

วิธีการเลือกในการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้

วีรวุฒิ วิทยานันท์

สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ห้องปฏิบัติการต้องมีความสามารถในการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดสำหรับการรายงานผลการวิเคราะห์ การรายงานค่าความไม่แน่นอนเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชเพื่อใช้ประเมินความสอดคล้องกับมาตรฐาน การศึกษานี้ทำการเปรียบเทียบการประมาณค่าความไม่แน่นอนสามวิธี ได้แก่ วิธี Bottom-up ตามแนวทางของ ISO GUM ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้โดยทั่วไป และวิธีการเลือกสองวิธีตามแนวทาง Top-down คือ วิธีที่ใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน และข้อมูลจากผลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ (PT) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกวิธีที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการรายงานประกอบผลการวิเคราะห์ วิธีแรกคำนวณผลตามแนวทางของ ISO GUM สำหรับวิธีใหม่ตามแนวทาง Top-down โดยใช้ข้อมูล QC ผลความแม่นยำและความเที่ยงจาก Spiked sample จำนวน 28 ตัวอย่าง จากการเก็บข้อมูลในงานประจำเป็นเวลา 2 ปี และวิธีที่ใช้ข้อมูลผลการประเมินการทดสอบความชำนาญ จำนวน 33 ข้อมูล ได้จากการเข้าร่วม PT 3 รอบ ผลพบค่าความไม่แน่นอนสัมพัทธ์ขยายที่ได้จากการคำนวณ 3 วิธี ได้แก่ วิธี ISO GUM วิธีที่ใช้ข้อมูล QC และวิธีที่ใช้ข้อมูล PT มีค่าเป็นร้อยละ 8.0, 31.7 และ 32.4 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐานตามที่หน่วยงานระหว่างประเทศกำหนดที่ร้อยละ 50 พบว่าการคำนวณทั้งสามวิธีให้ค่าน้อยกว่าและสอดคล้องกับค่ากำหนด อย่างไรก็ตามวิธี ISO GUM ให้ค่าที่น้อยที่สุด และแตกต่างจากวิธีตามแนวทาง Top-down ทั้งสองวิธี ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช คือ วิธีตามแนวทาง Top-down ที่เป็นวิธีการเลือกใหม่ทั้งสองวิธี

คำสำคัญ: สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช, ผักและผลไม้, ความไม่แน่นอนของการวัด, แนวทางบนลงล่าง, แนวทางล่างขึ้นบน

Corresponding author E-mail: weerawut.w@dmasc.mail.go.th

Received: 20 January 2025

Revised: 30 April 2025

Accepted: 1 May 2025

บทนำ

ความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty) เป็นพารามิเตอร์ที่เกี่ยวข้องกับผลการวัดซึ่งบ่งบอกลักษณะการกระจายของค่าปริมาณของสิ่งที่ถูกวัด โดยเป็นการแสดงถึงช่วงของค่าปริมาณซึ่งมีค่าจริงอยู่ ณ ระดับความเชื่อมั่นที่ระบุไว้⁽¹⁾ และการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดเป็นหนึ่งในข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017⁽²⁾ ซึ่งกำหนดให้ห้องปฏิบัติการต้องมีความสามารถในการรายงานค่าความไม่แน่นอนประกอบผลการทดสอบในกรณีต่างๆ เช่น เมื่อเป็นความต้องการของลูกค้า หรือในกรณีที่ความไม่แน่นอนมีผลต่อการพิจารณาความสอดคล้องกับเกณฑ์กำหนดหรือเกณฑ์มาตรฐาน เป็นต้น และในใบรายงานผลการสอบเทียบต้องมีค่าความไม่แน่นอนที่อยู่ในหน่วยเดียวกันกับสิ่งที่วัดระบุในรายงานด้วยเสมอ ปัจจุบันมีแนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนและการประมาณค่าตัวแปรในวิธีทดสอบหลายวิธี ซึ่งข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2017 ไม่ได้ระบุว่าต้องใช้แนวทางใด แต่ห้องปฏิบัติการต้องเลือกใช้แนวทางทางสถิติที่ถูกต้อง (valid approaches) แนวทางที่มีการประมาณค่าความไม่แน่นอนอย่างสมเหตุสมผลและถูกต้องตามหลักวิชาการ⁽³⁾ ตัวอย่างแนวทางต่างๆ เช่น แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนตาม ISO GUM⁽⁴⁾ หรือ Bottom-up Approach หรือ Uncertainty Budget หรือ Deconstructive Approach และแนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนจากข้อมูลที่ได้จากวิธีทดสอบ (Analytical Method Approach) หรือ Top-down Approach เช่น แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนจากข้อมูลในกระบวนการตรวจสอบความใช้ได้ในวิธีวิเคราะห์ (Method Validation Data Approach)^(5,6) แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนจากวิธีการทดสอบที่เป็นที่รู้จักกันดี (well recognized test method)⁽⁷⁾ เป็นต้น

การวิเคราะห์ทางเคมีมีลักษณะเฉพาะอย่างหนึ่งคือ เมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันซ้ำหลายครั้ง โดยเฉพาะการวิเคราะห์ที่ระดับต่ำมาก (0.001–10 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ค่าที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละครั้งอาจไม่เท่ากัน แม้การวิเคราะห์นั้นจะเป็นแบบ Within-

หรือ Between-laboratories ก็ตาม และในบางประเภทของการทดสอบที่มีความจำเพาะแตกต่างจากการทดสอบทางเคมีอื่น ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ซ้ำอาจแตกต่างกันสูงถึงมากกว่าร้อยละ 50⁽⁸⁾ นอกจากจะเป็นการวิเคราะห์ที่ระดับต่ำมากแล้วยังมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อค่าความไม่แน่นอนหลายปัจจัย ซึ่งการประมาณค่าความไม่แน่นอนตามแนวทางมาตรวิทยาทางฟิสิกส์ อาจไม่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการณินี้ได้ ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อค่าความไม่แน่นอนเหล่านี้ ได้แก่ ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง⁽⁹⁾ การใช้เครื่องมือวิเคราะห์และวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน⁽¹⁰⁾ ความคงตัวของสารที่วิเคราะห์ (analyte) แต่ละชนิดระหว่างการเตรียมตัวอย่าง การใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ความบริสุทธิ์ของสารเคมีที่ใช้ความสะอาดของอุปกรณ์และเครื่องแก้ว ความเป็นกรด-เบสของ analyte ที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการวิเคราะห์ ปัจจัยเกี่ยวกับค่าการคืนกลับ (Recovery) ต่ำเมื่อผ่านขั้นตอนต่างๆ เช่น ขั้นตอนทำให้บริสุทธิ์ การระเหยตัวทำละลาย ขั้นตอนการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือที่บริเวณ injection port หรือบริเวณ analytical column ผลกระทบจาก Matrix Effect ที่เกิดจากการสกัดผักและผลไม้ ยังส่งผลกระทบต่อปริมาณที่วิเคราะห์ และยังมีปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่ง คือ ศักยภาพและทักษะของนักวิเคราะห์ที่จะทำได้ผลการวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน วิธีการทางมาตรวิทยาทางฟิสิกส์อาจไม่สามารถรวบรวมปัจจัยทั้งหมดนี้เพื่อนำมาประมาณค่าความไม่แน่นอนได้ครบถ้วน จึงมีความจำเป็นที่ต้องพิจารณาลดทอนปัจจัยที่ได้จากการทดลองให้เหลือเพียง 2 ปัจจัยหลัก ได้แก่ ความแม่นยำ (Bias) และความเที่ยง (Precision) ทั้งนี้แม้ห้องปฏิบัติการจะสามารถลดอิทธิพลของบางปัจจัยได้ เช่น การใช้วิธีมาตรฐานในการวิเคราะห์ การใช้สารมาตรฐานชนิดวัสดุอ้างอิงรับรอง อย่างไรก็ตามเมื่อมีการวิเคราะห์แบบ Multi-residue Method ซึ่งเป็นการวิเคราะห์สารหลายชนิด ทำให้ค่าความไม่แน่นอนยังคงมีการกระจายตัวสูง⁽³⁾ ในทางปฏิบัติแล้วการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของสารเคมีแต่ละชนิด เพื่อประกอบรายงานแต่ละครั้งจะใช้เวลาในการรวบรวมข้อมูลพื้นฐานมาก เพราะมีสารหลายชนิดที่ต้องคำนึงถึง และแต่ละสารมีความจำเพาะและคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกัน

รวมทั้งช่วงเวลาที่วิเคราะห์ที่แตกต่างกันก็ส่งผลถึงปริมาณที่วิเคราะห์ได้เช่นเดียวกัน

ในขณะที่ประเทศไทยไม่มีข้อกำหนดทางกฎหมายในการรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในอาหาร แต่ในระดับสากลห้องปฏิบัติการอ้างอิงของสหภาพยุโรป (The European Union Reference Laboratory for Pesticide Residues, EURL) แนะนำให้ใช้การรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชโดยใช้ Default Value ที่ร้อยละ 50 ของค่าที่วิเคราะห์ได้⁽¹¹⁾ โดยมีเงื่อนไขว่า Recovery จะต้องไม่ต่ำกว่าร้อยละ 20 สำหรับกรณีที่ Recovery มีค่าเกินกว่าค่าดังกล่าวให้คำนวณโดย Recovery Correct ($100\% / \% \text{Recovery}$) โดยค่า Recovery ที่นำมาคำนวณนี้สามารถเลือกใช้จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีเริ่มต้นก่อนนำวิธีไปใช้งาน (initial validation) ข้อมูลจากการทำ on-going validation หรืออาจมาจาก Recovery เมื่อเติมสารมาตรฐานลงในตัวอย่าง (spiked/fortified sample) ในชุดนั้น ๆ ก็ได้ การใช้ค่า Default Value นี้คำนวณจาก 2 เท่าของค่า Relative Standard Deviation (RSD) ที่ได้จาก Horwitz's equation ที่ให้ค่าระหว่าง 20-30% ภายใต้ช่วงการวิเคราะห์ปกติ⁽¹²⁾ และค่า RSD ได้จากการรวบรวมผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเครือข่ายของสหภาพยุโรป⁽¹³⁾ สาเหตุที่สามารถเลือกใช้ค่านี้ได้เพราะมีข้อมูลเชิงวิชาการสนับสนุนและเป็นข้อตกลงร่วมกันระหว่างหน่วยงานควบคุมทางกฎหมายใช้สำหรับการตัดสินใจสอดคล้องกับข้อกำหนดทางกฎหมายซึ่งส่วนใหญ่ตัดสินจากค่า Maximum Residue Limit (MRL) หรือค่า Default Limit ที่ 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในกรณีไม่มีค่า MRL ระบุไว้ แต่กรณีที่ตรวจพบปริมาณที่สูงกว่านี้ ค่าความไม่แน่นอนที่จะรายงานอาจมีค่ามากเกินไปและไม่เหมาะสมที่จะนำไปใช้งาน อาจต้องใช้วิธีการประมาณค่าวิธีอื่นที่สมเหตุสมผลกว่าและจะต้องพิจารณาเป็นกรณี ๆ ไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อประเมินวิธีประมาณค่าความไม่แน่นอนที่เหมาะสมที่สุด สำหรับการรายงานผลการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ในผักและผลไม้ โดยเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในงานประจำได้ การคำนวณและการประมาณค่าความไม่แน่นอนต้องง่าย สะดวกรวดเร็ว ใช้เวลาน้อยแต่ยังคงไว้ซึ่งความถูกต้องเชิงวิชาการ เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับในระดับสากลและให้ค่าที่สมเหตุสมผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ โดยทำการเปรียบเทียบการประมาณค่าความไม่แน่นอน 3 วิธี ได้แก่ การคำนวณผลตามแนวทางของ ISO GUM ซึ่งเป็นแนวทาง Bottom-up Approach และวิธีตามแนวทาง Top-down Approach 2 วิธี ได้แก่ การใช้ข้อมูล Quality Control โดยใช้ความแม่นยำและความเที่ยงจาก Spiked Sample ในงานประจำจากการเก็บข้อมูลช่วงเวลาหนึ่ง และวิธีสุดท้าย คือ การใช้ข้อมูลผลการประเมินจากการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing, PT) ที่ได้จากการเข้าร่วมจำนวน 3 รอบ

วัสดุและวิธีการ

สารเคมีและสารมาตรฐาน

สารเคมี: acetonitrile, HPLC grade (Merck, USA), acetone, AR grade (RCl Labscan, USA) n-hexane, Pesticide grade (Burdick & Jackson, USA), ethyl acetate, HPLC grade (Burdick & Jackson, Korea), QuEChERS Extraction Packet, EN Method Part No: 5982-7650 (ประกอบด้วย MgSO_4 4 กรัม, NaCl 1 กรัม, sodium citrate dehydrate 1 กรัม และ disodium hydrogen citrate sesquihydrate 0.5 กรัม) และ Dispersive SPE EN method (ประกอบด้วย MgSO_4 900 มิลลิกรัม, PSA 50 มิลลิกรัม, และ graphite carbon black (GCB) 50 มิลลิกรัม) (Agilent Technologies, USA), DI water (Type I, resistivity > 18 mΩ.cm, D-sorbitol AR, purity ≥ 98%

สารมาตรฐาน: วัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material: CRM) (CPAChem, France) ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (with traceability) ทั้งสิ้น 132 ชนิด ประกอบด้วย

สารมาตรฐานที่วิเคราะห์โดยเครื่อง GC-MS/MS 106 ชนิด ได้แก่ 4,4'-DDD (p,p'-TDE), 4,4'-DDE

(p,p'-DDE), 4,4'-DDT (p,p'-DDT), acephate, alachlor, aldrin, ametryn, azinphos-ethyl, azinphos-methyl, BHC-alpha (alpha-HCH), BHC-beta (beta-HCH), BHC-delta (delta-HCH), BHC-gamma (gamma-HCH), bifenazate, bifenthrin, bromophos-ethyl, bromopropylate, buprofezin, butachlor, cadusafos, chlordane-alpha, chlordane-oxy, chlordane-gamma, chlorfenapyr, chlorfenvinphos, chlorobenzilate, chloroneb, chlorothalonil, chlorpropham, chlorpyrifos, chlorpyrifosmethyl, cyanophos, cyfluthrin, cypermethrin, DCPA (Dacthal), DEET, deltamethrin, demeton-s-methyl, diazinon, dichlorvos, dicofol, dicrotophos, dieldrin, dimethoate, dioxathion, disulfoton, ditalimfos, endosulfan sulfate, endosulfan-alpha, endosulfan-beta, endrin, EPN, ethion, ethoprofos, etrimfos, fenchlorphos, fenitrothion, fenpropathrin, fenthion, fenvalerate, fipronil, folpet, fosthiazate, heptachlor, heptachlor epoxide-cis, heptachlor epoxide-trans, heptenophos, hexachlorobenzene, isofenphos, isoxathion, lambda-cyhalothrin, malathion, methacrifos, methamidophos, methidathion, methoxychlor, metribuzin, mevinphos, naled, parathion, parathion-methyl, permethrin, phorate, phosalone, phosmet, phosphamidon, picoxystrobin, pirimiphos-ethyl, pirimiphos-methyl, profenofos, propachlor, propargite, propetamphos, prothiofos, quinalphos, quintozone, tecnazene, terbacil, terbufos, tetrachlorvinphos, tetradifon, thiometon, tolylfluanid, triadimefon, triazophos และ trifluralin

สารมาตรฐานที่วิเคราะห์โดยเครื่อง LC-MS/MS 26 ชนิด ได้แก่ aldicarb, atrazine, bendiocarb, bromacil, carbary, carbendazim, carbofuran-3-hydroxy, carbofuran, carboxin, fenobucarb, hexazinone, isoprocarb, metalaxyl, methiocarb, methomyl, metolachlor, monocrotophos,

omethoate, oxamyl, phenthoate, pyrimethanil, simazine, tebufenpyrad, thiabendazole, thiophanate-methyl และ tolclofos-methyl

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน: ผสมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน acetone เพื่อให้ได้ intermediate standard solution ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใน volumetric flask ขนาด 10 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18°C ก่อนการใช้งาน เจือจาง intermediate standard solution ด้วย acetone หรือสารสกัดจากตัวอย่าง เพื่อทำ working standard solution ช่วงความเข้มข้น 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.25 และ 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารละลาย D-sorbitol 3% ปริมาณ 3 ไมโครลิตร ในสารละลาย 1 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ทันทีหรือสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18°C ไม่เกิน 1 สัปดาห์

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องซึ่งไฟฟ้าความละเอียด 0.001 กรัม (LC 620S, Sartorius, Germany) และ 0.01 มิลลิกรัม (MC 210S, Sartorius, Germany) เครื่องระเหยสารละลายแบบ Heating Box และใช้แก๊สไนโตรเจนในการระเหยสารสกัด (REACTI-THERM III #TS-18824, Thermo scientific, USA) เครื่องบดปั่นอาหาร (RONIC, Poland) เครื่องหมุนปั่นผสมสารละลาย (Vortex-2 Genie, Scientific Industries, USA) micropipette ขนาด 2-20 ไมโครลิตร ขนาด 20-200 ไมโครลิตร และขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร (Eppendorf, Germany) amber vial ขนาด 4 มิลลิลิตร centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร และ 15 มิลลิลิตร ตู้แช่แข็งอุณหภูมิต่ำกว่า -18°C certified volumetric flask เครื่องแก้วทุกชนิดล้างด้วย acetone 2 ครั้ง และ n-hexane 2 ครั้ง แล้วผึ่งให้แห้งก่อนนำมาใช้งาน เครื่อง GC-MS/MS: (7890B, TQ7000C Triple Quadrupole MS/MS, Agilent Technology, USA) เครื่อง LC-MS/MS (1260 Series, AB Sciex API 5500 QTRAP Sciex, Agilent Technology, USA)

ตัวอย่างผักและผลไม้

ตัวอย่างผักและผลไม้ใช้ส่วนที่นำมาวิเคราะห์ตาม SANTE/11312/2021⁽¹¹⁾ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) High water content และ 2) High acid and high-water content และใช้ตัวอย่างจากงานประจำที่มีชนิดตัวอย่างที่หลากหลายครอบคลุมทุกกลุ่มย่อยรายละเอียดดังนี้

High water content; กลุ่มผลไม้จากฐานรองดอก (pome fruit) ใช้ apple, กลุ่มผลเดี่ยว (stone fruit) ใช้ cherry, กลุ่มผลไม้อื่นๆ ใช้ mango, กลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยว (allium) ใช้ garlic, กลุ่มผักประเภทผลและพืชวงศ์แตง (fruiting vegetables/cucurbit) ใช้ tomato, กลุ่มพืชวงศ์กะหล่ำปลี (brassica) ใช้ cabbage, กลุ่มผักใบและสมุนไพรใบสด (leafy vegetable and fresh herb) ใช้ lettuce, กลุ่มผักลำต้น (stem and stalk vegetable) ใช้ celery, กลุ่มพืชตระกูลถั่วกินสด (fresh legume) ใช้ bean, กลุ่มเห็ดสด (fresh fungi) ใช้เห็ด champignon และกลุ่มผักหัว (root and tuber) ใช้ carrot เป็นตัวแทน

High acid and high-water content; กลุ่ม citrus ใช้ lemon กลุ่มผลไม้ผลเล็กและเบอร์รี่ (small fruit and berry) ใช้ strawberry และ grape เป็นตัวแทน

การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช

ใช้วิธี Modified QuEChERS In-house Method Based on BS EN 15662:2018⁽¹⁴⁾ เป็นการวิเคราะห์แบบ Multi-residue Method โดยซังตัวอย่างผักและผลไม้ที่บดละเอียด 10.0 กรัม ลงใน centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม acetonitrile 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยมือ 1 นาที เติมสารผสม extraction Packet, EN Method (EN 15662) แล้วเขย่าให้เข้ากันด้วยมืออีก 1 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 RPM เป็นเวลา 5 นาที ตัวอย่างจะเกิดการแยกชั้น แบ่งสารสกัดส่วนใสด้านบนที่ได้เป็น 2 ส่วน สำหรับตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างด้วยเทคนิค GC-MS/MS และ LC-MS/MS

การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยเครื่อง GC-MS/MS

สารสกัดส่วนที่ 1 ปิเปตสารละลาย 3 มิลลิลิตร มาทำให้บริสุทธิ์ด้วย Dispersive SPE ที่เหมาะสม จากนั้นหมุนเหวี่ยงอีกครั้งที่ความเร็วรอบ 4,000 RPM เป็นเวลา 5 นาที ปิเปตสารละลายด้านบน 2 มิลลิลิตร ระเหยแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 มิลลิลิตร ด้วยสารละลายผสมระหว่าง n-hexane: ethyl acetate 3:1 เติมสารละลาย 3% D-sorbitol ปริมาตร 3 ไมโครลิตร นำไปตรวจวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณด้วยเครื่องมือ GC-MS/MS ด้วยเทคนิค Matrix-Matched Calibration Curve โดยใช้ column: DB-5MS 30 m, 0.25 mm id, 0.25 μ m film thickness (Agilent Technology, USA) มีสภาวะเครื่องดังนี้ ส่วน injector เป็น ALS, pulsed splitless mode, initial temperature 80°C hold 0.1 min, 300°C to 300°C cryogenic temperature 50°C มี injection volume เป็น 4 ไมโครลิตร oven temperature program เป็น initial 70°C hold 1 min, rate 50°C/min to 150°C, rate 6°C/min to 200°C, rate 16°C/min to 280°C hold 8.5 min, rate 50°C/min to final 300°C hold 0.5 min และ post-run at 70 °C ใช้เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 30 นาที ใช้ ion source temperature 280°C, quadrupole temperature MS1 และ MS2 เป็น 180°C, mode constant pressure ที่ 15.8 psi และใช้โปรแกรมควบคุมเครื่องมือให้สาร chlorpyrifos มี RT คงที่ 12.0 $\pm$ 0.1 นาที สารสนใจเมื่อเข้าสู่เครื่อง GC-MS/MS จะถูกทำให้แตกตัวเป็นประจุโดยใช้แก๊ส He เป็น quench gas และ N₂ เป็น collision gas ที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และถูกตรวจวัดด้วย multiple reaction monitoring, MRM mode โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ มี LOD = 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชด้วยเครื่อง LC-MS/MS

สารสกัดส่วนที่ 2 ปิเปตสารละลายส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่ใน Dispersive SPE เขย่า 1 นาที จากนั้น

หมุนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 4,000 RPM เป็นเวลา 5 นาที แล้วเปิดสารละลายส่วนใสลงใน micro-spin filters 0.2 µm ชนิด nylon จากนั้นหมุนเหวี่ยงอีกครั้ง เก็บสารละลายส่วนใส นำไปวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารเคมี ป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างด้วยเทคนิค LC-MS/MS วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Procedural Calibration Curve เครื่อง LC-MS/MS ใช้ column: Synergi TM 2.5 µm Fusion-PR 100 °A, 50 × 2.0 mm (Phenomenex, USA), mobile phase: 1M NH₄HCO₂:MeOH:H₂O, A สัดส่วน 5:95:900 และ B สัดส่วน 5:900:5 มีสภาวะเครื่องดังนี้ flow rate:

0.4 ml/min, injection volume: 2 µl, column temperature: 40°C การแยกสารเป็นแบบ gradient ดังแสดงในตารางที่ 1 และมีสภาวะของเครื่อง mass spectrometer เป็น ionization mode: ESI (turbo spray), polarity: negative & positive, ion spray voltage 5,000 และ -4,200 eV, scan type MRM, temperature TEM 400°C, collision gas, CAD: nitrogen; medium, curtain gas (CUR): 30 psi, ion source gas (GS1): 60 psi, ion source gas (GS2): 60 psi โดยการวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ มี LOD = 0.005 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และ LOQ = 0.01 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

ตารางที่ 1 Gradient profile: Agilent 1260 Series

Time (min)	flow rate (ml/min)	Mobile phase A	Mobile phase B
0.0	0.4	100	0
1.0	0.4	100	0
12.0	0.4	0	100
16.0	0.4	0	100
16.1	0.4	100	0
25.0	0.4	100	0

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

วิธีการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด สำหรับการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผัก และผลไม้ใช้ 2 แนวทางหลัก แบ่งออกเป็น 3 วิธีย่อย

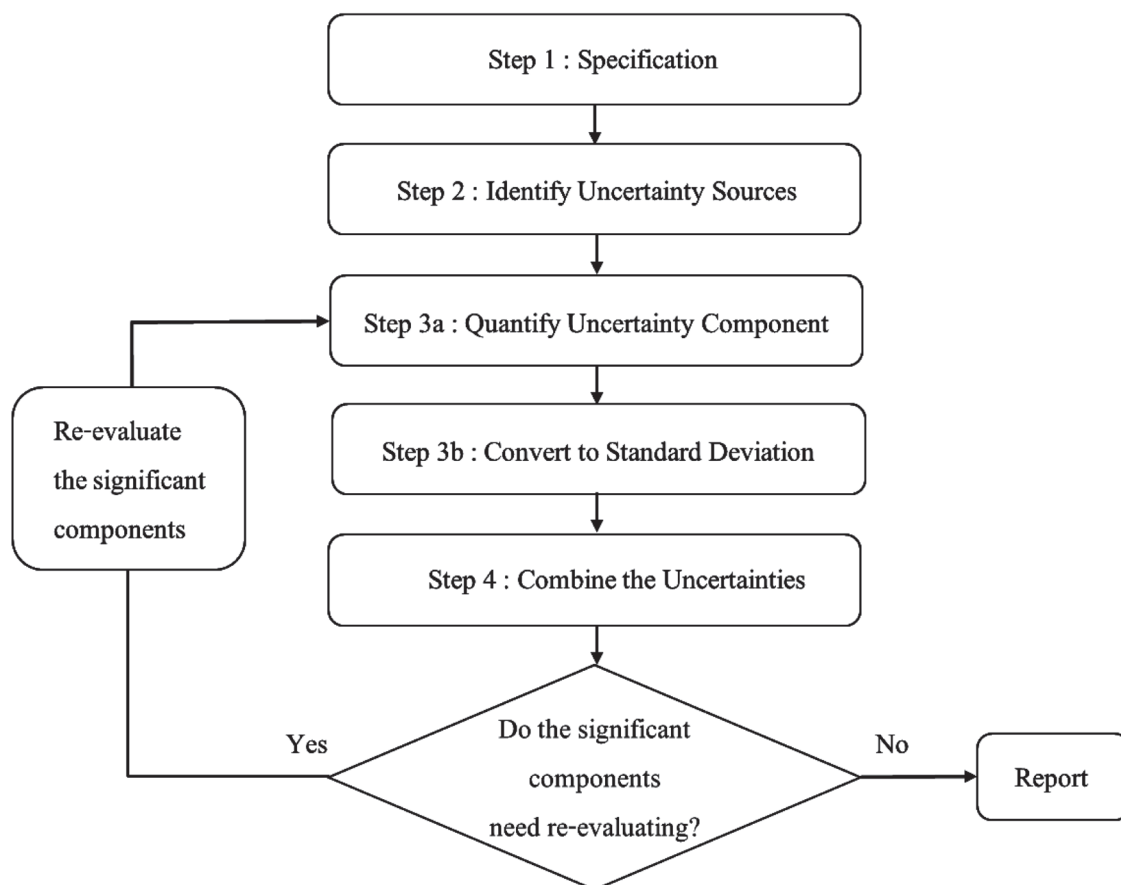
แนวทาง Bottom-up โดยวิธี ISO GUM⁽¹⁵⁾

วิธี ISO GUM นี้เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง มีรูปแบบการคำนวณค่าความไม่แน่นอนที่ชัดเจนเป็นลำดับขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 1 จึงเหมาะสมกับวิธีวิเคราะห์ใหม่ที่ยังไม่มีข้อมูลจากการประกันคุณภาพ และการควบคุมคุณภาพอย่างเพียงพอและเหมาะสม แนวทางนี้ถูกพัฒนามาจากการวัดทางฟิสิกส์ แล้วนำมาประยุกต์ใช้ในเอกสาร EURACHEM ซึ่งห้องปฏิบัติการที่ต้องการพัฒนาวิธีทดสอบขึ้นใหม่ ห้องปฏิบัติการสามารถใช้แนวทางนี้ในการพิจารณาและตรวจสอบแนวทางที่พัฒนาจากปริมาณค่าความไม่แน่นอนของแต่ละแหล่งได้ โดยในปัจจุบันห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชส่วนใหญ่ใช้วิธีนี้

สำหรับขั้นตอนการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดโดยวิธี ISO GUM เริ่มจากขั้นตอนที่ 1 การระบุสิ่งที่ต้องการทดสอบพร้อมหน่วย พิจารณาพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับปริมาณที่ต้องการวัด เช่น ความเข้มข้น อุณหภูมิ ปริมาตร ค่าคงที่ เขียนสูตรหรือสมการการคำนวณผลการวิเคราะห์ เขียนภาพแสดงขั้นตอนการวิเคราะห์ รวมถึงระบุเครื่องมือและสารมาตรฐาน ขั้นตอนที่ 2 ระบุแหล่งที่มาของความไม่แน่นอน รวบรวมแหล่งที่มาที่มีผลต่อการวัด พิจารณาเทอมต่างๆ ในสมการการคำนวณ เครื่องมือที่ใช้วัด ปัจจัยจากบุคลากร ความแตกต่างระหว่างผู้ทดสอบ ความเอนเอียงในการอ่านค่า สภาพแวดล้อมที่ทำการทดสอบ การสุ่มตัวอย่าง การชั่งและการสกัดตัวอย่าง ความเป็นเนื้อเดียวกัน ความคงตัวของตัวอย่าง สภาวะการเก็บรักษาตัวอย่าง สารรบกวนจากเนื้อตัวอย่าง การเตรียมกราฟมาตรฐาน ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน การเลือกใช้โมเดลในการสร้างกราฟมาตรฐาน

การปิดเศษทศนิยม ความแปรปรวนจากการทำซ้ำ ความเบี่ยงเบน จัดกลุ่มและพิจารณาองค์ประกอบของความไม่แน่นอน ทำแผนภูมิแก๊งปลาประกอบ (Cause and Effect Analysis by Fishbone Diagram) ขั้นตอนที่ 3 ระบุค่าของแต่ละองค์ประกอบ โดยอาจมาจากแหล่งต่างๆ เช่น จากข้อมูลที่มีอยู่ Specification/Certification จากการทดลอง เช่น Method validation กราฟมาตรฐาน ข้อมูลการประกันคุณภาพและจากประสบการณ์ เมื่อระบุค่าต่างๆ ได้แล้ว จึงเปลี่ยนค่า

ของแต่ละองค์ประกอบให้เป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (Standard Uncertainty) เปลี่ยนค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานเป็นค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Uncertainty) ขั้นตอนที่ 4 นำค่าความไม่แน่นอนที่ได้มาจากแต่ละองค์ประกอบมาคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม (Combined Standard Uncertainty) แล้วคำนวณค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (Expanded Standard Uncertainty)⁽¹⁶⁾ เพื่อรายงานผล ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 กระบวนการประมาณค่าความไม่แน่นอนตามแนวทางของวิธี ISO GUM

แนวทาง Top-down โดยวิธี Intra-laboratory QC Data

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดตามแนวทางนี้เป็นการใช้ข้อมูลจากกระบวนการตรวจสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ⁽¹⁷⁾ ความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์อาจได้จากผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการที่ต่างกันหรือ

จากภายในห้องปฏิบัติการเดียว การคำนวณผลรวมขององค์ประกอบของค่าความไม่แน่นอนมาจากข้อมูลการประกันคุณภาพของห้องปฏิบัติการหรือการควบคุมคุณภาพภายใน คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดสอบ Intermediate Precision ค่า Bias ของกระบวนการวัด และข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น การศึกษา Ruggedness/Robustness แนวทางนี้เป็นแนวทางที่

ปฏิบัติได้ง่าย ค่าใช้จ่ายไม่สูง และประยุกต์ได้สะดวก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี ISO GUM ในการศึกษาที่ใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช ในการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงของวิธีโดยการเติมสารมาตรฐานที่ระดับ 0.05 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในผักและผลไม้ต่างชนิดกันในแต่ละชุดการวิเคราะห์ใช้ data point 28 จุด เก็บข้อมูลในช่วงเวลาตั้งแต่วันที่ 3 สิงหาคม พ.ศ. 2565 ถึง วันที่ 11 ธันวาคม พ.ศ. 2567 แล้วนำข้อมูลมาประมวลผล โดยอาศัยหลักการ SANTE/11312/2021 (V2) Appendix C.

แนวทาง Top-down โดยวิธี Proficiency Testing Data

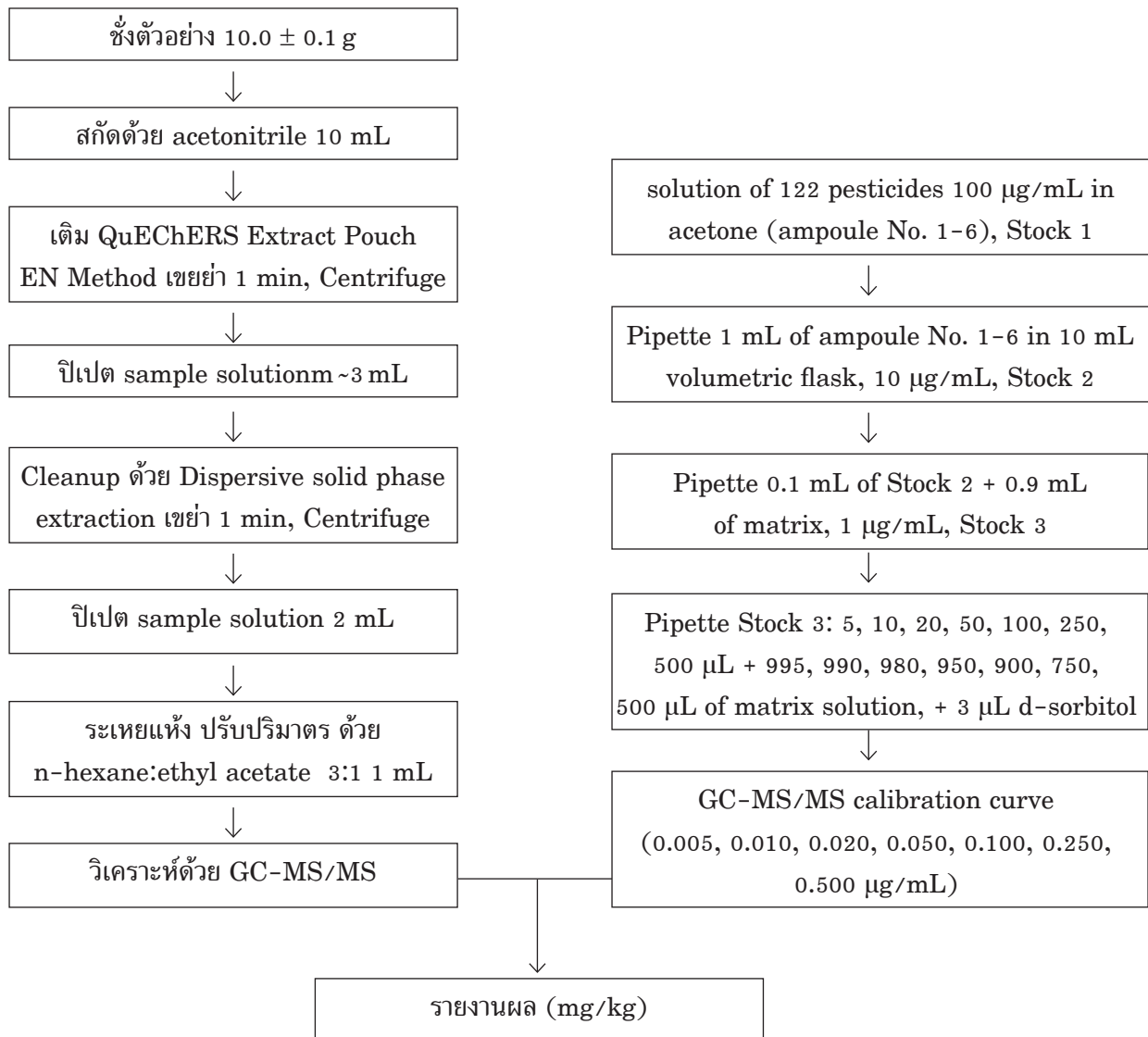
วิธีนี้เป็นแนวทางที่ได้จากข้อมูลการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ ซึ่งมีความไม่แน่นอนที่สามารถอ้างอิงจากกลุ่มห้องปฏิบัติการ⁽¹⁸⁾ โดยการนำค่าความผิดพลาดเชิงระบบ คือ Bias และค่าความผิดพลาดเชิงสุ่ม คือ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานที่ได้จากการทดสอบ Repeatability และ Reproducibility มาพิจารณาหาความไม่แน่นอนรวม แต่ไม่นำรายละเอียดของแหล่งความไม่แน่นอนย่อยมาคิด เนื่องจากมีการอนุมานว่าได้คิดรวมไว้แล้ว วิธีนี้จะดำเนินการได้หากมีแผนการทดสอบความชำนาญอย่างเหมาะสม โดยต้องครอบคลุมช่วงการวัดและเนื้อชนิดตัวอย่าง (Matrix) ซึ่งแผนทดสอบความชำนาญการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้เป็นแผนที่มีการจัดอย่างสม่ำเสมอ ครอบคลุมชนิดและปริมาณสารที่มีคุณสมบัติหลากหลายในเนื้อตัวอย่างที่เป็นตัวแทนของกลุ่มตัวอย่างได้ นอกจากนี้อาจมีการใช้สมการของ Horwitz's equation สำหรับการประมาณค่าความไม่แน่นอนในการทดสอบที่มีความหลากหลายของความเข้มข้นหากเป็นการใช้ข้อมูลจากหลายห้องปฏิบัติการ สำหรับการคำนวณในครั้งนี้ใช้ข้อมูลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ กับหน่วยงาน FAPAS[®]

3 รอบ ได้แก่ FAPAS[®] 19366 beetroot puree, FAPAS[®] 19341 peas with pods puree และ FAPAS[®] 19313 cucumber puree โดยใช้ผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ (x_i), ค่ากำหนด (assigned value, x_{pt}), Standard Deviation for Proficiency Assessment (σ_{pt}), จำนวนผลการวิเคราะห์ที่เข้าร่วมในแต่ละรายการ (No.) มี datapoints รวมทั้งสิ้น 33 ข้อมูลเป็นการประมาณค่าความไม่แน่นอนที่คำนึงถึงความหลากหลายของ analyte ในชนิดตัวอย่างที่แตกต่างกัน

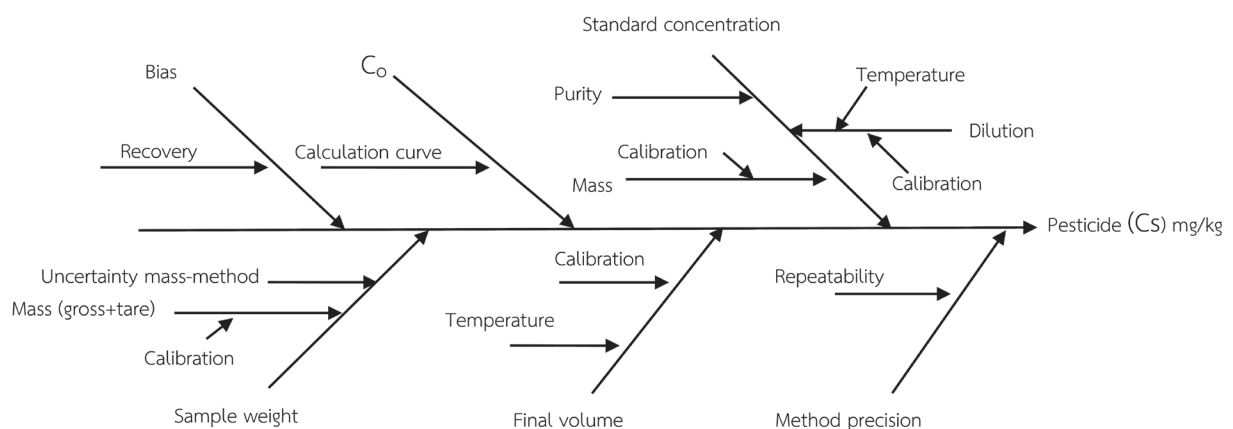
ผล

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดแนวทาง Bottom-up ด้วยวิธี ISO GUM

ประมาณค่าความไม่แน่นอนโดยเริ่มจากพิจารณาขั้นตอนการทดสอบ โดยกำหนดแผนภูมิขั้นตอนวิธีวิเคราะห์ การเตรียมตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ ด้วยวิธี QuEChERS ES BN 15662:2018 เทคนิค GC-MS/MS และ LC-MS/MS ดังแสดงในภาพที่ 2 จากนั้นกำหนดสิ่งที่จะตรวจวัด (measurand) เป็นปริมาณสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช (pesticides) เลือกสาร chlorpyrifos ที่ตรวจพบในตัวอย่างผักและผลไม้ ด้วยเครื่อง GC-MS/MS หน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) คำนวณปริมาณสารที่ตรวจวัด โดยใช้ค่าความเข้มข้น (C_0) ที่อ่านได้จาก Calibration Curve ชนิด Matrix matched ที่สร้างจากความสัมพันธ์ระหว่าง Concentration กับ Peak area แต่ละขั้นตอนของการวิเคราะห์สามารถระบุแหล่งที่มาของค่าความไม่แน่นอน นำมาสรุปเป็น Cause and Effect Diagram ดังแสดงในภาพที่ 3 ทำการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของแต่ละองค์ประกอบตัวอย่างการวิเคราะห์สาร chlorpyrifos ในผักและผลไม้ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg ดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 2 Flow diagram แสดงขั้นตอนการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ด้วยวิธี QuEChERS



ภาพที่ 3 แผนภูมิแก๊งปลา Cause and Effect Diagram แสดงแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนการวิเคราะห์ สารเคมี ป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ด้วยวิธี QuEChERS

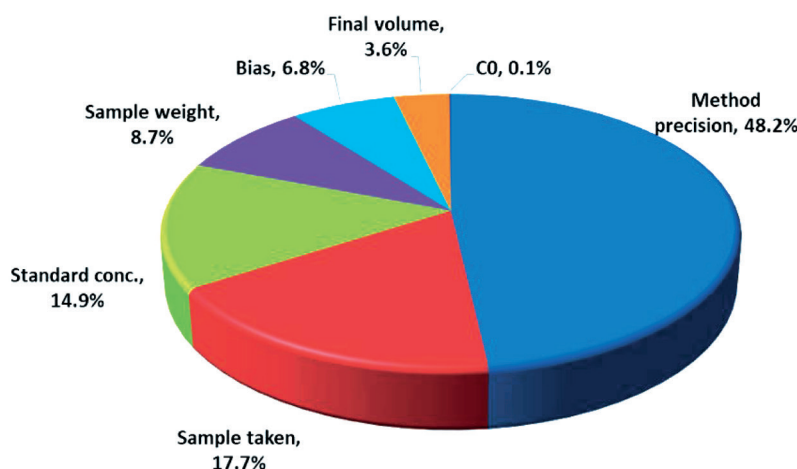
ตารางที่ 2 ผลการคำนวณหาความไม่แน่นอนมาตรฐานรวม (Calculation of Combined Standard Uncertainty) การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ด้วยวิธี QuEChERS

Component	Value, x	Uncertainty $\pm U$	Divisor	Standard Uncertainty, $u(x)$	Relative Standard Uncertainty, $u(x)/x$
Sample weight					
- weight variation	10 g	0.1 g	$\sqrt{3}$	0.05774 g	0.005770
- tare	10 g	0.003 g	2	0.00150 g	0.000150
- gross	10 g	0.003 g	2	0.00150 g	0.000150
Combined Standard Uncertainty					0.005777
Sample taken					
- calibration (pipette)	10 ml	0.0015 ml	2	0.00075 ml	0.000075
- temperature (pipette)	10 ml	0.04 ml	$\sqrt{3}$	0.02309 ml	0.002309
- calibration (pipette)	2 ml	0.001 ml	2	0.00050 ml	0.000250
- temperature (pipette)	2 ml	0.04 ml	$\sqrt{3}$	0.02309 ml	0.011545
Combined Standard Uncertainty					0.011777
Final volume					
- calibration (pipette)	1 ml	0.001 ml	2	0.00050 ml	0.000500
- temperature (pipette)	1 ml	0.004 ml	$\sqrt{3}$	0.00231 ml	0.002309
Combined Standard Uncertainty					0.002363
C_o	100 $\mu\text{g/ml}$	0.0072 $\mu\text{g/ml}$	1	0.0072 $\mu\text{g/ml}$	0.000072
Conc. of standard					
1. Stock standard					
purity	100.32 $\mu\text{g/ml}$	1.14 $\mu\text{g/ml}$	$\sqrt{3}$	0.65818 $\mu\text{g/ml}$	0.00656
2. Working standard					
Dilution					
-calibration (pipette)	1 ml	0.005 ml	2	0.00250 ml	0.00250
-temperature (pipette)	1 ml	0.005 ml	$\sqrt{3}$	0.00289 ml	0.00289
-calibration (flask)	10 ml	0.04 ml	$\sqrt{6}$	0.01633 ml	0.00163
-temperature (flask)	10 ml	0.05 ml	$\sqrt{3}$	0.02887 ml	0.00289
-calibration (pipette)	0.1 ml	0.000425 ml	2	0.00021 ml	0.00213
-temperature (pipette)	0.1 ml	0.0005 ml	$\sqrt{3}$	0.00029 ml	0.00289
-calibration (pipette)	0.9 ml	0.005 ml	2	0.00250 ml	0.00278
-temperature (pipette)	0.9 ml	0.0045 ml	$\sqrt{3}$	0.00260 ml	0.00297
Combined Standard Uncertainty					0.00988
Method precision					
- Repeatability	0.1 mg/kg	0.00320 mg/kg	1	0.00320 mg/kg	0.032000
Bias	119.6%	2.65%	$\sqrt{24}$	0.54093%	0.004523
- Recovery					
Combined Relative Standard Uncertainty $u_c(X)/X$					0.036328

การคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนขยาย (Expanded Uncertainty) จากตารางที่ 2 พบค่า Combined Relative Standard Uncertainty ($u_c(X)/X$) มีค่าเป็น 0.036 ในกรณีตัวอย่างตรวจพบสาร chlorpyrifos ปริมาณ 0.05 mg/kg ได้ค่า $u_c(x) = 0.036 \times 0.05 = 0.002$ mg/kg จากนั้นขยายความไม่แน่นอนมาตรฐานด้วยการคูณด้วยค่า Coverage factor, k ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% Expanded Uncertainty at Confidence Interval (C.I.) 95% ($k=2$) จะได้ $U(x) = 2 \times 0.002 = 0.004$ mg/kg สำหรับขั้นตอนการรายงานค่าความไม่แน่นอน ตัวอย่างการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ เช่น พบ chlorpyrifos 0.05 ± 0.004 mg/kg (ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%, $k=2$) โดยค่าความไม่แน่นอนที่รายงานมีค่าคิดเป็นร้อยละ 8

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดการวิเคราะห์สาร chlorpyrifos ในผักและผลไม้ ตามแนวทางของ ISO GUM พบสัดส่วนค่าความไม่แน่นอนจากแหล่งความไม่แน่นอนที่ส่งผลต่อปริมาณสาร chlorpyrifos ที่

เป็นองค์ประกอบหลัก 3 องค์ประกอบ เรียงจากมากไปน้อย ได้แก่ Method precision (48.2%) Sample taken (17.7%) และ Standard concentration (14.9%) ส่วนองค์ประกอบอื่นๆ เช่น Sample weight (8.7%) Bias (6.8%) Final volume (3.6%) และ C_0 (0.1%) คิดเป็นสัดส่วนน้อยกว่าร้อยละ 10 ดังแสดงในภาพที่ 4 โดยเกณฑ์ความสมเหตุสมผลของค่าความไม่แน่นอนสามารถพิจารณาได้ 2 กรณี ได้แก่ กรณีที่ 1 ต้องมีค่าน้อยกว่า $2 \times SD$ โดย Predicted SD ได้จาก Horwitz Equation Modified by Thompson⁽¹⁹⁾ เมื่อ Concentration Ratio < 120 $\mu\text{g/kg}$ ใช้สูตร $SD = 0.22 \times C$ เมื่อ C คือ Concentration Ratio ที่ต้องการรายงาน หรือเท่ากับ $2 \times 22 = 44\%$ หรือกรณีที่ 2 ใช้ค่า Default Expanded Measurement Uncertainty ของ SANTE/11312/2021 (V2) ที่กำหนดไว้ว่า ห้ามเกิน 50% เมื่อพิจารณาพบว่าค่าความไม่แน่นอนขยายที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% มีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ยอมรับทั้ง 2 กรณี แสดงว่าการประมาณค่าความไม่แน่นอนดังกล่าว มีความสมเหตุสมผล



ภาพที่ 4 สัดส่วนองค์ประกอบแหล่งความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สาร chlorpyrifos ในผักและผลไม้ โดยวิธี ISO GUM

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดแนวทาง Top-down โดยใช้ Intra-laboratory QC data

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดวิธีนี้พิจารณาจากข้อมูลการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการในส่วนของ Bias และ Precision ซึ่งถือเป็นสัดส่วนที่

สำคัญที่สุด โดยทั่วไปพบว่ามีความมากกว่า 1 ใน 3 ของค่าความไม่แน่นอนทั้งหมด อย่างไรก็ตามที่มาของความไม่แน่นอนที่อาจมาจากแหล่งอื่นๆ เช่น ความไม่แน่นอนเดียวกันของตัวอย่าง และความไม่แน่นอนจากสารมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์จะถูกพิจารณาว่าแหล่งเหล่านี้

ได้ถูกรวมไว้ในการวิเคราะห์แล้ว ในที่นี้จะพิจารณาเฉพาะค่า Bias และ Precision เท่านั้น ค่าความไม่แน่นอนที่คำนวณได้ มาจากการขยายความไม่แน่นอนมาตรฐานด้วยการคูณด้วยค่าคงที่ Coverage Factor, k ที่ระดับ

ความเชื่อมั่น 95% Expanded Uncertainty at C.I. 95% ($k = 2$) ดังสมการที่ 1 โดยสัญลักษณ์ (') หมายถึงค่าความไม่แน่นอนที่ถูกดัดแปลงให้เหลือแหล่งที่มาเพียง 2 แหล่ง คือ Bias และ Precision เท่านั้น

$$U' = k \times u' \quad \text{สมการที่ 1}$$

$$u' = \sqrt{u'(bias)^2 + u'(precision)^2} \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ $u' =$ measurement uncertainty

$u'(bias) =$ Uncertainty Component จาก Bias

$u'(precision) =$ Uncertainty Component จาก Precision

โดยทั่วไปนั้น $u'(bias)$ จะคำนวณโดยใช้ Uncertainty จากวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM) แต่ในทางปฏิบัติวัสดุที่เป็น CRM ที่มี Analyte และ Matrix ตรงกับขอบข่ายที่ต้องการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด/การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ นั้น ห้องปฏิบัติการไม่สามารถจัดหาได้ เนื่องจากเป็นข้อจำกัดของผู้ผลิตในการให้ความเชื่อมั่นระยะเวลาความคงตัวของวัสดุที่เป็นของสดเน่าเสียง่าย ทำให้ไม่มีวัสดุอ้างอิงรับรองจำหน่ายในท้องตลาดที่ครอบคลุมสารที่สนใจทั้งหมดได้ ดังนั้นการประมาณค่าความไม่แน่นอน

ของการวัด/การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชจะสามารถทำได้โดยใช้ข้อมูล Bias และ Precision จากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีและข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดจาก Bias, $u'(bias)$

กรณีที่ 1 ไม่มีการปรับแก้ Recovery (Estimation of the $u'(bias)$ component without correction for recovery) จะใช้ในกรณีที่ Expanded Uncertainty น้อยกว่า 50% Relative Bias คำนวณได้จากสมการที่ 3 และ $u'(bias)$ คำนวณได้จากสมการที่ 4

$$\text{Relative Bias (\%)} = \frac{(\text{measured concentration} - \text{spiked concentration})}{(\text{spiked concentration})} \times 100\% \quad \text{สมการที่ 3}$$

$$u'(bias) = \sqrt{\text{RMS}'(bias)^2 + u'(C_{ref})^2} \quad \text{สมการที่ 4}$$

เมื่อ $\text{RMS}'(bias) =$ root mean square of the relative bias

$$= \sqrt{\frac{\sum bias_i^2}{n}} = \sqrt{\text{mean}_{bias}^2 + \text{SD} \cdot P_{bias}^2}$$

$\text{mean}_{bias} =$ Mean of the Relative Bias

$\text{SD} \cdot P_{bias} =$ Population SD of the Relative Bias (สูตร stdev.p ใน Excel)

$u'(C_{ref}) =$ Uncertainty of the Spiked Concentration เมื่อมีค่าน้อยหากเปรียบเทียบกับ Bias และ Precision จึงสามารถนำออกจากสมการที่ 4 ได้ จึงเหลือสมการที่ 5

$$u'(bias) = \sqrt{\text{mean}_{bias}^2 + \text{SD} \cdot P_{bias}^2} \quad \text{สมการที่ 5}$$

กรณีที่ 2 มีการปรับแก้ Recovery (Estimation of the u' (bias) component with correction for recovery) กรณี Expanded Uncertainty มากกว่า 50%

$$u'(\text{bias}) = \sqrt{\left(\frac{\text{RSD}_{\text{wR}}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u'(\text{Cref})^2} \quad \text{สมการที่ 6}$$

เมื่อ RSD_{wR} = Within-laboratory reproducibility of the recovery
 n = Number of recovery tests
 $u'(\text{Cref})$ = Uncertainty of the spiked concentration เมื่อมีค่าน้อยหากเปรียบเทียบกับ Bias และ Precision จึงสามารถนำออกจากสมการที่ 6 ได้ จึงเหลือสมการที่ 7

$$u'(\text{bias}) = \frac{\text{RSD}_{\text{RW}}}{\sqrt{n}} \quad \text{สมการที่ 7}$$

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดจาก Precision, $u'(\text{precision})$
 คำนวณได้จากสมการที่ 8

$$u'(\text{precision}) = \text{RSD}_{\text{rw}} \quad \text{สมการที่ 8}$$

เมื่อ RSD_{rw} = Within-laboratory reproducibility

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดรวม คำนวณจากสมการที่ 9

$$u' = \sqrt{\text{mean}_{\text{bias}}^2 + \text{SD} \cdot P_{\text{bias}}^2 + \text{RSD}_{\text{rw}}^2} \quad \text{สมการที่ 9}$$

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดการวิเคราะห์ chlorpyrifos ในผักและผลไม้โดย Intra-laboratory QC data โดยยกตัวอย่างข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control, IQC) โดยการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงจากการทดสอบ spiked sample ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/kg แล้วคำนวณ Recovery ในชนิดตัวอย่างผักและผลไม้ที่มีความหลากหลายครอบคลุมทุก commodity ช่วงเวลา

ตั้งแต่วันที่ 3 สิงหาคม พ.ศ. 2565 ถึง วันที่ 11 ธันวาคม พ.ศ. 2567 ในแต่ละชุดการทดสอบ (batch) ประจำวัน ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์จริง ความเข้มข้นของ chlorpyrifos ที่วิเคราะห์ได้มีค่าตั้งแต่ 0.041–0.058 mg/kg คิดเป็น Recovery 82.0–116.0% จำนวนผลการวิเคราะห์ (n) ทั้งสิ้น 28 ข้อมูล นำข้อมูลเหล่านี้มาคำนวณผล ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน (Intra-laboratory QC data) สำหรับการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์ chlorpyrifos ผักและผลไม้ด้วยวิธี QueChERS (ต่อ)

n	Date	Spiked at 0.05 mg/kg		Relative bias (%)
		Vegetables and fruits	Measured (mg/kg)	
1	3 Aug 2022	Orange	0.046	-8
2	7 Sep 2022	Peas	0.053	6
3	4 Oct 2022	Garlic	0.050	0
4	23 Dec 2022	Cherry	0.056	12
5	20 Feb 2023	Mango	0.047	-6
6	5 May 2023	Beetroot	0.045	-10
7	19 Feb 2023	Water melon	0.058	16
8	7 Nov 2023	Broccoli	0.044	-12
9	13 Nov 2023	Chinese broccoli	0.047	-6
10	16 Nov 2023	Mushroom	0.046	-8
11	1 Dec 2023	Banana	0.048	-4
12	5 Jan 2024	Cabbage	0.045	-10
13	18 Jan 2024	Agasta	0.055	10
14	29 Jan 2024	Stawberry	0.049	-2
15	6 Mar 2024	Potato	0.042	-16
16	29 Apr 2024	Lettuce	0.042	-16
17	29 Apr 2024	Rose apple	0.052	4
18	25 Jun 2024	Spring onion	0.044	-12
19	15 Jul 2024	Shallot	0.046	-8
20	5 Aug 2024	Apple	0.050	0
21	11 Sep 2024	Durian	0.046	-8
22	22 Oct 2024	Peach	0.064	28
23	6 Nov 2024	Spinach	0.051	2
24	8 Nov 2024	Grapes	0.049	-2
25	26 Nov 2024	Apple	0.041	-18
26	11 Dec 2024	Celery	0.049	-2
27	11 Dec 2024	Grapes	0.041	-18
28	11 Dec 2024	Green pea	0.044	-12
n			28	
mean			0.048	-3.57
SD Pbias (stdev.p) (%)				10.574
SD measured (mg/kg) (stdev.s)			0.005	
RSDwR (%)			11.167	
กรณีที่ 1	u' (bias) (%) (Without correction recovery)			11.161
	u' (precision) = RSDwR (%)		11.167	
	u' combined (%)		15.789	
	U' (Expanded MU) (%) (k = 2)		31.577	
กรณีที่ 2	u' (bias) (%) (With correction recovery)			2.110
	u' (precision) = RSDwR (%)		11.167	
	u' combined (%)		11.365	
	U' (Expanded MU) (%) (k = 2)		22.730	

ในการรายงานค่าความไม่แน่นอน เนื่องจากมีการกระจายตัวของผลการทดสอบ QC ในช่วงระยะเวลาหนึ่งสูง ทำให้ Expanded Standard Uncertainty มีค่าสูง แต่ยังต่ำกว่าร้อยละ 50 ในกรณีที่ 1 ร้อยละ 31.6 ในกรณีที่ไม่มี Recovery correct หากพิจารณากรณีที่ 2 ค่ารวมโดยมีการ Recovery correct จะทำให้ Expanded Standard Uncertainty มีค่าต่ำลงเป็นร้อยละ 22.7 เมื่อพิจารณาใช้ค่า Default Uncertainty Value กำหนดโดย SANTE/11312/2021 ที่ร้อยละ 50 ทั้ง 2 กรณี อยู่ในเกณฑ์ความสมเหตุสมผล ตัวอย่างการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ เช่น พบ chlorpyrifos 0.05 mg/kg Expanded Uncertainty 31.6% = $0.05 \times 31.6/100 = 0.016$ mg/kg จึงรายงาน

พบ chlorpyrifos 0.05 ± 0.016 mg/kg (ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%, $k = 2$)

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดแนวทาง Top-down โดยใช้ PT Data

การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชแบบ Multi-residue Method ที่ใช้กับเนื้อตัวอย่างผักและผลไม้ (Matrix) ที่หลากหลายการคำนวณ MU ของสารใดสารหนึ่งอาจจะเป็นไปได้หรือไม่ได้หรือเป็นไปได้ยาก เนื่องจากขาดข้อมูล Bias ที่ตรงกับ Matrix นั้นๆ การคำนวณค่าความไม่แน่นอนขยายสามารถใช้ Within-laboratory Reproducibility โดยนำข้อมูล Relative Standard Deviation มาพิจารณาร่วมกับข้อมูล PT ซึ่งเป็น Laboratory Bias พิจารณาจากสมการที่ 10

$$u' = \sqrt{u'(\text{bias})^2 + u'(\text{RSD}_{\text{WR}})^2} \quad \text{สมการที่ 10}$$

เมื่อ $u' = \text{Combined Standard Uncertainty}$

$u'(\text{RSD}_{\text{WR}}) = \text{Within-laboratory Reproducibility}$

$u'(\text{bias}) = \text{Uncertainty Component ที่มาจากวิธีที่ใช้และความเปี่ยงเบนของห้องปฏิบัติการในการเข้าร่วม PT}$

การคำนวณ $u'(\text{RSD}_{\text{WR}})$ สามารถใช้ข้อมูล Recovery ที่ได้จากการควบคุมคุณภาพในระยะยาวเพื่อสะท้อนพฤติกรรมธรรมชาติของการวิเคราะห์ นอกจากนี้แล้วยังสามารถนำข้อมูลจากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีมาพิจารณาร่วมได้แต่จะได้ข้อมูลที่มีความเที่ยงน้อยเกินไป โดยต้องใช้จำนวนข้อมูลอย่างน้อย 31 ข้อมูล ใช้ข้อมูล Relative Standard Deviation มาประกอบการพิจารณา ในกรณีห้องปฏิบัติการสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืช สำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทำการทดสอบความแม่นยำจาก Recovery และเข้าร่วม PT ขอบข่ายจำนวนสาร 250 ชนิด วิเคราะห์โดย GC-MS/MS 106 ชนิด และ LC-MS/MS 144 ชนิด โดยวิธีเดียวกัน สำหรับข้อมูล QC ที่เก็บมาในระยะยาว กำหนดเกณฑ์ยอมรับที่ร้อยละ 70-120% วิเคราะห์ที่ระดับ 0.05 mg/kg ทดสอบ

ใน Matrix ที่หลากหลายตามชนิดตัวอย่างที่วิเคราะห์ในงานประจำ

$u'(\text{bias})$ คำนวณจากความสามารถของห้องปฏิบัติการในการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ โดยใช้ข้อมูลจำนวนไม่น้อยกว่า 31 ข้อมูล⁽⁶⁾ มาใช้ในการคำนวณ ใช้ข้อมูลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญกับ FAPAS[®] 3 รอบ ได้แก่ FAPAS[®] 19366 beetroot puree, FAPAS[®] 19341 peas with pods puree, และ FAPAS[®] 19313 cucumber puree มี data point รวมทั้งสิ้น 33 ข้อมูล นอกจากปริมาณสารที่รายงานแล้วยังมีข้อมูลที่ต้องใช้สำหรับการคำนวณ ได้แก่ Assigned Value หรือ Median การกระจายตัวของข้อมูลในรูปของ Robust Standard Deviation หรือ Qn และจำนวนห้องปฏิบัติการที่รายงานปริมาณสารนั้นๆ ข้อมูลแสดงในตารางที่ 3

$u'(bias)$ คำนวณได้จากสมการที่ 11

$$\sqrt{u'(bias)} = \sqrt{RMS_{bias}^{'2} + u'(C_{ref})^2} \quad \text{สมการที่ 11}$$

RMS'_{bias} = Root Mean Square of the Relative Bias, คำนวณได้จากสมการที่ 12 นำข้อมูล QC จากตารางที่ 3 มาคำนวณ โดย $m = 33$ จะได้

$$RMS'_{bias} = \sqrt{\sum \frac{(bias_i')^2}{m}} = \sqrt{\frac{3406.61}{33}} = 10.16\% \quad \text{สมการที่ 12}$$

$u'(C_{ref})$ คำนวณได้จากการเข้าร่วม PT หลายรอบ โดยการนำค่า sum ของ Qn หาดด้วยรากที่ 2 ของจำนวนผลการวิเคราะห์ที่รายงานโดยห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วม หาดด้วยจำนวนผลการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการเอง นำจำนวนดังกล่าวมาคูณด้วย factor 1.25 ตาม ISO 13528:2022⁽²⁰⁾ ดังสมการที่ 13 แทนที่ด้วยข้อมูลจากตารางที่ 4

$$u'(C_{ref}) = \frac{\sum_i \frac{Qn}{\sqrt{No.}}}{m} \times 1.25 = \frac{155.65}{33} \times 1.25 = 5.90\% \quad \text{สมการที่ 13}$$

$$u'(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^{'2} + u'(C_{ref})^2} = \sqrt{10.16^2 + 5.90^2} = 11.75\%$$

Relative Standard Deviation (RSD) ของ % Recovery ของห้องปฏิบัติการโดยใช้ข้อมูล QC 28 ค่า จากตารางที่ 4 มีค่าเป็น 11.17% ดังนั้น $u'(RSD_{wR})$ จึงใช้ค่า 10.77%

$$u' = \sqrt{u'(bias)^2 + u'(RSD_{wR})^2} = \sqrt{11.75^2 + 11.17^2} = 16.2\%$$

$$U' = k \times u'$$

$$U' = 2 \times 16.2 = 32.4\%$$

ตารางที่ 4 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัดโดยใช้ PT Data

PT Round	m	Pesticides	X_i (mg/kg)	X_{pt} (mg/kg)	Bias' _i (%)	$(Bias'_i)^2$	Qn (σ_{pt})	Qn (ratio)	No. Results	$\sqrt{No.}$	$\frac{Qn}{\sqrt{No.}}$
FAPAS 19366	1	azinphos-methyl	0.0756	0.0630	20.00	400.00	0.01390	22.06	10	3.162	6.977
beetroot puree	2	azoxystrobin	0.0627	0.0630	-0.48	0.23	0.01390	22.06	12	3.464	6.369
	3	boscalid	0.0433	0.0360	20.28	411.19	0.00792	22.00	10	3.162	6.957
	4	carbofuran	0.0248	0.0300	-17.33	300.44	0.00660	22.00	11	3.317	6.633
	5	epoxiconazole	0.0915	0.0790	15.82	250.36	0.01740	22.03	11	3.317	6.641
	6	fipronil	0.0403	0.0411	-1.95	3.79	0.00904	22.00	11	3.317	6.632
	7	phosphamidon	0.0393	0.0460	-14.57	212.15	0.01010	21.96	9	3.000	7.319
	8	propoxur	0.0779	0.0754	3.32	10.99	0.01660	22.02	11	3.317	6.638
	9	pyridaben	0.0623	0.0655	-4.89	23.87	0.01440	21.98	12	3.464	6.346
	10	trifloxystrobin	0.1175	0.1100	6.82	46.49	0.02430	22.09	10	3.162	6.986

ตารางที่ 4 การคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัดโดยใช้ PT Data (ต่อ)

PT Round	m	Pesticides	x_i (mg/kg)	x_{pt} (mg/kg)	Bias' _i (%)	(Bias' _i) ²	Qn (σ_{pt})	Qn (ratio)	No. Results	$\sqrt{\text{No.}}$	Qn $\sqrt{\text{No.}}$		
FAPAS 19341	11	cypermethrin	0.1200	0.1250	-4.00	16.00	0.02740	21.92	20	4.472	4.901		
	12	diazion	0.0317	0.0344	-7.85	61.60	0.00756	21.98	22	4.690	4.685		
peas with pods puree	13	etofenprox	0.0646	0.0744	-13.17	173.50	0.01640	22.04	21	4.583	4.810		
	14	fenitrothion	0.0513	0.0506	1.38	1.91	0.01110	21.94	16	4.000	5.484		
	15	fenvalerate	0.1160	0.1120	3.57	12.76	0.02470	22.05	18	4.243	5.198		
	16	heptachlor	0.0603	0.0519	16.18	261.95	0.01160	22.35	16	4.000	5.588		
	17	methidathion	0.0577	0.0603	-4.31	18.59	0.01330	22.06	17	4.123	5.349		
	18	monocrotophos	0.0308	0.0273	12.82	164.37	0.00601	22.01	19	4.359	5.051		
	19	pyrimethanil	0.0481	0.0430	11.86	140.67	0.00945	21.98	22	4.690	4.685		
	20	triadimenol	0.1036	0.0951	8.94	79.89	0.02090	21.98	21	4.583	4.796		
	21	trifloxystrobin	0.0472	0.0420	12.38	153.29	0.00925	22.02	21	4.583	4.806		
FAPAS 19313	22	boscalid	0.1194	0.1190	0.34	0.11	0.02620	22.02	69	8.307	2.651		
	23	buprofezin	0.1100	0.1260	-12.70	161.25	0.02740	21.75	69	8.307	2.618		
cucumber puree	24	chlorpyrifos	0.0322	0.0309	4.21	17.70	0.00679	21.97	70	8.367	2.626		
	25	endosulfan-sulfate	0.0171	0.0186	-8.06	65.04	0.00408	21.94	62	7.874	2.786		
	26	fenhexamid	0.0735	0.0679	8.25	68.02	0.01490	21.94	64	8.000	2.743		
	27	fludloxonil	0.0718	0.0680	5.59	31.23	0.01500	22.06	65	8.062	2.736		
	28	flusilazole	0.0706	0.0662	6.65	44.18	0.01460	22.05	68	8.246	2.674		
	29	imazalil	0.0234	0.0220	6.36	40.50	0.00485	22.05	65	8.062	2.734		
	30	methamidophos	0.0632	0.0692	-8.67	75.18	0.01520	21.97	52	7.211	3.046		
	31	oxamyl	0.1222	0.1200	1.83	3.36	0.02630	21.92	64	8.000	2.740		
	32	profenofos	0.0378	0.0344	9.88	97.69	0.00757	22.01	68	8.246	2.669		
	33	quinalphos	0.0451	0.0419	7.64	58.33	0.00922	22.00	63	7.937	2.772		
$\sum(\text{bias}'_i)^2$					=	3406.16	$\sum \frac{\text{Qn}}{\sqrt{\text{No.}}}$					=	155.65
No of Results (m)					=	33	$\frac{\sum \frac{\text{Qn}}{\sqrt{\text{No.}}}}{\text{m}} \times 1.25$					=	5.90
$\sqrt{\frac{\sum(\text{bias}'_i)^2}{\text{m}}}$					=	10.16							

ในการรายงานค่าความไม่แน่นอน เนื่องจากมีการกระจายตัวของผลการเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ ในช่วงระยะเวลาหนึ่งมีค่าสูง ทำให้ Expanded Uncertainty มีค่าสูง ($U' = 32.4\%$) ห่างจากค่า Default Uncertainty Value กำหนดโดย SANTE/11312/2021 ที่ 50% ไม่มาก และสูงกว่าค่าที่ได้จากการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดวิธี ISO GUM มาก แต่พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับวิธีที่ใช้ค่า QC ตัวอย่างการรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ เช่น พบ chlorpyrifos 0.05 mg/kg Expanded Uncertainty $32.4\% = 0.05 \times 32.4 / 100 = 0.016$ mg/kg จึงรายงานค่า พบ chlorpyrifos 0.05 ± 0.016 mg/kg (ที่ระดับความเชื่อมั่นประมาณ 95%, $k = 2$)

เมื่อกำหนดปริมาณความเข้มข้นของสาร chlorpyrifos ตกค้างในผักและผลไม้เป็นที่ต้องรายงานเป็น 0.05 mg/kg ค่าความไม่แน่นอนที่คำนวณได้จากแนวทางต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยแนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนในการศึกษาครั้งนี้ทั้ง 3 แนวทาง ได้แก่ 1) แนวทาง Bottom-up หรือ ISO GUM, 2) แนวทาง Top-down โดยใช้ QC data และ 3) แนวทาง Top-down โดยใช้ PT data ให้ค่า Expanded Uncertainty (U) ที่คำนวณได้มีค่าเป็น 8.0, 31.7 และ 32.4% ตามลำดับ เมื่อนำปริมาณความเข้มข้นที่กำหนด (0.05 mg/kg) ไปคำนวณโดยใช้ Horwitz's equation จากสมการที่ 14 จะได้ Expanded Uncertainty (U) สูงสุดไม่เกิน RSD (%) ที่ 33.2% และหากใช้ Horwitz's equation

modified Thompson ดังสมการที่ 15 และ 16 สำหรับความเข้มข้นน้อยกว่า 0.12 mg/kg จะได้ Expanded Uncertainty (U) สูงสุดไม่เกิน RDS (%) ที่ 44.0%

อย่างไรก็ตาม Expanded Uncertainty (U) ทั้ง 5 กรณีข้างต้นยังคงมีค่าน้อยกว่า default value ของสหภาพยุโรปที่กำหนดไว้เป็น 50%

$$RSD (\%) = 2^{(1-0.5 \cdot \log C)}$$

สมการที่ 14

$$RSD (\%) = 0.02c^{0.8495} \text{ เมื่อ } c \geq 0.12 \text{ mg/kg}$$

สมการที่ 15

$$RSD (\%) = 0.22c \text{ เมื่อ } c < 0.12 \text{ mg/kg}$$

สมการที่ 16

ตารางที่ 5 ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดสาร chlorpyrifos ในผักและผลไม้ของแต่ละแนวทาง

วิธี	u (%)	U (%)	การรายงานผล (mg/kg)
Bottom-up approach, ISO GUM ⁽⁴⁾	4.0	8.0	0.05±0.004
Top-down approach, QC data ⁽¹¹⁾	15.8	31.7	0.05±0.016
Top-down approach, PT data ⁽¹¹⁾	16.2	32.4	0.05±0.016
Horwitz's equation	16.6	33.2	0.05±0.017
Horwitz's equation modified Thompson ⁽¹⁹⁾	22.0	44.0	0.05±0.022
SANTE/11312/2021 (V2)	25.0	50.0	0.05±0.025

วิจารณ์

ความไม่แน่นอนของการวัด (Measurement Uncertainty) เป็น “Nonnegative parameters” ที่แสดงถึงการกระจายตัวของค่าปริมาณที่วัดได้ โดยเอกสารฉบับแรกที่ระบุแนวทางการประมาณค่าดังกล่าวคือ Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement หรือ GUM ซึ่งตีพิมพ์เมื่อ พ.ศ. 2536 เอกสารนี้จัดทำขึ้นโดยความร่วมมือระหว่างคณะทำงานจากหลายหน่วยงานเช่น The Bureau International des Poids et Mesures (BIPM), International Organization of Legal Metrology (OIML), International Electrotechnical Commission (IEC) และ International Organization for Standardization (ISO) ดำเนินการโดยนักฟิสิกส์และใช้แนวทางด้านมาตรวิทยาทางฟิสิกส์ เป็นคู่มือการคำนวณหาความไม่แน่นอนของการวัดที่เป็นที่รู้จักและนำไปประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายมากที่สุด เป็นวิธีการที่รวบรวมแหล่งที่มาของความไม่แน่นอนทุกแหล่งที่ส่งผล

กระทบถึงปริมาณค่าที่วัดได้ ค่าความไม่แน่นอนที่รายงานควบคู่กับปริมาณที่วัดได้จะต้องมีการระบุระดับความเชื่อมั่นประกอบด้วยเสมอ เนื่องจากความไม่แน่นอนนี้จะถูกนำไปใช้งานในกรณีที่ต้องการตัดสินใจกับเกณฑ์ต่างๆ เช่น ความสอดคล้องกับค่ากำหนด ผ่านหรือไม่ผ่านยอมรับหรือปฏิเสธ ซึ่งจะต้องมีกระบวนการตัดสินใจตาม Decision Rules ที่กำหนดไว้ล่วงหน้าแล้ว ค่าความไม่แน่นอนขยาย (U) เป็นช่วงที่ใช้ประกอบการตัดสินใจได้จากการคูณความไม่แน่นอนมาตรฐาน (u_c) กับค่าคงตัวค่าหนึ่ง (k) ซึ่งเป็นค่าที่ถูกกำหนดตามระดับความเชื่อมั่น โดยทั่วไปจะเลือกใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ค่า $k = 1.96$ หรือเพื่อความสะดวกมักใช้ $k = 2$ ในการคำนวณ ต่อมาในปี พ.ศ. 2550 หน่วยงาน Eurolab ได้ออกเอกสาร Technical Report 1/2007⁽⁶⁾ ระบุวิธีการในการประมาณค่าความไม่แน่นอนเพิ่มเติมจากแนวทางเดิม ได้แก่ Single Laboratory Validation (including quality control), Interlaboratory Comparisons และ External Quality Assessment

(EQA) หรือ Proficiency Testing (PT) ซึ่ง 2 วิธีนี้เป็นแนวทางที่แตกต่างจาก GUM โดย Dybkaer⁽²¹⁾ ซึ่งเป็นผู้ดำรงตำแหน่งประธานคณะกรรมการบริหารของ The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC) ในขณะนั้นได้ให้ความเห็นไว้ว่า แนวทางของ Eurolab นี้เป็นการทำให้วิธีการของ GUM ที่ยุ่งยากซับซ้อน มีขั้นตอนการดำเนินงานมากและใช้เวลานาน กลายเป็นวิธีการที่ง่ายขึ้น สามารถนำไปใช้งานได้จริงในการวิเคราะห์ทางเคมีโดยไม่ต้องใช้ทรัพยากรที่สิ้นเปลือง นอกจากนี้การประยุกต์ใช้วิธีของ GUM อาจไม่เหมาะสมกับการวิเคราะห์ทางเคมี Eurachem⁽⁴⁾ จึงเสนอแนวทางที่จำเพาะสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมีซึ่งมีการพิจารณาและคำนึงถึงปัจจัยต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอนขึ้น แนวทางนี้ให้ข้อมูลประกอบการคำนวณที่ดีกว่าและครอบคลุมปัจจัยต่าง ๆ มากกว่าวิธีเดิม

แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC) เป็นแนวทางที่มุ่งเน้นปัจจัยหลักที่สำคัญที่สุด คือ ความเียงเบนจากค่าจริง (Bias) และความเที่ยง (Precision) ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ข้อมูลจากการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์โดยการศึกษาคืน Recovery จาก Spiked samples ในตัวอย่างที่มีความหลากหลาย เป็นตัวอย่างที่เป็นตัวแทนตัวอย่างจริงที่ห้องปฏิบัติการได้รับ ทำการรวบรวมข้อมูลในช่วงระยะเวลาหนึ่ง ทำให้ได้ข้อมูลที่ใกล้เคียงกับการทำงานในชีวิตจริงมากที่สุด ทั้งนี้มีการพิจารณาจาก Bias แต่เป็นที่ทราบว่าการปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชไม่สามารถศึกษาตัวอย่างที่เป็น CRM ที่มีค่าจริงประกอบกับค่าความไม่แน่นอนได้ จึงปรับเปลี่ยนไปใช้ค่าปริมาณที่เติมในตัวอย่าง (Spiked concentration) แทนค่าอ้างอิง แต่ต้องตระหนักว่าการใช้ข้อมูล QC นี้ อาจจะได้ค่าความไม่แน่นอนที่น้อยกว่าความเป็นจริงเล็กน้อย เนื่องจากข้อมูล Recovery ที่นำมาคำนวณแล้วแต่มีค่าที่ผ่านเกณฑ์ยอมรับที่ร้อยละ 70-120 ตามเอกสารอ้างอิงทั้งสิ้น หากมีการทดสอบ Recovery แล้วให้ค่าที่ไม่สอดคล้องกับเกณฑ์ดังกล่าว ห้องปฏิบัติการไม่สามารถรายงานผลการวิเคราะห์ได้และต้องทำการวิเคราะห์ใหม่ซ้ำ เมื่อได้ผลการทดสอบใหม่

ที่มีผลการประกันคุณภาพผลการวิเคราะห์ที่ผ่านเกณฑ์ยอมรับจึงจะสามารถนำมาใช้ในการคำนวณได้ในบางกรณี ห้องปฏิบัติการไม่สามารถนำหรือมีข้อมูล QC ในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมมาใช้ในการคำนวณ สามารถใช้ข้อมูลการทดสอบความแม่นยำและความเที่ยงจากการทดสอบความใช้ได้ของวิธีก่อนการเปิดให้บริการได้ แต่การทดสอบลักษณะนี้ใช้ช่วงเวลาสั้นกว่าข้อมูล QC และอาจไม่ครอบคลุมชนิดตัวอย่างในการวิเคราะห์ ค่าความไม่แน่นอนที่ประมาณได้จะมีการกระจายที่แคบกว่าความเป็นจริงได้

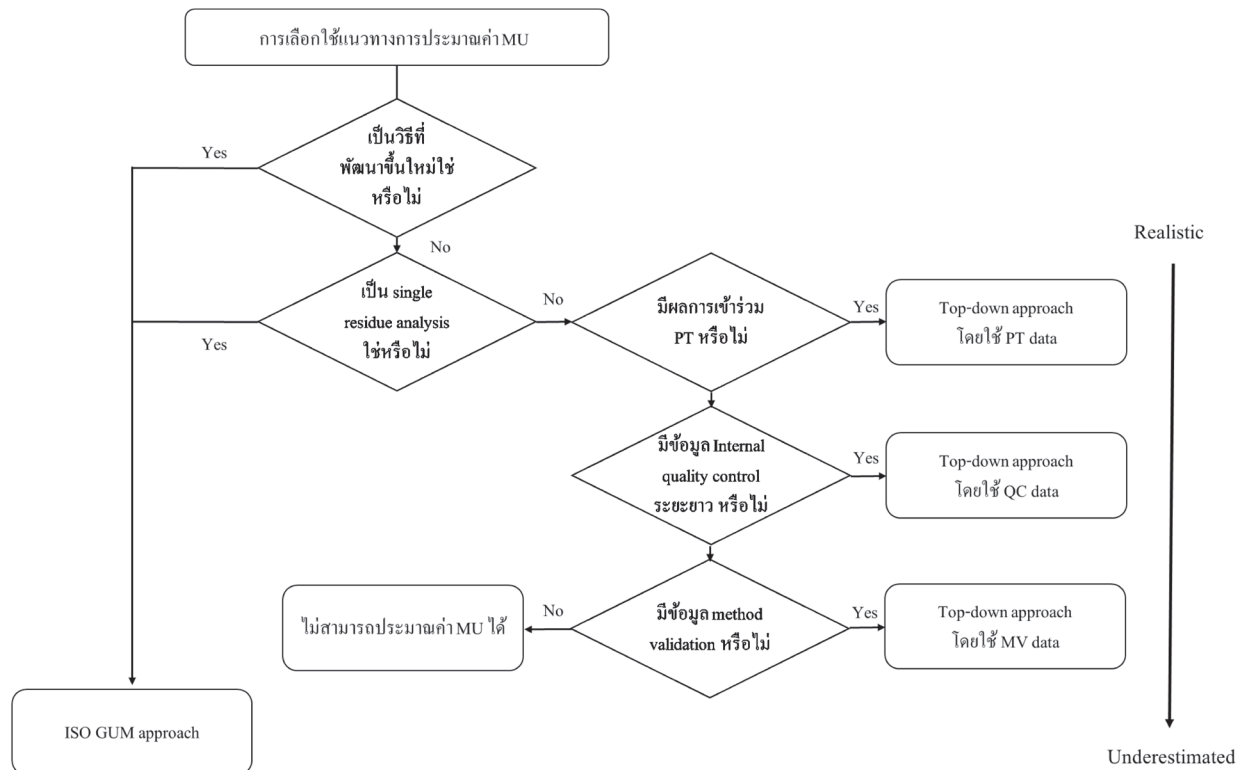
แนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ใช้ข้อมูลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ⁽²²⁾ ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับกลุ่มห้องปฏิบัติการหนึ่ง ๆ เป็นอีกแนวทางหนึ่งในวิธี Top-down เป็นการคำนวณทำนองเดียวกันกับการใช้ข้อมูล QC โดยพิจารณาเฉพาะ Bias และ Precision ส่วนที่แตกต่างจากแบบแรกคือการใช้ค่าอ้างอิงจาก assigned value (x_{pt}) และ standard deviation for proficiency assessment (σ_{pt}) ค่าดังกล่าวอาจไม่ใช่ค่าจริงตามแนวทางของมาตรวิทยา และบางครั้งไม่สามารถสอบกลับไปยัง SI unit ได้ แต่เป็นค่าที่มีการยอมรับกันว่าสามารถใช้เป็นค่าอ้างอิงได้ เช่น การใช้ Consensus value หรือค่าพ้องที่มาจากสมาชิก เช่น Algorithm A, Median หรือมาจากการคำนวณเชิงสถิติอื่น ๆ น้อยครั้งที่ผู้จัดแผน PT ในรายการการทดสอบสารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้จะใช้ Reference value จากห้องปฏิบัติการเดียว ซึ่งจะจัดในกรณีมีวัตถุประสงค์เฉพาะเท่านั้น แนวทางนี้เป็นการบ่งบอกว่าค่าที่ทดสอบได้จากห้องปฏิบัติการมีการกระจายตัวรอบค่าอ้างอิงมากน้อยเพียงใด ผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของแนวทาง Top-down ทั้ง 2 วิธี ได้แก่ ข้อมูล QC และข้อมูล PT ให้ผลที่สอดคล้องใกล้เคียงกัน $U = 31.7\%$ และ 32.4% ตามลำดับ แสดงถึงการประมาณค่าความไม่แน่นอนที่สมเหตุสมผลและสะท้อนความไม่แน่นอนที่แท้จริงของห้องปฏิบัติการ

เมื่อพิจารณาค่าความไม่แน่นอนที่ได้จากแนวทางต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 5 หากคำนึงถึงเกณฑ์ความสมเหตุสมผลที่ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์สารเคมี

ป้องกันกำจัดศัตรูพืชใช้โดยทั่วไป คือ ร้อยละ 50.0 ตาม SANTE Guideline ค่าที่คำนวณได้มีความสมเหตุสมผลและสามารถใช้สำหรับการรายงานผลได้ในทำนองเดียวกันเมื่อใช้เกณฑ์จาก Horwitz's equation และ Horwitz's Equation Modified Thompson ที่มีการปรับสมการให้ใช้งานง่ายขึ้นได้ค่าที่ 33.2 และ 44.0% ตามลำดับ ผลการคำนวณยังคงมีความสมเหตุสมผลเช่นเดียวกัน โดยมีข้อสังเกตว่าค่าที่ได้จากวิธี ISO GUM มีค่าน้อยมาก และอาจน้อยกว่าความเป็นจริงเมื่อพิจารณาจากพฤติกรรมธรรมชาติการวิเคราะห์ที่ระดับต่ำในชนิดตัวอย่างที่หลากหลาย และอาจไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ตัดสินผล การที่วิธีนี้ให้ค่าความไม่แน่นอนน้อยเกิดจากการนำค่า Method Precision ซึ่งโดยปกติแล้วจะเป็นสัดส่วนที่มากที่สุดเมื่อเทียบกับปัจจัยอื่น คำนี้นำจากการทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในช่วงเวลาสั้นๆ ในชนิดตัวอย่างเพียงชนิดเดียว ค่าที่ใช้คำนวณจึงน้อยเกินไป และอาจไม่เหมาะสม

ผลการศึกษาค้นคว้านี้แสดงให้เห็นว่าสำหรับการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชตกค้างในผักและผลไม้ แนวทางที่ใช้ประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดแบบ ISO GUM หรือแนวทาง Bottom-up เหมาะสมกับวิธีวิเคราะห์ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ และเป็นการวิเคราะห์แบบสารเดี่ยว (Single-residue Analysis) เท่านั้น แต่ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้สำหรับการวิเคราะห์แบบ Multi-residue Analysis เนื่องจากมีความยุ่งยากซับซ้อน มีค่าใช้จ่ายสูง ใช้ทรัพยากรมาก และที่ยิ่งไปกว่านั้นแนวทางนี้จะทำให้การประมาณค่าความไม่แน่นอนมีความผิดพลาดไม่สะท้อนความเป็นจริง เพราะมีไดนามิกส์ที่มาจากทั้งหมดมาพิจารณา ด้วยเหตุผลดังกล่าวการใช้วิธีทางเลือกใหม่ตามแนวทาง Top-down ทั้งโดยการใช้ QC data และ ใช้ PT data จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ โดยมีข้อมูลเชิงวิชาการสนับสนุนเพียงพอและให้ค่าที่ใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากกว่า อย่างไรก็ตามแนวทางการประมาณค่าความไม่แน่นอนที่แต่ละห้องปฏิบัติการเลือกใช้ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์การใช้งานและข้อจำกัด

แนวทางการเลือกใช้วิธีในการประมาณค่าความไม่แน่นอน ดังแสดงในภาพที่ 5 โดยมีความน่าเชื่อถือของผลการประมาณค่าความไม่แน่นอนแตกต่างกันตามข้อมูลที่น่ามาประกอบการคำนวณ หากเป็นวิธีที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ และยังไม่มีการควบคุมคุณภาพภายใน หรือผลการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญในช่วงระยะเวลาที่เพียงพอ หรือเป็นวิธีวิเคราะห์สารเดี่ยว Single-residue Analysis ทั้งสองกรณีนี้จำเป็นต้องใช้วิธีของ ISO GUM เป็นการประมาณค่าความไม่แน่นอนเบื้องต้นแต่จะสะท้อนความเป็นจริงน้อยที่สุด เมื่อวิธีมีผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีในช่วงระยะเวลาที่เพียงพอหรือที่เรียกว่า On-going Validation สามารถนำค่าความเที่ยงชนิด Intermediate Precision มาคำนวณค่าความไม่แน่นอนตามวิธี Top-down ได้ และเมื่อใช้วิธีในการวิเคราะห์ในงานประจำโดยมีการเก็บข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในในตัวอย่างที่หลากหลาย จะได้ค่าความไม่แน่นอนที่มาจากตัวอย่างต่างชนิดกันเพิ่มขึ้น ทำให้มีความน่าเชื่อถือเพิ่มขึ้นด้วย สำหรับการประมาณค่าความไม่แน่นอนที่รวบรวมข้อมูลได้ครอบคลุมทุกปัจจัยและครบถ้วนมากที่สุด คือ แนวทาง Top-down ที่ใช้ข้อมูลจากการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญ เพราะนอกจากข้อมูลที่ได้จากภายในห้องปฏิบัติการเองแล้ว ยังมีการเปรียบเทียบผลการทดสอบกับห้องปฏิบัติการอื่นสะท้อน Reproducibility ของวิธีได้อีกด้วย ซึ่งวิธีที่น่าเสนอเป็นวิธีทางเลือกทั้ง 2 วิธีนี้ครอบคลุมความไม่แน่นอนทั้ง 2 ประเภททั้งความไม่แน่นอน Type A ที่สามารถประมาณค่าได้โดยวิธีทางสถิติหรือการทำซ้ำ และความไม่แน่นอน Type B ที่แสดงถึงการสอบกลับได้ทางมาตรวิทยาผ่านการใช้วัสดุอ้างอิงรับรอง อย่างไรก็ตามในการศึกษาค้นคว้าที่ไม่ได้คิดรวมค่าความไม่แน่นอนที่มาจาก การชักตัวอย่าง (Sampling) ก่อนที่ตัวอย่างจะถูกส่งเข้าห้องปฏิบัติการ เมื่อนำผลการวิเคราะห์ที่มีค่าความไม่แน่นอนไปใช้ในการตัดสินความสอดคล้องกับเกณฑ์มาตรฐานต่างๆ ต้องพิจารณาอย่างระมัดระวัง เพราะอาจมีผลกระทบต่อผู้มีส่วนได้ส่วนเสียที่เกี่ยวข้องได้



ภาพที่ 5 แผนภูมิ (Flow chart) สำหรับการเลือกใช้แนวทางในการประมาณค่าความไม่แน่นอนวิธีต่างๆ

สรุป

การศึกษาการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด/การวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ พบค่าความไม่แน่นอนขยายสัมพัทธ์ (Relative Expanded Uncertainty) ที่ได้จากการคำนวณ 3 วิธี ได้แก่ 1) วิธี ISO GUM 2) วิธี Top-down ที่ใช้ QC data และ 3) วิธี Top-down ที่ใช้ข้อมูล PT data มีค่าเป็นร้อยละ 8.0, 31.7 และ 32.4 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิงแนะนำตามที่หน่วยงานระหว่างประเทศกำหนดที่ไม่เกินร้อยละ 50 พบว่าการคำนวณทั้ง 3 วิธีให้ค่าน้อยกว่าและสอดคล้องกับค่ากำหนด ทั้งนี้วิธี ISO GUM ให้ค่าน้อยที่สุดและแตกต่างจากวิธี Top-down ทั้ง 2 วิธี ซึ่งมีค่าที่ใกล้เคียงกันมาก หากพิจารณาความสมเหตุสมผลแล้วการรายงานค่าความไม่แน่นอนที่น้อยกว่าร้อยละ 10 เป็นค่าที่น้อยเกินไป ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวิเคราะห์สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูพืชในผักและผลไม้ คือ วิธีตามแนวทาง Top-down ซึ่งเป็นวิธีทางเลือกใหม่ทั้งสองวิธี และสามารถนำทั้งสองวิธีไปประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางวิชาดา จงมีวาสนา ผู้อำนวยการสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ สำหรับการให้คำปรึกษาในการเลือกใช้ค่าต่างๆ ประกอบการคำนวณและการจัดทำต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. Codex Alimentarius Commission Guideline CAC/GL 59-2006, Guidelines on estimation of uncertainty of results. [online]. 2006; [cited 2025 Jan 2]; [16 screens]. Available from: URL: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXG%2B59-2006%252Fcxg_059e.pdf.
2. ISO/IEC 17025:2017. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2017.

3. Alder L, Korth W, Patey AL, van der Schee HA, Schoeneweiss S. Estimation of measurement uncertainty in pesticide residue analysis. *J AOAC Int* 2001; 84(5): 1569-78.
4. Ellison SLR, Williams A, editors. Eurachem/CITAC guide CG 4: Quantifying uncertainty in analytical measurement. 3rd ed. United Kingdom: Eurachem; 2012.
5. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, Nordtest NT TR 537 edition 4. [online]. 2017; [cited 2025 Jan 2]; [56 screens]. Available from: URL: https://nordtest.info/images/documents/nt-technical-reports/NT_TR_537_edition4_English_Handbook_for_calculation_of_measurement_uncertainty_in_environmental_laboratories.pdf.
6. EUROLAB Technical Report 1/2007. Measurement uncertainty revised: alternative approaches to uncertainty evaluation. Paris, France: European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories; 2007.
7. Kilic M. Validation and measurement uncertainty of the determination of 24 elements in drinking water using ICP-MS. *Water Pract Technol* 2023; 18(12): 3299-314.
8. Valverde A, Aguilera A, Valverde-Monterreal A. Practical and valid guidelines for realistic estimation of measurement uncertainty in multi-residue analysis of pesticides. *Food Control* 2017; 71: 1-9.
9. Veiga-del-Bano JM, Cuenca-Martinez JJ, Andreo-Martinez P, Camara MA, Oliva J, Motas M. Uncertainty and associated risks in the analysis of pesticides in homogeneous paprika samples. *Food Chem* 2023; 429: 136963. (7 pages).
10. Ambrus A, Zentai A, Sali J, Ficzer I. Hidden contributors to uncertainty and accuracy of results of residue analysis. *Accredit Qual Assur* 2011; 16(1): 3-11.
11. SANTE 11312/2021 V2. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. [online]. 2024; [cited 2024 Nov 4]; [55 screens]. Available from: URL: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-11/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2021-11312.pdf.
12. Kim SH, Cho H, Heo SW, Hwang E. APMP-APLAC joint proficiency testing programs for elemental analysis in food with metrological reference values: assessment of participants' performance considering measurement uncertainties. *Talanta* 2023; 255: 124184. (13 pages).
13. Hakme E, Herrmann SS, Poulsen ME. European Union Proficiency Tests for pesticide residues in cereals and feedstuff, from 2007 to 2022- Data collection experience. *Food Control* 2023; 152: 109867. (11 pages).
14. BS EN 15662:2018. Foods of plant origin - determination of pesticide residues using GC-MS and/or LC-MS/MS following acetonitrile extraction/ partitioning and cleanup by dispersive SPE QuEChERS-method. [online]. 2018; [cited 2024 Nov 4]; [84 screens]. Available from: URL: <https://www.doc88.com/p-9039138664942.html?r=1>.
15. Kanrar B, Mandal S, Bhattacharyya A. Validation and uncertainty analysis of a multiresidue method for 67 pesticides in tea, tea infusion, and spent leaves using ethyl acetate extraction and gas chromatography/mass spectrometry. *J AOAC Int* 2010; 93(2): 411-24.
16. Banerjee K, Oulkar DP, Patil SB, Patil SH, Dasgupta S, Savant R, et al. Single-laboratory validation and uncertainty analysis of 82 pesticides determined in pomegranate, apple, and orange by ethyl acetate extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *J AOAC Int* 2008; 91(6): 1435-45.
17. Kilincer M, Ozyurek M. Comparison between top-down and bottom-up approaches in the estimation of measurement uncertainty in

- Bisphenol A analysis by HPLC-FLD. *J Chem Metrol* 2023; 17(2): 225-37.
18. Barwick VJ, Ellison SLR. VAM Project 3.2.1 Development and harmonisation of measurement uncertainty principles Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data. Report no. LGC/VAM/1998/088. Middlesex, UK: LGC (Teddington) Limited; 2000.
 19. Thompson M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. *Analyst* 2000; 125: 385-6.
 20. ISO 13528:2022. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 2022.
 21. Dybkaer R. From total allowable error via metrological traceability to uncertainty of measurement of the unbiased result. *Accred Qual Assur* 1999; 4(9): 401-5.
 22. ISO 5725-2. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2: Basic Method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method. Geneva, Switzerland: International Organization for Standardization; 1994.
-

Alternatives in Estimation of Measurement Uncertainty in Analysis of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits

Weerawut Wittayanan

Bureau of Quality and Safety of Food, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT It is a requirement under ISO/IEC 17025:2017 that laboratories can assess the measurement uncertainty associated with analytical results. Estimating measurement uncertainty (MU) is necessary in pesticide residue analysis to comply with relevant regulations. In this study, three calculation methods in MU estimation were examined. The conventional bottom-up method for MU estimation using the ISO GUM approach was compared with two alternative top-down methods, including the estimation of MU based on intra-laboratory quality control (QC) data and proficiency testing (PT) data. The aim was to determine the method of choice for the estimation of MU in routine reports. The first typical method of MU by the ISO GUM was the conventional method. On the other hand, two alternative top-down methods were used: one using the QC data of 28 spiked samples collected for two years, and the other using the 3-round PT data collected from 33 data points. The results showed the relative expanded uncertainty of the conventional ISO-GUM method and two alternative methods based on QC data and PT data were 8.0, 31.7, and 32.4%, respectively. By comparing with the 50% default value used by international regulatory authorities, all approaches met the requirements to demonstrate that the laboratory's MU did not exceed this value. However, the minimum value obtained from the ISO GUM was different from the two alternative top-down methods, which were comparable. The top-down methods were more appropriate and suitable alternatives for estimating measurement uncertainties.

Keywords: Pesticide residues, Vegetables and Fruits, Measurement Uncertainty, Top-down approach, Bottom-up approach