

ISO Guide 35:2017 — สารอ้างอิง: แนวทางการระบุลักษณะสมบัติและการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียร

(Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability)

1. ภาพรวมและวัตถุประสงค์หลัก (Overview & Core Purpose)

มาตรฐานนี้คืออะไร?

ISO Guide 35:2017 คือมาตรฐานแนวทางสากลฉบับสำคัญที่กำหนดหลักการทางสถิติและระเบียบวิธีทางมาตรวิทยา (Metrological & Statistical Principles) สำหรับกระบวนการผลิต **สารอ้างอิง (Reference Materials: RMs)** และ **สารอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Materials: CRMs)** มาตรฐานนี้เปรียบเสมือน "คัมภีร์ภาคปฏิบัติ" ที่ทำงานร่วมกับ **ISO 17034** (ข้อกำหนดความสามารถของผู้ผลิตสารอ้างอิง) เพื่อรับประกันว่าค่าสมบัติ (Property values) ที่ระบุไว้ในใบรับรองของ CRM จะมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และสอบกลับได้ทางมาตรวิทยา (Metrological Traceability)

ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อแก้ปัญหาอะไรในอุตสาหกรรม?

ในโลกของการทดสอบ วิเคราะห์ และสอบเทียบ (Testing, Analysis & Calibration) หากไม่มีมาตรฐานการวัดที่เป็นสากล ผลการวิเคราะห์เรื่องเดียวกันในแล็บต่างกัน หรือต่างประเทศกัน อาจให้ผลลัพธ์ที่ไม่ตรงกัน ซึ่งส่งผลกระทบอย่างรุนแรง เช่น:

- **ความขัดแย้งทางการค้าระหว่างประเทศ:** สินค้าอาหารหรือเคมีภัณฑ์ถูกตีกลับเนื่องจากห้องปฏิบัติการต้นทางและปลายทางวัดค่าสารตกค้างได้ไม่เท่ากัน
- **ข้อผิดพลาดทางวิทยาศาสตร์และสาธารณสุข:** การวินิจฉัยโรคทางการแพทย์ หรือการตรวจวัดมลพิษทางสิ่งแวดล้อมคลาดเคลื่อนจากความไม่เสถียรของสารสอบเทียบ
- **ปัญหาการเสื่อมสภาพของสารระหว่างการขนส่ง:** สารอ้างอิงที่ผลิตได้มาตรฐานในห้องแล็บ แต่อาจเสื่อมสภาพเมื่อเจอร้อนหรือแรงสั่นสะเทือนระหว่างจัดส่ง ทำให้ผู้นำไป calibration เครื่องมือผิดพลาด

ISO Guide 35 แก้ปัญหาเหล่านี้โดยการให้สูตรคำนวณและระเบียบวิธีวิจัยเพื่อพิสูจน์ว่า "สารนั้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันจริง และมีความเสถียรตลอดช่วงอายุการใช้งานและระหว่างส่งมอบ"

หัวใจสำคัญ (Core Philosophy)

หัวใจสำคัญของ ISO Guide 35 คือแนวคิด **"Total Measurement Uncertainty & Metrological Traceability"** (ความไม่แน่นอนของการวัดแบบบูรณาการและการสอบกลับได้ทางมาตรวิทยา)

แนวคิดหลัก: ค่าที่ปรากฏบน CRM ต้องไม่ใช่แค่ "ค่าเฉลี่ยจากการวัด" เท่านั้น แต่ต้องรวมถึง ความไม่แน่นอน (Uncertainty) ที่เกิดจาก:

- 1. กระบวนการวัดและระบุค่า (Characterization)
- 2. ความแตกต่างระหว่างหน่วยบรรจุ (Homogeneity)
- 3. ความเสื่อมสภาพระหว่างขนส่ง (Short-term stability)
- 4. ความเสื่อมสภาพจากการเก็บรักษารายปี (Long-term stability)

2. โครงสร้างและข้อกำหนดสำคัญ (Key Requirements & Structure)

โครงสร้างของ ISO Guide 35:2017 ถูกจัดแบ่งตามขั้นตอนทางวิทยาศาสตร์และสถิติอย่างเป็นลำดับขั้น เพื่อให้ผู้ผลิต RM นำไปปฏิบัติตามได้อย่างตรงจุด:

ข้อกำหนด (Clause)	หัวข้อหลัก	สาระสำคัญทางเทคนิค
Clause 6	ภาพรวมการผลิต RM (Overview of RM Production)	วางแผนการผลิต การประเมินความเสี่ยง และวงจรชีวิตของสาร
Clause 7	การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน (Assessment of Homogeneity)	การออกแบบแผนสุ่มตัวอย่าง การทดสอบแบบ ANOVA เพื่อหาค่า u_{bb}
Clause 8	การประเมินความเสถียร (Assessment and Monitoring of Stability)	การศึกษา Isochronous Design, Short-term & Long-term stability
Clause 9	การระบุลักษณะสมบัติ (Characterization of the Material)	วิธีการกำหนดค่าจริง (Assigned Value) ด้วยวิธีต่าง ๆ
Clause 10	การประเมินความไม่แน่นอนของการวัด (Evaluating Uncertainty)	การรวมงบประมาณความไม่แน่นอน (Uncertainty Budget)

เจาะลึกข้อกำหนดที่เป็น "ภาคบังคับ/หัวใจสำคัญ"

1. การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity Assessment - Clause 7)

องค์กรต้องพิสูจน์ว่า สารทุกขวด/ทุกหลอดใน Lot เดียวกันมีค่าสารเท่ากันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแบ่งออกเป็น:

- **Between-Unit Homogeneity:** ความแตกต่างระหว่างขวด (ขวดที่ 1 กับ ขวดที่ 500)
- **Within-Unit Homogeneity:** ความแตกต่างภายในขวดเดียวกัน (การดูดสารซ้ำจากขวดเดิม)

วิธีปฏิบัติทางสถิติ: ต้องใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (**One-way ANOVA**) เพื่อคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างขวด (s_{bb}) หากค่าความแปรปรวนของเครื่องมือวัดสูงกว่าความแปรปรวนระหว่างขวด ISO Guide 35 ให้ใช้สูตรคำนวณหาความไม่แน่นอนเนื่องจากความเป็นเนื้อเดียวกันสูงสุดที่เป็นไปได้ u_{bb}^* (Maximum possible heterogeneity):

$$u_{bb}^* = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}} \cdot \sqrt[4]{\frac{2}{v_{MS_{within}}}}$$

2. การประเมินและติดตามความเสถียร (Stability Assessment - Clause 8)

แบ่งออกเป็น 2 มิติอย่างชัดเจน:

- **Short-Term Stability (u_{sts}):** ประเมินความคงตัวภายใต้ภาวะสุดขั้วระหว่างการขนส่ง (Transport conditions) เช่น อุณหภูมิ 40°C หรือ 50°C เป็นเวลา 1-4 สัปดาห์
- **Long-Term Stability (u_{lts}):** ประเมินอายุการเก็บรักษา (Shelf life) ภายใต้สภาวะจัดเก็บปกติ เช่น -20°C เป็นเวลา 1-5 ปี

เทคนิคสำคัญ — Isochronous Design: ISO Guide 35 แนะนำให้ใช้การทดสอบแบบ "Isochronous" เพื่อตัดความบกพร่องของเครื่องมือวัด (Instrument Drift) ออกไป โดยการนำตัวอย่างไปเร่งสภาวะที่อุณหภูมิต่างๆ ตามเวลาที่กำหนด แล้วย้ายกลับมาเก็บที่อุณหภูมิอ้างอิงหลัก (Reference temperature เช่น -80°C) เพื่อนำมาวัดพร้อมกันในวันเดียวด้วยเครื่องมือชุดเดียวกัน

3. การระบุลักษณะสมบัติและการรวมความไม่แน่นอน (Characterization & Uncertainty - Clause 9-10)

กระบวนการกำหนดค่ารับรอง (Certified Value) สามารถทำได้ 4 แนวทางหลัก:

1. การใช้วิธีวัดปฐมภูมิ (Primary Method) โดยห้องปฏิบัติการเดียว
2. การใช้วิธีวัดตั้งแต่ 2 วิธีขึ้นไปที่มีหลักการต่างกันในห้องปฏิบัติการเดียว
3. การทดสอบเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ (Interlaboratory Study / Round Robin Test)
4. การเตรียมแบบสังเคราะห์ (Formulation) เช่น การชั่งตวงมวลสารบริสุทธิ์เพื่อผสม

สมการความไม่แน่นอนมาตรฐานรวมของ CRM (u_{CRM}):

$$u_{CRM} = \sqrt{u_{char}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{ts}^2}$$

เมื่อได้ u_{CRM} แล้ว จะต้องคูณด้วยปัจจัยครอบคลุม (Coverage Factor: k ซึ่งปกติ $k = 2$ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) เพื่อแปลงเป็น **Expanded Uncertainty (U_{CRM})**:

$$U_{CRM} = k \cdot u_{CRM}$$

3. การนำไปใช้งานและตัวอย่างจริง (Practical Implementation & Examples)

กรณีศึกษา (Case Study)

องค์กรสมมติ: บริษัท สยามเมโทรโลจี แอนด์ สแตนดาร์ด จำกัด (Siam Metrology & Standards Co., Ltd.)

ภารกิจ: ต้องการผลิตและออกใบรับรอง CRM ชนิด "นมผงอ้างอิงสำหรับตรวจวัดปริมาณแคดเมียม (Cadmium in Milk Powder CRM)" เพื่อจำหน่ายให้กับแล็บตรวจความปลอดภัยอาหารทั่วภูมิภาคอาเซียน

สถานการณ์จำลอง (Scenario) การทำงานจริงตามขั้นตอน ISO Guide 35

กิจกรรมที่ 1: การเตรียมสารและการประเมิน Homogeneity

- ทีมผลิตทำการผสมนมผงให้เป็นเนื้อเดียวกัน บรรจุใส่ขวดแก้วชาวดละ 20 กรัม จำนวนทั้งหมด **1,000 ขวด (1 Batch)**
- สุ่มตัวอย่างแบบ Stratified Random Sampling มาจำนวน **30 ขวด**
- ทีมวิเคราะห์นำทั้ง 30 ขวด มาย่อยสารและวัดค่าแคดเมียมด้วยเครื่อง ICP-MS โดยทำการวัด **ขวดละ 3 ซ้ำ (Replicates)** ในลำดับการวัดแบบสุ่ม (Randomized order)
- นักสถิติใช้โปรแกรมคำนวณ **One-way ANOVA** ได้ค่า $u_{bb} = 0.008$ mg/kg

กิจกรรมที่ 2: การทดสอบความเสถียร (Isochronous Stability Study)

- Short-term Stability Testing:** นำตัวอย่าง 12 ขวด ไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 1, 2, และ 4 สัปดาห์ (สภาวะจำลองขนส่งน้ำร้อน) นำมาเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิงที่เก็บที่ -80°C ได้ค่าความไม่แน่นอน $u_{sts} = 0.005$ mg/kg
- Long-term Stability Testing:** นำตัวอย่างไปเก็บที่ 4°C (อุณหภูมิจัดเก็บจริง) นำออกมาทดสอบ ทุกๆ 3, 6, 12, และ 24 เดือน ใช้การวิเคราะห์เชิงเส้น (Linear Regression) เพื่อประเมินความเอียงของเส้นความเสื่อมสภาพ ได้ค่า $u_{ts} = 0.012$ mg/kg

กิจกรรมที่ 3: การระบุค่าคุณลักษณะ (Characterization)

บริษัทเลือกใช้แนวทาง **Interlaboratory Comparison Study** โดยส่งตัวอย่างนมผงไปให้ห้องปฏิบัติการพันธมิตรที่ได้รับมาตรฐาน ISO/IEC 17025 จำนวน **8 แห่ง** ช่วยกันวิเคราะห์ คำนวณค่าเฉลี่ยถ่วงน้ำหนักและค่าความไม่แน่นอนของการระบุลักษณะสมบัติ ได้ค่า $u_{char} = 0.006 \text{ mg/kg}$

กิจกรรมที่ 4: การสรุปผลและออกใบรับรอง (Certification)

นักมาตรวิทยาคำนวณงบประมาณความไม่แน่นอนรวม (u_{CRM}):

$$\begin{aligned} u_{CRM} &= \sqrt{0.006^2 + 0.008^2 + 0.005^2 + 0.012^2} \\ &= \sqrt{0.000036 + 0.000064 + 0.000025 + 0.000144} = \sqrt{0.000269} \\ &\approx 0.0164 \text{ mg/kg} \end{aligned}$$

เมื่อคำนวณ Expanded Uncertainty (U_{CRM}) ที่ $k = 2$:

$$U_{CRM} = 2 \times 0.0164 = 0.033 \text{ mg/kg}$$

ผลลัพธ์ใบรับรอง (CRM Certificate):

- **Certified Value:** 0.512 mg/kg
- **Expanded Uncertainty (U_{CRM}):** $\pm 0.033 \text{ mg/kg}$ ($k = 2$, Confidence Level 95%)

4. ประโยชน์ที่จะได้รับและข้อควรระวัง (Benefits & Pitfalls)

+-----+	
ผลประโยชน์เชิงธุรกิจ	
+-----+	
1. ได้รับการยอมรับสากล (Global Market Access)	
2. ปูทางสู่การรับรอง ISO 17034 (RMP Accreditation)	
3. ลดความเสี่ยงในการถูกฟ้องร้องหรือสินค้ารับรองถูกยกเลิก	
+-----+	
v	
+-----+	
หลุมพรางที่ต้องระวัง (Pitfalls)	
+-----+	
[!] สับสนระหว่าง Method Precision กับ Homogeneity	
[!] มองข้าม Short-term Stability ระหว่างขนส่ง	

| [!] ตัดข้อมูล Outlier ออกตามใจชอบ โดยไม่มีเหตุผลทางเคมี |

| [!] ละเลยการติดตามความเสถียรหลังวางจำหน่าย (Post-market) |

+-----+

ผลลัพธ์เชิงบวกต่อธุรกิจและกระบวนการทำงาน

1. การยอมรับในระดับสากล (International Acceptance): สาร CRM ที่ผลิตโดยอิง ISO Guide 35 จะได้รับการยอมรับจากองค์กรตรวจวัดระดับโลก ทำลายข้อจำกัดด้านการส่งออก
2. ฐานฐานสู่การขอรับรอง ISO 17034: ISO Guide 35 คือ "วิธีปฏิบัติทางวิทยาศาสตร์" ที่ครอบคลุมการประเมินทางสถิติทั้งหมดซึ่ง ISO 17034 บังคับใช้
3. ป้องกันความเสียหายทางธุรกิจ: การคำนวณความไม่แน่นอนอย่างรัดกุมช่วยป้องกันไม่ให้ลูกค้าที่นำ CRM ไปใช้ เกิดความผิดพลาดในการสอบเทียบเครื่องมือ

หลุมพรางและข้อผิดพลาดที่มักเจอ (Common Mistakes)

1. สับสนระหว่าง Method Precision กับ Material Homogeneity: ผู้ผลิตหลายรายนำค่าความคลาดเคลื่อนของเครื่องมือวัด (Method Uncertainty) มาทับซ้อนกับค่าความไม่แน่นอนเดียวกันของสาร ทำให้การประเมิน u_{pb} ผิดพลาด
2. มองข้าม Short-Term Stability: สนใจเฉพาะการเก็บสารไว้ในตู้เย็นในแล็บ แต่ลืมประเมินว่าเมื่อใส่กล่องพัสดุส่งไปให้ลูกค้ากลางแดดเมืองไทย สารอาจเสื่อมสภาพไปเรียบร้อยแล้ว
3. การตัดข้อมูล Outlier ทางสถิติโดยไม่มีเหตุผลทางวิทยาศาสตร์: เมื่อเห็นข้อมูลกระโดด นักสถิติบางคนตัดทิ้งทันที ซึ่ง ISO Guide 35 ระบุชัดเจนว่า ห้ามตัดข้อมูลออก เพียงเพราะเหตุผลทางสถิติอย่างเดียว แต่ต้องมีหลักฐานเชิงเทคนิค/เคมีรองรับเสมอ (Technical justification)
4. ทำสถิติครั้งเดียวแล้วจบ: CRM ไม่ใช่การประเมินครั้งเดียวแล้วจบ แต่ต้องมีแผน Ongoing Stability Monitoring เพื่อคอยตรวจสอบสารในคลังสินค้าตามระยะเวลาที่กำหนด

5. แผนการเริ่มต้น (Actionable Roadmap)

หากองค์กรของคุณต้องการนำ ISO Guide 35 มาเริ่มใช้งานจริง นี่คือ 5 ขั้นตอนขับเคลื่อนด่วน (Quick Wins):

[Step 1] ---> [Step 2] ---> [Step 3] ---> [Step 4] ---> [Step 5]

ประเมินทักษะ ยืนยันวิธีวัด ออกแบบการสุ่ม ประเมินสถิติ จัดทำใบรับรอง

และช่องว่าง (Method Val.) และสถานะเสถียร คำนวณ u_{CRM} และวางแผนติดตาม

1. Step 1: Gap Assessment & Metrological Competence Building

- ตรวจสอบความพร้อมของบุคลากรด้านทักษะสถิติขั้นสูง (ANOVA, Linear Regression, Uncertainty Evaluation)
- จัดอบรมบุคลากรด้านข้อกำหนด ISO Guide 35:2017 และ ISO 17034

2. Step 2: Measurement Method Validation

- ตรวจสอบว่าวิธีการทดสอบในห้องปฏิบัติการมีความเที่ยงตรง (Precision) และความแม่นยำ (Repeatability) สูงพอ
- วิธีการวัดต้องสามารถแยกแยะความแตกต่างเล็กน้อยระหว่างขวดสารได้ มิฉะนั้นจะไม่สามารถประเมิน Homogeneity ได้

3. Step 3: Design Homogeneity & Stability Protocols

- จัดทำเอกสารขั้นตอนการปฏิบัติงาน (SOP) สำหรับการสุ่มตัวอย่างตามหลักสถิติ
- วางแผนการทดสอบแบบ **Isochronous Design** ทั้ง Short-term (สภาวะขนส่ง) และ Long-term (สภาวะจัดเก็บ)

4. Step 4: Execute Testing & Build Uncertainty Budget

- ดำเนินการทดสอบตามแผน รวบรวมข้อมูลดิบ
- คำนวณหาค่าความไม่แน่นอน u_{char} , u_{bb} , u_{sts} , u_{lts} และนำมารวมเป็นงบประมาณความไม่แน่นอน U_{CRM}

5. Step 5: Certificate Generation & Post-Market Monitoring

- ออกใบรับรองสารอ้างอิงให้ถูกต้องตามข้อกำหนด **ISO Guide 31** (Contents of certificates and labels)
- กำหนดปาลินทินการติดตามความเสถียรต่อเนื่อง (Ongoing Stability Surveillance) ตลอดช่วงอายุการวางจำหน่าย