การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม pyrethroids ในมะม่วง เพื่อขอการรับรองห้องปฏิบัติการของ สวพ. 2

สุธินี สาสีลัง พรศิริ สายะพันธ์ เบญจมาศ ใจแก้ว

กลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2

บทคัดย่อ

ห้องปฏิบัติการสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างกลุ่ม pyrethroids จำนวน 6 ชนิดสารได้แก่ lambda cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, และ deltamethrin ในมะม่วง โดยห้องปฏิบัติการได้ทำการศึกษาคุณลักษณะ 6 ปัจจัย ได้แก่ range (ช่วงใช้งาน), linearity (ความเป็นเส้นตรง), accuracy (ความแม่น), precision (ความเที่ยง), limit of detection (LOD), และ limit of qualitation (LOQ) จากผลการทดสอบ range และ linearity ได้ ค่า r อยู่ในช่วง 0.995-0.999 ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ $r \geq 0.995$ และจากการตรวจสอบ accuracy ที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0.02, 0.30, และ 2.0 mg/kg ได้ค่า mean% recovery อยู่ระหว่าง 70-91%, 91-109%, และ 84-97% ตามลำดับ เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับที่กำหนดให้ค่า mean% recovery 70-120 % ที่ความเข้มข้น 0.02 mg/kg และ mean% recovery 70-110 % ที่ความเข้มข้น 0.30, และ 2.0 mg/kg ในส่วนของการตรวจสอบ precision ที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.02, 0.10 และ 1.0 mg/kg ได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วงระหว่าง 0.62-0.99, 1.15-1.70, และ 1.51-1.92 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ มีค่า Horwitz's ratio ≤ 2 นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้น LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด อยู่ในช่วง 0.002-0.009 mg/kg ซึ่งให้ค่า signal to noise เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับ คือ ค่า signal to noise ≥ 2 และ ได้ค่า LOQ ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 mg/kg ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นที่มี accuracy และ precision จากผลการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องและแม่นยำ มีความน่าเชื่อถือ และสามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตร กลุ่ม pyrethroids ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 และใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในการขอขยายขอบข่ายการรรับรองห้องปฏิบัติการได้

.....

รหัสการทดลอง 03-06-54-06-01-02-20-55

คำนำ

ปัจจุบันการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) มีความสำคัญสำหรับห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ทางเคมี และเป็นข้อกำหนด ข้อ 5.4.5 ISO/IEC 17025 ว่า ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีที่ไม่เป็นมาตรฐาน วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนา/ออกแบบขึ้นเอง วิธีตามมาตรฐานที่ถูกใช้นอกขอบข่ายที่กำหนดไว้ และการขยายหรือการดัดแปลงวิธีมาตรฐาน ทั้งนี้เพื่อยืนยันว่าวิธีนั้นเหมาะกับวัตถุประสงค์หรือไม่ ห้องปฏิบัติจึงมีความจำเป็นต้องตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีวิเคราะห์ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าวิธีการวิเคราะห์มีความเหมาะสม และเพื่อยืนยันสมรรถนะของห้องปฏิบัติการว่าสามารถทำได้ตามที่ระบุไว้ในวิธีการวิเคราะห์และประเมินด้วยวิธีทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน

วิธีดำเนินการ

1. <u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1.1 เครื่องมือ

1.1.1 เครื่องแก๊สโครมาโตรกราฟยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 N ประกอบด้วย หัวตรวจวัดชนิด Electron Capture Detector (μECD) เครื่องฉีดตัวอย่างอัตโนมัติ เครื่องประมวลผล Data Processing Unit

1.1.2 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

1.1.4 เครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary Evaporator) , อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 40 ± 5 °C พร้อมระบบควบคุมอุณหภูมิ (cooling system)

1.1.5 ตู้อบ (Oven) 30 -220 °C

1.1.6 ตู้แช่แข็ง (Freezer) -25± 5 °C

1.1.7 ตู้แช่แข็ง (Freezer) -15 ± 5 °C

1.1.8 ตู้เย็น (Deep Freezer) 5± 2 °C

1.1.9 เตาเผา (Furnace) อุณหภูมิสูงสุด 1,200 °C

1.2 อุปกรณ์

1.2.1 เครื่องปั่นย่อยขนาดตัวอย่าง (Robot Coupe รุ่น R201 ultra E)

1.2.2 หัวปั่นละเอียด homogenizer range 8,000-24,000 rpm.

1.2.3 เครื่องแก้ว ได้แก่ stock bottle สีชา พร้อมฝาปิด, lab bottle พร้อมฝาเกลียว, erlenmeyer flask พร้อมฝา, glass cylinder, glass funnel, flat bottom flask , glass syringe, beaker, volumetric flask, volumetric pipette, pasture pipette, auto sampler vial

1.2.4 autopipette

1.2.5 ลูกยาง

1.2.6 สำลี

1.3 สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี

- acetone (analytical grade, AR), dichloromethane (analytical grade, AR), ethyl acetate (pesticide grade, PR), sodium sulfate anhydrous, granular 12–60 Mesh, sodium chloride (Analytical grade), hexane (pesticide grade, PR), dichloromethane (pesticide grade, PR) และ silica gel

สารมาตรฐาน

- สารมาตรฐานกลุ่ม Pyrethroid จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ lambda cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate และ deltamethrin

1.4 ชนิดตัวอย่าง

มะม่วง

2. วิธีการ

2.1 วิธีวิเคราะห์ (ดัดแปลงวิธีทดสอบ ของ Steinwandter H. 1985**.)**

2.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

2.1.1.1 นำตัวอย่างมาผ่าเป็น 4 ส่วน สุ่ม 2 ส่วนตรงข้าม หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในเครื่องปั่นย่อย (Robot Coupe) ปั่นนาน 1-2 นาที จนตัวอย่างละเอียด จากนั้นชั่ง ตัวอย่าง 25 $\pm$ 0.1 กรัม โดยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง แล้วใส่ lab bottle 250 ml ปิดฝา ติดป้ายระบุตัวอย่าง

2.1.1.2 ดำเนินการวิเคราะห์ตัวอย่าง

2.1.2 วิธีสกัดสาร

2.1.2.1 นำตัวอย่างที่ชั่ง 25 $\pm$ 0.1 กรัม เติม acetone (AR Grade) 50 ml โดยใช้ cylinder แล้วปั่นด้วย homogenizer ที่ระดับ ความเร็วประมาณ 9,500 rpm นาน 1 นาที

2.1.2.2 เติม sodium chloride ประมาณ 10 กรัม และ dichloromethane 40 ml โดยใช้ cylinder แล้วปั่นอีกครั้งนาน 1 นาที ปิดฝาทันทีเพื่อป้องกันการระเหยของสารอินทรีย์ ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน

2.1.2.3 รินส่วนใสใส่ Erlenmeyer flask ที่เติม sodium sulfate anhydrous ประมาณ 30 กรัม ปิดฝาทันที เขย่าแล้วทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที และเขย่าเป็นครั้งคราว

2.1.2.4 กรองผ่าน sodium sulfate anhydrous บน glass funnel ให้ได้ 50 ml ใน cylinder แล้วถ่ายลง flat bottom flask ควรทำโดยเร็วเพื่อป้องกันการระเหย

2.1.2.5 ล้าง cylinder ด้วย acetone (AR Grade) ประมาณ 5 ml 2 ครั้ง จากนั้นถ่ายลงใน flat bottom flask ในข้อ 2.1.2.4 แล้วนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิใน water bath 40 ± 5 °C, ความดันประมาณ 240 bar จนเกือบแห้ง

2.1.2.6 ค่อยๆ หยด ethyl acetate (PR Grade) ที่อยู่ใน burette ลงใน flat bottom flask จากข้อ 2.1.2.5 ครั้งละประมาณ 1 ml เขย่าให้เข้ากัน แล้วใช้ pasture pipette ดูดสารละลายใส่ใน volumetric flask ขนาด 5 ml ทำทั้งหมดจำนวน 4 ครั้ง

2.1.2.7 ปรับปริมาตรให้ได้ 5 ml โดยใช้ ethyl acetate (PR Grade) ปิดฝาเขย่าให้เข้ากัน

2.1.2.8 เทสารละลายในข้อ 2.1.2.7 ลงใน flat bottom flask ใบใหม่ และล้าง ใน volumetric flask เดิม ด้วย ethyl acetate (PR Grade) จำนวน 2 ครั้งๆละประมาณ 3 ml เทรวมใน flat bottom flask ใบใหม่ จากนั้นนำไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิใน water bath 40 ± 5 °C, ความดันประมาณ 240 bar จนเกือบแห้ง

2.1.2.9 นำไป clean up

- load : 1. ล้าง flat bottom flask ในข้อ 2.1.2.8 ด้วย 2 ml ของ hexane (PR) : dichloromethane (PR) อัตราส่วน 4:1 แล้วเทใส่ column พร้อมใช้งาน (เป็น column แก้ว อุดปลายด้วยสำลี + sodium sulfate 1 g + silica gel 1 g + sodium sulfate 1 g แล้วเท hexane (PR) ผ่าน column ออกไป จากนั้นปล่อย hexane ให้ถึงระดับสูงกว่าผิวของ sodium sulfate ชั้นบนประมาณ 1 cm) จากนั้นรองรับด้วย flat bottom flask เดิม

2. ล้าง flat bottom flask เดิม ด้วย 5 ml ของ hexane (PR) : dichloromethane (PR) อัตราส่วน 4:1 เทผ่าน column เดิม รองรับด้วย flat bottom flask เดิม ขั้นตอนการ load ต้องเทสารผ่าน column อย่างต่อเนื่อง ห้ามให้ column แห้ง

- elute : ล้าง flat bottom flask เดิม ด้วย 5 ml ของ hexane (PR) : dichloromethane (PR) อัตราส่วน 1:1 รองรับด้วย เดิม ให้ทำซ้ำจำนวน 2 ครั้ง

2.1.2.10 นำ flat bottom flask จากการ clean up ในข้อ 2.1.2.9 ไปลดปริมาตรด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิใน water bath 40 ± 5 °C, ความดันประมาณ 240 bar จนเกือบแห้ง

2.1.2.11 ล้าง flat bottom flask ด้วย 2 ml ของ hexane (PR) จากนั้นแบ่งใส่ auto sampler vial เพื่อหาสารพิษตกค้าง กลุ่ม Pyrethroid

2.1.3 การเตรียมเครื่อง Gas Chromatograph (GC)

เครื่อง GC ยี่ห้อ Agilent รุ่น 6890 N : ID. No. GC-2

1.1 Inject volume 1 µl

1.2 Inlet - Mode: Splitless

- Initial temperature: 220 °C

1.3 Column - Column DB-5MS หรือเทียบเท่า (length 30 m, diameter 0.25 mm,

film thickness 0.25 µm)

1.4 Carrier gas - Helium flow rate 2.5 ml/min

1.5 Detector - Electric capture Detector (µECD)

- Temperature condition: Detector 300 °C

- Make up gas flow rate 60 ml/min (Type :Nitrogen)

1.6 Oven program temperature - Initial temp : 80 °C hold 0.3 min

- Rate 35 °C /min to 170 °C hold 0.3 min

- Rate 10 °C /min to 195 °C hold 0 min

- Rate 0.6 °C /min to 206 °C hold 1.5 min

- Rate 35 °C /min to 245 °C hold 1.0 min

- Rate 3 °C /min to 250 °C hold 19.72 min

2.2 <u>การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง</u>

2.2.1 การตรวจสอบ range และ linearity

2.2.1.1ทดสอบ reagent blank และ fortified sample blank ครอบคลุมช่วงความเข้มข้นภายใน Range ของการทดสอบ อย่างน้อย 6 ความเข้มข้น ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ

2.2.1.2 plot graph ระหว่างความเข้มข้นของ fortified sample blank (แกน x) กับ peak area (แกน y) และพิจารณาความเป็นเส้นตรงโดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) โดยค่า $r \geq 0.995$

2.2.2 การตรวจสอบ accuracy

2.2.2.1 ทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น (ครอบคลุมความเข้มข้นที่ระดับสูง กลาง ต่ำ) อย่างน้อยความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ (มีสภาวะการทดสอบเดียวกัน)

2.2.2.2 บันทึกผลการทดสอบ

2.2.2.3 หาค่าเฉลี่ยของผลทดสอบที่หักค่าใน reagent blank ออกจาก sample blank (x_1) และ fortified sample blank (x_2) แล้ว

2.2.2.4 ประเมิน accuracy จากค่า recovery โดยใช้สมการ

Mean % recovery = $[(x_2 - x_1) \times 100] / C$

โดยที่ C = ปริมาณสารมาตรฐานที่เติมลงในตัวอย่าง

2.2.2.5 เมื่อได้ค่า mean % recovery ให้นำไปเปรียบเทียบเกณฑ์การยอมรับของ codex ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การยอมรับทั่วไปของสารตกค้างจากยาฆ่าแมลงและยาสัตว์ในอาหาร ของ Codex

Concentration	Range of mean % recovery
< 1 µg/kg	50-120
> 1 µg/kg ≤ 0.01 mg/kg	60-120
> 0.01 mg/kg ≤ 0.1 mg/kg	70 -120
> 0.1 mg/kg ≤ 1 mg/kg	70 – 110
> 1 mg/kg	70 – 110

2.2.3 การตรวจสอบ precision

2.2.3.1 ทดสอบ reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range อย่างน้อย 3 ระดับความเข้มข้น (ครอบคลุมความเข้มข้นที่ระดับสูง กลาง ต่ำ) อย่างน้อยความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ

2.2.3.2 บันทึกผลการทดสอบ

2.2.3.3 คำนวณค่าเฉลี่ย และ SD ของผลการทดสอบ และค่า % RSD ที่ได้จากการทดลองจากสมการ

% RSD = [SD x 100] / ค่าเฉลี่ย

2.2.3.4 ประเมิน precision โดยใช้ Horwitz Equation และ HORRAT (Horwitz's ratio)

2.2.3.5 หา Predicted Horwitz RSD จากสมการ

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

2.2.4 การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of qualitation (LOQ)

การหาค่า LOD และ LOQ

2.2.4.1 ทำการทดสอบอย่างน้อยความเข้มข้นละ 6 ซ้ำ

2.2.4.2 บันทึกผลการทดสอบ

2.2.4.3 หาค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ของความเข้มข้นที่อ่านค่าได้

2.2.4.4 หาค่า LOD = 2 to 3 SD และทำการยืนยัน LOD โดยมี signal to noise ≥ 2

2.2.4.5 หาค่า LOQ = 10 to 20 SD และทำการยืนยัน LOQ โดยการทดสอบ accuracy และ precision

สถานที่และระยะเวลาดำเนินการ

1. สถานที่ดำเนินการ : ห้องปฏิบัติการกลุ่มพัฒนาการตรวจสอบพืชและปัจจัยการผลิต อาคารรับรองมาตรฐานและระบบตรวจสอบคุณภาพสินค้าเกษตร สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2
2. ระยะเวลาดำเนินการ : ตุลาคม 2554 – กันยายน 2555

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. <u>การตรวจสอบ range และ linearity</u>

เมื่อฉีด reagent blank และ fortified sample blank จำนวน 6 ระดับความเข้มข้น คือ 0.01, 0.05, 0.1, 0.3, 1.0 และ 2.0 µg/ml โดยทำการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นละ 10 ซ้ำ พบว่า r อยู่ในช่วง 0.995-0.999 ซึ่ง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ $r \geq 0.995$ รายละเอียดดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ช่วงความเข้มข้น (Range) และความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรง (Linearity) ของสารพิษตกค้างกลุ่ม pyrethroids แต่ละชนิด

Pesticides	Concentration level	Range (µg/ml)	r
lambda-cyhalothrin	6	0.01-2.0	0.999
permethrin	6	0.01-2.0	0.997
cyfluthrin	6	0.01-2.0	0.997
cypermethrin	6	0.01-2.0	0.996
fenvalerate	6	0.01-2.0	0.995
deltamethrin	6	0.01-2.0	0.995

2. <u>การตรวจสอบ accuracy</u>

เมื่อฉีด reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน Range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.02, 0.30 และ 2.0 mg/kg และจากผลการทดลอง ได้ค่า mean% recovery อยู่ระหว่าง 70-91, 91-109 และ 84-97 ตามลำดับ ซึ่งผ่านเกณฑ์การยอมรับ นั่นคือมีค่า mean % recovery อยู่ในช่วง 70-120 สำหรับความเข้มข้น 0.02 mg/kg และอยู่ในช่วง 70-110 สำหรับความเข้มข้น 0.3 และ 2.0 mg/kg รายละเอียดแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 Mean % recovery ของ lambda-cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate และ deltamethrin

Pesticides	mean % recovery		
	0.02 mg/kg (n=9)	0.30 mg/kg (n=6)	2.0 mg/kg (n=6)
lambda-cyhalothrin	73	102	97
permethrin	77	109	75
cyfluthrin	70	96	84
cypermethrin	89	101	92
fenvalerate	74	89	91
deltamethrin	91	91	88

3. <u>การตรวจสอบ precision</u>

เมื่อฉีด reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้นภายใน range จำนวน 3 ระดับความเข้มข้น คือ 0.02, 0.10 และ 1.0 mg/kg และจากการคำนวณได้ค่า HORRAT อยู่ในช่วงระหว่าง 0.62-0.99 , 1.15-1.70 และ 1.51-1.92 ตามลำดับ ซึ่ง ผ่านเกณฑ์การยอมรับ คือ มีค่า Horwitz's ratio $\leq$ 2 รายละเอียดดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 Precision ของ lambda-cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, และ deltamethrin

Pesticides	Concentration (n=9)					
	0.02 mg/kg		0.10 mg/kg		1.0 mg/kg	
	$\%RSD_r$	HORRAT	$\%RSD_r$	HORRAT	$\%RSD_r$	HORRAT
lambda-cyhalothrin	18.9	0.99	19.7	1.32	16.1	1.52
permethrin	17.8	0.93	18.2	1.22	18.4	1.74
cyfluthrin	11.7	0.62	19.8	1.33	16.5	1.56
cypermethrin	13.4	0.70	17.2	1.15	15.9	1.51
fenvalerate	11.9	0.62	25.3	1.70	17.5	1.65
deltamethrin	14.3	0.75	24.4	1.63	21.1	1.92

5 <u>การหาค่า limit of detection (LOD) และ limit of qualitation (LOQ)</u>

เมื่อฉีด reagent blank, sample blank และ fortified sample blank ที่ระดับความเข้มข้น LOD ของสารพิษตกค้างแต่ละชนิด ซึ่งให้ค่า signal to noise $\geq$ 2 จะได้ค่า LOD อยู่ในช่วง 0.002-0.009 mg/kg ดังแสดงในตารางที่ 5 และยืนยันค่า LOQ ที่ระดับความเข้มข้น 0.02 mg/kg ให้ผลการทดสอบ Accuracy และ Precision แสดงในข้อ 3 และ 4

ตารางที่ 5 ค่า LOD และ LOQ ของสารพิษตกค้างกลุ่ม pyrethroids แต่ละชนิด

Pesticides	Concentration (mg/kg)	
	LOD	LOQ
lambda-cyhalothrin	0.003	0.02
permethrin	0.009	0.02
cyfluthrin	0.002	0.02
cypermethrin	0.007	0.02
fenvalerate	0.005	0.02
deltamethrin	0.005	0.02

สรุปผลการทดลอง

จากการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีการวิเคราะห์สารพิษตกค้างของ lambda cyhalothrin, permethrin, cyfluthrin, cypermethrin, fenvalerate, และ deltamethrin ในมะม่วง การประเมินผลการตรวจสอบจากการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ได้แก่ Range/Linearity, Accuracy, Precision, LOD, และ LOQ ให้ผลการทดลอบที่เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ แสดงให้เห็นว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้องและแม่นยำ มีความน่าเชื่อถือ และสามารถใช้เป็นวิธีวิเคราะห์สารพิษตกค้างทางการเกษตร กลุ่ม pyrethroids ของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารพิษตกค้าง สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 2 และใช้เป็นวิธีวิเคราะห์ในการขอขยายขอบข่ายการรรับรองห้องปฏิบัติการได้

เอกสารอ้างอิง

1. กนกพร อธิสุข และ ทิพวรรณ นิ่งน้อย .2547. Method Validation. เอกสารประกอบการฝึกอบรม กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
2. ดุษฎี มั่นความดี และ อุมาพร สุขม่วง.2544. การพิสูจน์ความใช้ได้ของวิธีทดสอบทางเคมี (Chemical Method Validation). เอกสารประกอบการฝึกอบรม. กรมวิทยาศาสตร์บริการ
3. AOAC Peer-Verified Methods. Nov. 1993.

4. Codex Alimentarius. CAC/GL 33-1999. “Recommended Method of Sampling for The Determination of Pesticide Residues for Compliance with MRLs”. P.9
5. Steinwandter H. 1985. Universal 5 min on-line Method for Extracting and Isolating Pesticide Residues and Industrial Chemicals. Fresenius Z Anal. Chem.322:752-754