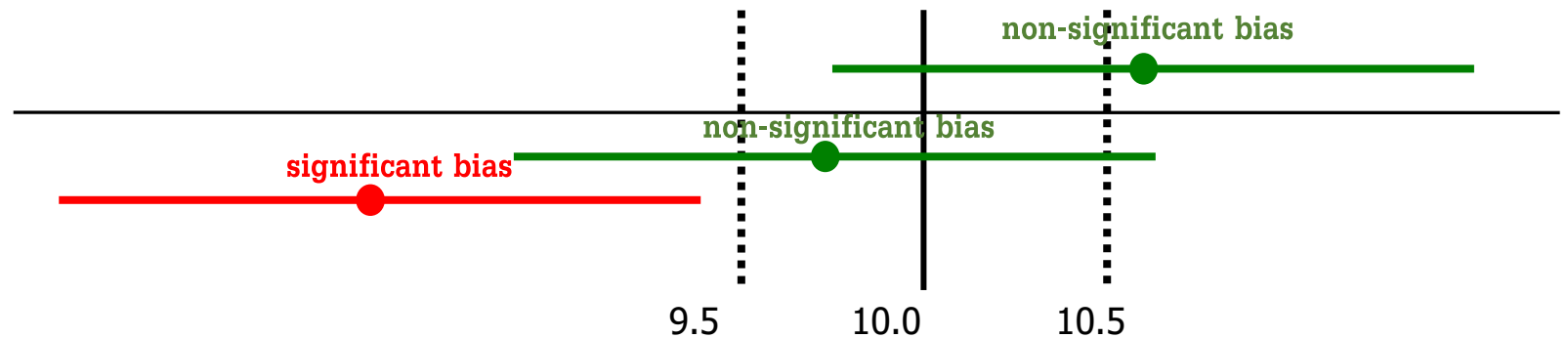
บริษัท แอ็กโซ เคมิคอลส์ แอนด์ เซอร์วิสেস จำกัด

เปรียบเทียบรูปแบบการประเมินผลทั้ง 2 แนวทาง

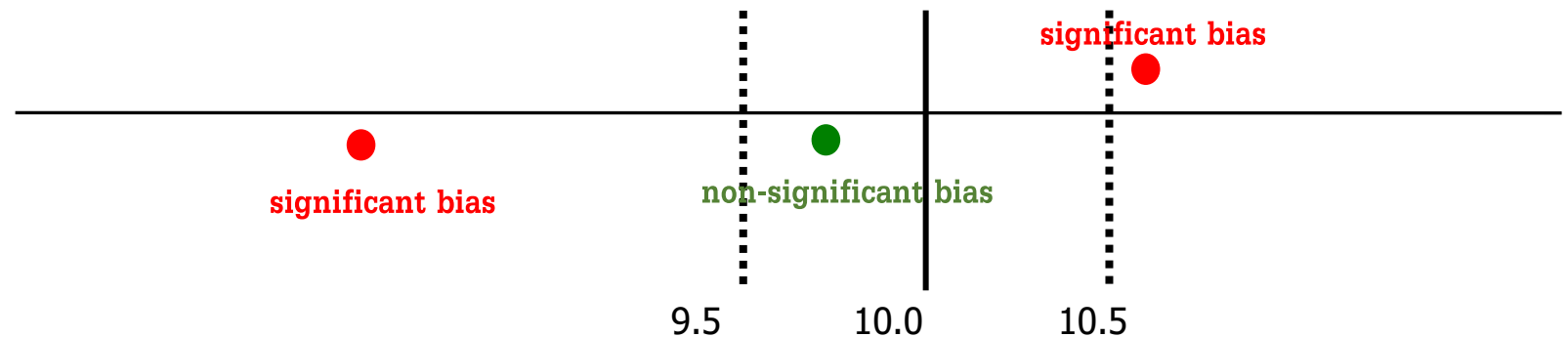
ใบรับรองระบุค่าของสารที่ทดสอบ ซึ่งระบุค่าความไม่แน่นอน

$$10.0 \pm 0.5 = 9.5 - 10.5$$

การเปรียบเทียบ แนวทางที่ 1



การเปรียบเทียบ แนวทางที่ 2



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

การประเมิน trueness /Bias ด้วย fortified Material

ทำการทดสอบ fortified material แล้วทำการเปรียบเทียบค่าที่ได้ กับปริมาณที่เติม

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\text{ปริมาณที่วัดได้} - \text{ปริมาณที่มีอยู่เดิม}}{\text{ปริมาณที่เติม}} \times 100$$

หมายเหตุ : ควรทดสอบ fortified material อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น ให้ครอบคลุมช่วงการใช้งาน



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

ตัวอย่าง เกณฑ์การยอมรับ % Recovery ของ Codex Guideline

concentration	% recovery
$\leq 1 \mu\text{g}/\text{kg}$	50-120 %
$> 1 \mu\text{g}/\text{kg} \leq 0.01 \text{ mg}/\text{kg}$	60-120 %
$> 0.01 \text{ mg}/\text{kg} \leq 0.1 \text{ mg}/\text{kg}$	70-120 %
$> 0.1 \text{ mg}/\text{kg} \leq 1 \text{ mg}/\text{kg}$	70-110 %
$> 1 \text{ mg}/\text{kg}$	70-110 %

ที่มา : Codex Guideline : CAC/GL 40-1993, Rev.2003 Amendment 2010



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด

ตัวอย่าง เกณฑ์การยอมรับ % Recovery ของ AOAC

ที่มา : AOAC Official Method of Analysis
Appendix F : Guideline for standard method
performance requirement

concentration	% recovery
10 g/100 g	98-102
1 g/100 g	97-103
0.1 g/100 g	95-105
100 mg/kg	90-107
10 mg/kg	80-110
1 mg/kg	80-110
100 µg/kg	80-110
10 µg/kg	60-115
1 µg/kg	40-120



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมิคัลส์ แอนด์ เซอร์วิส เซส จำกัด

RM/CRMs ถูกนำมาใช้ในหลายๆ วัตถุประสงค์

- Calibration of Equipment or measurement procedure
- Establishing metrological traceability
- Method Validation
- Quality Control of a measurement
- Assigning values to other materials
- Maintaining conventional scales (pH - scale, Octane number)



Axxo Chemicals and Services Co.,Ltd.

บริษัท แอ็กโซ เคมีคอลลส์ แอนด์ เซอร์วิสเชส จำกัด



Question & Answer