

EDITOR: **David Milde**

# **KVALIMETRIE**

**24**

## **Návaznost chemických měření**

Pokyn Eurachem/CITAC

## **Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání**

Eva Klokočnicková, David Milde, Alena Nižnanská



**Eurachem-ČR**

Řada příruček pro laboratoře

První část:

**Návaznost chemických měření**

Přeloženo z: Metrological Traceability in Chemical Measurements, 2nd Edition in English, Eurachem/CITAC Guide, 2019, ISBN 978-0-948926-34-1

Překlad: David Milde a Zbyněk Plzák

Druhá část:

**Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání**

Autorský kolektiv: Ing. Eva Klokočnicková, doc. Ing. David Milde, Ph.D., Ing. Alena Nižnanská

Editor: David Milde

Poděkování za finanční podporu patří MŠMT v rámci projektu LTV17015 a ÚNMZ v rámci projektu PRM 2019 VII/6/19.

Vydal Eurachem-ČR, z.s., Pasteurova 3544/1, 400 01 Ústí nad Labem, jako 24. publikaci v řadě příruček KVALIMETRIE.

První vydání, Ústí nad Labem 2019

Copyright © Eurachem-ČR 2019

Copyright © 2019, autorská práva k Pokynu Eurachem/CITAC jsou majetkem přispívajících autorů

**ISBN 978-80-86322-12-4**

---

# KVALIMETRIE

24

1. část

**Návaznost chemických měření**  
Pokyn Eurachem/CITAC

---





## Pokyn Eurachem/CITAC

# Návaznost chemických měření

*Průvodce k dosažení srovnatelných výsledků chemických měření*

## 2. anglické vydání (2019)

### Editoři

S. L. R. Ellison (LGC, UK)

A. Williams (UK)

### Složení pracovní skupiny

<i>S Ellison, předseda</i>	<i>LGC, Teddington, UK</i>
<i>B Magnusson, tajemník</i>	<i>Trollboken AB, Sweden</i>
<i>R Bettencourt da Silva</i>	<i>Univ. Lisboa, Portugal</i>
<i>W Bremser</i>	<i>BAM, Germany</i>
<i>A Brzyski</i>	<i>Eurachem Poland</i>
<i>E Christie</i>	<i>Eurachem Ireland</i>
<i>R Kaarls</i>	<i>Netherlands</i>
<i>R Kaus</i>	<i>Eurolab DE, Germany</i>
<i>I Kuselman</i>	<i>CITAC</i>
<i>I Leito</i>	<i>Univ Tartu, Estonia</i>
<i>O Levgarg</i>	<i>Ukrmetrteststandart, Ukraine</i>
<i>R Macarthur</i>	<i>FERA, UK</i>
<i>P Pablo Morillas</i>	<i>EUROLAB-España, Spain</i>
<i>F Pennecchi</i>	<i>CITAC</i>
<i>T Naykki</i>	<i>SYKE, Finland</i>
<i>P Yolcu Omeroglu</i>	<i>Eurachem TR, Turkey</i>
<i>O Pellegrino</i>	<i>IPQ/DMET, Portugal</i>
<i>M Rösslein</i>	<i>EMPA St. Gallen, Switzerland</i>
<i>P Robouch</i>	<i>JRC, EU</i>
<i>E Sahlén</i>	<i>RISE, Sweden</i>
<i>A Van der Veen</i>	<i>NMI, Netherlands</i>
<i>M Walsh</i>	<i>Eurachem Ireland</i>
<i>W Wegscheider</i>	<i>Montan Universität Leoben, Austria</i>
<i>A Williams</i>	<i>UK</i>
<i>R Wood</i>	<i>RSC, UK</i>

### Poděkování

Tento dokument byl vytvořen především pracovní skupinou Eurachem/CITAC, pracující ve složení, které je uvedeno vlevo. Editoři jsou zavázáni všem jejím členům a organizacím a všem dalším, kteří přispěli svými připomínkami, návrhy a pomocí.

Vytvoření tohoto pokynu bylo zčásti podpořeno smlouvou s UK Department for Business, Energy & Industrial Strategy jako součást programu Chemical and Biological Programme.

## Předmluva

Široká škála sociálních a ekonomických činností se jak na domácím, tak na mezinárodním poli opírá o výsledky měření. Tisíce chemických měření slouží každodenně k rozhodování o bezpečnosti potravin, o zdraví a o ochraně životního prostředí. Globální trh též potřebuje přesná a spolehlivá měření, aby bylo možno minimalizovat technické překážky obchodu. Ve všech těchto oblastech nabývá na důležitosti koncept „zkoušet jednou, akceptovat všude“. Potřeba spolehlivých výsledků měření, jež mohou být porovnány v místě a v čase, nebyla nikdy větší. Spolehlivá měření kriticky závisejí na kompetentním personálu, validovaných a prověřených postupech, komplexních systémech kvality a na návaznosti k vhodným referencím měření. Uznávání těchto požadavků podtrhuje rostoucí zavádění norem a systémů kvality měření, jako jsou akreditační systémy laboratoří podle ISO/IEC 17 025:2017 [1] a ve farmaceutickém průmyslu požadavky SLP a SVP (angl. GLP a cGMP).

Pro dosažení porovnatelnosti výsledků nezávisle na času a místě je nutno navázat všechna individuální měření k nějaké společné, stabilní referenci nebo standardu měření. Výsledky pak mohou být porovnávány prostřednictvím jejich vztahu k této referenci. Tato strategie propojování výsledků k jedné referenci se nazývá „metrologická návaznost“.

Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM) [2], definuje metrologickou návaznost jako

*„Vlastnost výsledku měření, pomocí níž může být výsledek vztažen ke stanovené referenci přes dokumentovaný nepřerušovaný řetězec kalibrací, z nichž každá se podílí svým příspěvkem na stanovené nejistotě měření.“*

Z této definice vyplývá potřeba poskytovat na národní a mezinárodní úrovni široce akceptovatelné referenční standardy (etalony) a na úrovni jednotlivých laboratoří pak schopnost demonstrovat potřebné vazby na tyto standardy. Demonstrování příslušné metrologické návaznosti je požadavkem ISO/IEC 17025:2017 [1].

Na národní a mezinárodní úrovni se srovnatelnost mezi národními systémy měření průběžně zlepšuje vzájemnými porovnáními standardů měření (etalonů) na úrovni národních metrologických institutů (NMI). V roce 1999 podepsaly členské státy Metrické konvence mnohostranné Ujednání o vzájemném uznávání jako odpověď na potřebu otevřeného, transparentního a komplexního schématu, který by poskytoval uživatelům spolehlivé kvantitativní informace o porovnatelnosti národních metrologických systémů.

Role jednotlivých měřicích a zkušebních laboratoří pak spočívá v pečlivém používání příslušných měřicích a referenčních standardů pro kalibraci a kontrolu jejich měřicích procesů. Ve stále více regulovaném prostředí jsou laboratoře nuceny pod stále větším tlakem prokazovat, že používání standardů měření (včetně certifikovaných

referenčních materiálů a jakýchkoliv dalších referencí) je skutečně vhodné i postačující.

To platí zejména v analytické chemii. Mnoho fyzikálních veličin, které se používají při rutinních chemických měřeních, je podloženo rozsáhlými a účinnými návaznými kalibračními systémy, což činí prokazování návaznosti těchto veličin relativně snadnou záležitostí. Hodnoty chemických veličin jsou však typicky odvozeny ze široké škály referenčních materiálů a dat s různou historií a původem a jsou-li vybrány jako reference, vyžadují zvláštní péči a posouzení. Pro chemická měření je také typické, že vyžadují jak potvrzení identity, tak i měření množství. Dalším problémem je měření složek v komplexních maticích, které mohou ovlivnit zdánlivou hodnotu měřené složky. Dále je pro mnohé potřebné chemické výsledky běžné, že jsou založeny na měření experimentálně definovaných složek, například „extrahovatelné kadmium“ (někdy se používá termín „měřená veličina definovaná postupem“). V takových případech není vždy lehké identifikovat potřebnou návaznost nebo prokázat, že je uváděná návaznost vyhovující.

Účelem předkládaného dokumentu je poskytnout vhodný návod ke zjištění požadavků na návaznost a k prokazování návaznosti výsledků měření a zkoušení. Dokument popisuje konsistentní soubor zásad, které mohou laboratoře použít k prokazování návaznosti výsledků svých měření, a věnuje zvláštní pozornost používání vhodných referencí chemických veličin.

První vydání této příručky vyšlo v roce 2003. Druhé vydání doplňuje příručku tak, aby odrážela změny v terminologii uvedené ve třetím vydání VIM [2]. Podrobnou diskuzi terminologie v revidovaném VIM lze nalézt v příručce Eurachem „Názvosloví analytického měření: Úvod do 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku“ [3].

**OBSAH**

<b>PŘEDMLUVA</b> .....	<b>6</b>
<b>1 ÚČEL A OBLAST POUŽITÍ</b> .....	<b>9</b>
<b>2 ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>3 PRINCIPY METROLOGICKÉ NÁVAZNOSTI</b> .....	<b>12</b>
3.1 MĚŘENÉ VELIČINY, POSTUPY A VÝSLEDKY .....	12
3.2 MĚŘICÍ JEDNOTKY A STUPNICE .....	12
3.3 KALIBRACE.....	13
3.4 VLIVY NA VÝSLEDKY MĚŘENÍ.....	14
3.5 ŘÍZENÍ STÁLÝCH PODMÍNEK.....	14
3.6 ŘÍZENÍ PROMĚNNÝCH KALIBRAČNÍMI STANDARDY .....	15
3.7 SPOLEČNÉ REFERENCE DOVOLUJÍ LIBOVOLNOU DEFINICI .....	17
3.8 VÝZNAM VÝVOJE METODY.....	17
3.9 VÝZNAM VALIDACE METODY.....	18
3.10 NÁVAZNOST A NEJISTOTA MĚŘENÍ.....	19
<b>4 METROLOGICKÁ NÁVAZNOST: MEZINÁRODNÍ DEFINICE</b> .....	<b>20</b>
<b>5 MEZINÁRODNÍ SYSTÉM VELIČIN A JEDNOTEK (SI)</b> .....	<b>21</b>
<b>6 ZAJIŠTĚNÍ NÁVAZNOSTI</b> .....	<b>22</b>
6.1 ZÁKLADNÍ ČINNOSTI PŘI ZAJIŠŤOVÁNÍ NÁVAZNOSTI.....	22
6.2 SPECIFIKOVÁNÍ MĚŘENÉ VELIČINY A POŽADOVANÉ NEJISTOTY .....	22
6.3 VÝBĚR VHODNÉHO POSTUPU.....	23
6.4 VALIDACE.....	24
6.5 VÝZNAM RŮZNÝCH OVLIVŇUJÍCÍCH VELIČIN.....	25
6.6 VÝBĚR A APLIKACE VHODNÝCH STANDARDŮ MĚŘENÍ .....	26
6.7 VYHODNOCENÍ NEJISTOTY .....	26
<b>7 VOLBA REFERENCE</b> .....	<b>27</b>
7.1 ÚVOD.....	27
7.2 FYZIKÁLNÍ MĚŘENÍ.....	27
7.3 POTVRZENÍ IDENTITY .....	28
7.4 KALIBRACE CERTIFIKOVANÝMI REFERENČNÍMI MATERIÁLY .....	28
7.5 KALIBRACE JINÝMI MATERIÁLY .....	29
7.6 KALIBRACE S VYUŽITÍM REFERENČNÍCH DAT.....	30
7.7 REFERENČNÍ MATERIÁLY PRO VÝVOJ METODY, VALIDACI A VERIFIKACI.....	31
7.8 POSOUZENÍ NÁVAZNOSTI KOMERČNÍCH REFERENČNÍCH MATERIÁLŮ .....	31
<b>8 UVÁDĚNÍ NÁVAZNOSTI</b> .....	<b>32</b>
<b>9 ZÁVĚR</b> .....	<b>33</b>
<b>PŘÍLOHA: PŘÍKLADY ZAJIŠTĚNÍ NÁVAZNOSTI</b> .....	<b>34</b>
A1 PŘÍPRAVA KALIBRAČNÍHO STANDARDU.....	35
A2 UVOLŇOVÁNÍ KADMIA Z KERAMICKÝCH VÝROBKŮ .....	39
<b>LITERATURA</b> .....	<b>44</b>



## 1 Účel a oblast použití

**1.1** Tato příručka poskytuje podrobný návod k zajištění metrologické návaznosti v kvantitativní chemické analýze, který vychází z definice v Mezinárodním metrologickém slovníku (VIM) [2]. Ačkoliv je především určen zkušebním a měřicím laboratorům provádějícím chemická měření, lze uvedené principy použít od rutinní analýzy až po základní výzkum. Dokument má též pomoci laboratorům při plnění požadavků normy ISO/IEC 17 025 [1] na návaznost výsledků.

**1.2** Některé obecné oblasti, v nichž jsou potřebná chemická měření a v nichž lze použít zásady této příručky, jsou

řízení kvality a prokazování kvality ve zpracovatelském průmyslu,

měření a zkoušení při prokazování shody v regulované sféře,

měření a zkoušení používající dohodnutý postup,

kalibrace standardů (etalonů) a zařízení,

měření spojená s vývojem a certifikací referenčních materiálů,

výzkum a vývoj.

**1.3** Ačkoliv tato příručka pojednává o nejistotě měření a validaci metod ve vztahu k jejich úloze v návaznosti, není ani v jednom případě účelem jejich detailní popis. Čtenáři najdou další příručky v odkazech kapitoly Literatura. Další podrobnosti o terminologii lze nalézt v příručce Eurachem „Názvosloví analytického měření: Úvod do 3. Vydání Mezinárodního metrologického slovníku“ [3] a o validaci v příručce Eurachem „Vhodnost analytických metod pro daný účel“ [4]. Další odkazy lze nalézt v „Eurachem Reading List“, který je dostupný na <http://www.eurachem.org>.

**1.4** Návaznost je nutná, ale není pro spolehlivé výsledky postačující; jsou zapotřebí ještě další opatření. Proto se v celé této příručce předpokládá, že se používají k zajišťování a řízení kvality účinná opatření, ať již při měření nebo posuzování výkonnosti měřicího postupu, která zajišťují, že je měřicí proces stabilní a pod kontrolou. Taková opatření běžně zahrnují např. dostatečně kvalifikovaný personál, řádné udržování přístrojů a činidel, používání dokumentovaných měřicích postupů a regulačních diagramů. V odkazu [6] lze nalézt další informace o postupech zabezpečování kvality v analytické chemii.

## 2 Úvod

**2.1** Dobré analytické výsledky jsou podmínkou spolehlivého rozhodování. Klíčovou vlastností dobrých výsledků je srovnatelnost, schopnost porovnat výsledky smyslupně bez ohledu na to, kde vznikly. Srovnatelnost se zajišťuje mezi jiným návazností ke konzistentní a uznávané soustavě jednotek měření a stupnic. Pro většinu výsledků chemických měření to nejlépe zajišťuje soustava mezinárodně uznávaných jednotek SI [5]. Přestože je známo, že se mohou používat i jiné jednotky, tato příručka předpokládá, že měření se vyjadřují v SI jednotkách nebo v jednotkách, které z nich vycházejí.

**2.2** Návaznost není v chemické analýze novým pojmem. Před zavedením automatizace a instrumentálních technik byly odměrné a gravimetrické metody hlavním pracovním nástrojem chemické laboratoře. I když průměrný analytik nemusel explicitně hovořit o nejistotě a návaznosti nebo znát jejich význam, základní prvky k jejich dosažení se přesto používaly. Například velká péče se věnovala a věnuje přípravě a kalibraci odměrných roztoků, včetně jejich vazby na SI. U složitějších metod měření není vždy lehké identifikovat požadavky na návaznost nebo prokázat, že je uváděná návaznost odpovídající. Účelem předkládaného dokumentu je poskytnout návod ke zjišťování požadavků na návaznost a k vytvoření požadované návaznosti.

**2.3** Role návaznosti při chemických měřeních byla předmětem mnohých diskusí jak na vědeckých setkáních, tak i v literatuře. Tento dokument vychází z následujících zásad, které jsou plně v souladu s definicí návaznosti podle VIM:

- Vývoj metody stanovuje postup měření k získání přijatelného odhadu hodnoty měřené veličiny. Součástí tohoto postupu měření je rovnice, která popisuje, jak vypočítat výsledek měření z dalších měřených veličin a specifikuje podmínky, za kterých se předpokládá platnost této rovnice.
- Validace prokazuje, že tato rovnice a soubor podmínek jsou dostatečně úplné pro daný účel.

Prokazování návaznosti znamená ujištění, že hodnoty takto měřených veličin a hodnoty specifikovaných podmínek jsou ve vztahu ke vhodným standardům. Toho se dosahuje kalibrací s použitím vhodných standardů měření. Kalibrace je nezbytná pro kritické veličiny při měření (viz kapitola 6.5), pro méně rozhodující hodnoty může být požadovaná kontrola méně náročná.

Tyto hlavní zásady shrnuje rámeček vpravo. Podrobně o nich pojednává kapitola 3 a ve vztahu k mezinárodně přijaté definici návaznosti kapitola 4.

**2.4** Tento dokument identifikuje následující klíčové prvky zajištění návaznosti:

i) Specifikování měřené veličiny, předmětu měření a cílové nejistoty měření.

ii) Výběr vhodné metody k odhadu hodnoty, tedy měřicího postupu, spolu s výpočtem – rovnicí – a podmínkami měření.

iii) Prokázání pomocí validace, že výpočet a podmínky měření zahrnují všechny „ovlivňující veličiny“ (uvedené jako  $x_1$  až  $x_n$  v rámečku), které mohou významně ovlivnit výsledek nebo hodnotu přiřazenou standardu.

iv) Určení relativního významu každé ovlivňující veličiny.

v) Výběr a použití vhodných standardů měření.

vi) Odhad nejistoty.

O těchto činnostech pojednávají jednotlivě kapitoly 6 a 7. Další dokumenty z této série poskytnou další základní rady. Především je to Eurachem/CITAC pokyn „Průvodce kvalitou v analytické chemii“ [6], který pojednává o zavádění systémů kvality při chemických měřeních. Příručka EURACHEM „Vhodnost analytických metod pro daný účel“ [4] poskytuje podrobný návod, jak validovat metody (položka iii výše), zatímco pokyn Eurachem/CITAC „Stanovení nejistoty analytického měření“ [8] popisuje podrobně vyhodnocení nejistoty měření (položka vi). V předkládané příručce se tyto podrobnosti neopakují, ale každé z těchto speciálních témat je uvedeno jen stručně, aby bylo zřejmé, jakou roli zastává při zajišťování návaznosti.

### Souhrn hlavních zásad

1. Předpokládáme, že přijatelný odhad hodnoty měřené veličiny  $y$  lze získat z výrazu

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_m) \Big|_{x_{m+1}, x_{m+2}, \dots, x_n} \quad (1)$$

kde  $y$  se vypočítá z  $x_1, \dots, x_m$  vztahem  $f$ , který platí za podmínek měření specifikovaných pomocí  $x_{m+1} \dots x_n$ .

2. Validace za použití vhodných testů ověří, zda je výše uvedená rovnice adekvátní.
3.  $y$  se pak považuje za *návaznou* k  $x_1, \dots, x_n$
4. Jestliže je rovnice 1 adekvátní, pak pro prokázání návaznosti k vhodným referencím je pouze zapotřebí, aby všechny hodnoty  $x_1$  až  $x_n$  byly samy o sobě návazné nebo to byly definované hodnoty.\*

V praxi stačí, aby hodnoty  $x_1$  až  $x_n$  byly pod dostatečnou kontrolou a aby poskytovaly požadovanou nejistotu  $y$ . Pro kritické veličiny to vyžaduje kalibraci s návazností k dalším referenčním hodnotám. Pro méně kritické veličiny může být i méně náročná kontrola vyhovující.

\* *Definované hodnoty, např. hodnoty konverzních faktorů, matematické konstanty nebo hodnoty konstant, které vztahují některé SI jednotky k základním konstantám.*

## 3 Principy metrologické návaznosti

### 3.1 Měřené veličiny, postupy a výsledky

**3.1.1** *Měřená veličina* je „veličina, která má být měřena“ jako je hmotnost, objem nebo koncentrace. Je mimořádně důležité, aby veličina, která se bude měřit, byla jasně a jednoznačně definována. Například objem je definován při určité teplotě a koncentrace se vztahuje k určitému analytu a chemické formě. Některé měřené veličiny jsou definovány pomocí použitého postupu, například ‚extrahovatelné olovo‘ vyžaduje specifikaci extrakčních podmínek\*. (Měřené veličiny, které jsou definovány pomocí postupu, se někdy nazývají ‚empirické‘ nebo ‚definované postupem‘, na rozdíl od ‚racionálních‘ měřených veličin, které je možno popsat bez odkazu na určitý postup.)

**3.1.2** *Měřicí postupy* jsou postupy určené k získání *odhadů* hodnot měřených veličin. Postupy se vyvíjejí a dokumentují tak, aby poskytovaly spolehlivé odhady a pro potřeby tohoto dokumentu budeme předpokládat, že daný postup byl přijat, protože poskytuje odhad odpovídající danému účelu a obsahuje všechny nutné podmínky měření a korekce.

**3.1.3** *Výsledky* jsou hodnoty připisované měřené veličině na základě měření zkušebních položek vhodným postupem. Výsledky jsou tudíž odhady měřených veličin. Vlastnostmi výsledků jsou nejistota, a jak se ukáže, návaznost.

### 3.2 Měřicí jednotky a stupnice

**3.2.1** Porovnání výsledků měření má smysl a je možné pouze tehdy, jestliže jsou výsledky vyjádřeny ve stejných *jednotkách*. Tohoto lze dosáhnout tím, že se výsledky měření uvádějí jako násobky dané jednotky; například hmotnost 2,1 kilogramu je hmotnost rovná 2,1násobku hmotnosti mezinárodního kilogramu. Hmotnost mezinárodního kilogramu je ‚jednotka hmotnosti‘. Aby bylo možno vyjádřit jednu hmotnost jako násobek jiné, musí se obě navzájem porovnat. Je nepraktické porovnávat všechny hmotnosti s mezinárodním kilogramem. Porovnávání je tudíž obvykle nepřímé prostřednictvím standardů měření (etalonů), které se dále kalibrují dalšími standardy (etalony). To vytváří řetězec porovnávání vedoucí k odpovídající primární jednotce nebo k přijaté ‚realizaci‘ jednotky. Dostupnost konzistentních jednotek měření prostřednictvím referenčních standardů (etalonů) je základní funkcí návaznosti, bez ní by měření nemělo smysl.

**3.2.2** *Stupnice* měření je jednoduše dohodnutý způsob používání jednotek měření a stanovení počátku (bod ‚nula‘). Hmotnost, délka a koncentrace se vyjadřují pomocí lineárních stupnic měření s nulou v počátku (jsou to ‚relativní stupnice‘); pH například používá logaritmickou stupnici s referencí na hodnotu aktivity vodíkových iontů

---

\* Přesně řečeno „extrahovatelné olovo“ je zkratkovým vyjádřením pro přesnější termíny, jako jsou „koncentrace látkového množství...“ nebo „hmotnostní zlomek...“ extrahovatelného olova.

rovnou 1. Když se uvádí, že dva výsledky jsou ‚na stejné stupnici měření‘, jsou oba vyjádřeny ve stejných jednotkách a používají stejný počátek.

### 3.3 Kalibrace

**3.3.1** V oddílu 2.4 jsme uvedli, že kalibrace je pro vytvoření návaznosti základním procesem. Prostřednictvím kalibrace v praxi dosahujeme návaznost k vhodným standardům měření (etalonům). Následující odstavce uvádějí přehled mezinárodních definic kalibrace a pojednávají o kalibraci součástí měřicího systému i celých systémů.

**3.3.2** Ve VIM je kalibrace popsána jako proces vytvoření vztahu mezi hodnotami udávanými měřicím přístrojem nebo systémem a hodnotami, které jsou realizovány standardy měření (etalony).

**3.3.3** Kalibrace se může aplikovat (a obvykle aplikuje) na části měřicího systému. Zejména přístroje jsou obvykle kalibrovány odděleně a pak se použijí jako součást většího měřicího systému. Přístroje, jako jsou váhy a teploměry, se nekalibrují tak často, protože jsou relativně stabilní ve střednědobém intervalu, přístroje jako GC nebo ICP mají tendenci ke změnám mnohem větší a kalibrují se obvykle častěji, často ve stejné sérii se sadou vzorků. Za tímto účelem se jako kalibrační látky běžně používají čisté chemikálie, i když se mohou přidávat k matici podobné, jakou budou mít očekávané vzorky, aby se redukoval vliv matrice. Za těchto okolností se hodnoty standardů měření objeví ve výpočtu výsledku (pravděpodobně nepřímě) a je tedy jasné, že takový výsledek je k těmto referenčním hodnotám návazný.

**3.3.4** V některých případech se kalibrační standardy podrobují celému měřicímu procesu. Například matricový referenční materiál se může analyzovat současně se zkoušenými vzorky a použit ke korigování výsledků, nebo je možné použít známé množství látky (,spike‘, přídavek) k odhadu analytické výtěžnosti a eventuální korekci výsledku na aktuální výtěžnost série měření. Zjevně když se takové postupy použijí, musí se hodnota referenčního materiálu nebo množství použitého přídavku objevit ve výpočtu výsledku, možná prostřednictvím ‚faktoru výtěžnosti‘, a takové výsledky jsou proto návazné k použité hodnotě.

*Poznámka: Tento postup mlčky předpokládá, že výtěžnost přídavku (spiku) je postačující korekcí. Viz též poznámka o spikování v oddílu 6.4.1.*

**3.3.5** Nakonec si můžeme představit ještě jednu situaci. V průběhu vývoje a validace metody se můžeme rozhodnout, že se bude provádět fixní korekce výsledků všech budoucích měření, vycházející z výsledků získaných pomocí referenčního materiálu, který se nepoužívá k pravidelné každodenní kalibraci. To je také kalibrace, a jelikož se tato hodnota objeví ve výpočtu každého výsledku, má smysl mluvit o návaznosti k příslušné hodnotě (hodnotám).

*Poznámka: Toto by se nemělo směřovat s přímou kontrolou vychýlení (bias) s použitím, např. matricového referenčního materiálu, která neúští v korekci výsledků.*

**3.3.6** Uvědomme si, že kalibrace zůstává v platnosti jen tak dlouho, dokud zařízení zůstává stabilní. V praxi se to zajistí prostřednictvím vhodného řízení kvality (QC). Intervaly mezi rekalibracemi musí odrážet míru odchýlení v čase (driftu).

### 3.4 Vlivy na výsledky měření

**3.4.1** Každé měření je možno si představit jako jedno nebo více stanovení kombinovaných tak, aby poskytovala za stanovených podmínek výsledek. Například analýza řekněme kontaminantů ve vzorku zeminy typicky zahrnuje kvantitativní určení hmotnosti odebrané zeminy a stanovení koncentrace analytu v měřeném roztoku extraktu vzorku. Všechny tyto parametry jsou do určité míry vymezeny podmínkami měření. Hmotnost se stanovuje vážením, buď na vzduchu („konvenční hmotnost“) nebo ve vakuu; objem se typicky bere jako ‚objem při 20 °C‘ a podmínky extrakce – ať již úplné extrakce či definované částečné extrakce – se běžně definují pomocí parametrů času, rozpouštědla a teploty. Hmotnost, koncentrace a možná i objem se ovšem mění od jednoho měření ke druhému, jak se berou k analýze různé velikosti vzorků, a představují při výpočtu konečného výsledku měřené hodnoty ‚proměnných‘. Podmínky extrakce a další podmínky se obvykle udržují blízko nominálních hodnot a nepředpokládá se, že by se měnily; jsou to stabilní podmínky a obecně nejsou do výpočtu zahrnovány.

**3.4.2** Když se u určitého postupu měření změní stabilní podmínky, změní se rovněž i hodnota výsledku. Když se například významně změní podmínky extrakce vůči podmínkám stanoveným v postupu, bude výsledek chybný stejně, jako kdyby byla chybná hodnota hmotnosti nebo koncentrace. Vyplývá z toho, že analytický výsledek ovlivňují jak stabilní podmínky měření vyžadované postupem, tak i další hodnoty naměřené a dosazené do výpočtu výsledku. Budou-li buď stabilní podmínky, nebo hodnoty měřených proměnných veličin nesprávné, bude rovněž nesprávný výsledek. Tyto měřené hodnoty, ať již se používají ve výpočtu nebo patří mezi stanovené podmínky, jsou ‚ovlivňujícími veličinami‘ měření – všechny mají vliv na výsledek a všechny musí být pod kontrolou. Nejjednodušší je nejprve se podívat, jak jsou stále podmínky udržovány. Řízením proměnlivých parametrů se budeme zabývat později.

### 3.5 Řízení stálých podmínek

**3.5.1** Jestliže chtějí dva vědci získat stejný odečet měření, pak je nejjednodušší cestou použít stejný měřicí přístroj. Pokračujme v příkladu analýzy zemin z hlediska jednoho jednoduchého fyzikálního měření – je-li významná pevná doba extrakce, pak dva analytici by k určení doby extrakce měli používat stejné hodiny. Pokud se tak stane, je možné prohlásit, že všechny doby extrakce a následně analytické výsledky vykazují *návaznost* k času, který hodiny ukazují. Tyto hodiny představují standard měření času.

**3.5.2** To funguje dobře a (přinejmenším pro daný postup) ani nezávisí na tom, zda hodiny jdou správně. Dokud jsou hodiny ve shodě a pokud každý použije stejné hodiny a odměří stejný časový úsek (tj. každý výsledek bude mít návaznost k době trvání extrakce podle těchto hodin), pak každý z účastníků bude sdílet stejný soubor podmínek a měření doby extrakce nezpůsobí rozptýlení výsledků.

**3.5.3** Tento způsob je však při bližším zkoumání nepoužitelný. Je zřejmě nepraktické používat stejné hodiny různými vědci na mnoha místech a v různém čase. Potřebujeme

tedy více hodin, které všechny ukazují stejný čas. Nejjednodušším řešením je zajistit, aby se všechny hodiny porovnaly s hlavními hodinami a prokázat, že odměřují stejný časový úsek, nebo je korigovat tak, aby mohl být správný časový úsek odvozen z odečtu na hodinách (to je ‚kalibrace‘ vůči hlavním hodinám). Tak každý analytik, který používá vlastní hodiny, odměří stejnou dobu extrakce. A nyní je možné nejen prohlásit, že výsledky každého analytika mají návaznost k časovému úseku podle jeho hodin, ale též že všechny vykazují návaznost k hlavním hodinám. Je to návaznost k jednomu standardu měření – v tomto příkladu k hlavním hodinám – která vytváří konzistentní měření v různých laboratořích.\*

**3.5.4** Toto vede k jednomu klíčovému pravidlu:

– *návaznost ke společným referenčním standardům umožňuje laboratořím získat stejný soubor stabilních podmínek požadovaných pro měření.*

To na druhou stranu minimalizuje variabilitu způsobenou proměnlivostí stabilních podmínek měření.

**3.5.5** Uvedené úvahy se také uplatní, když se mají podmínky měření měnit předepsaným způsobem. Například když je naprogramováno zvyšování teploty chromatografické kolony, spadají všechny časové úseky, teploty a rychlost změny do kategorie ‚podmínek měření‘ předepsaných zvoleným postupem.

## 3.6 Řízení proměnných kalibračními standardy

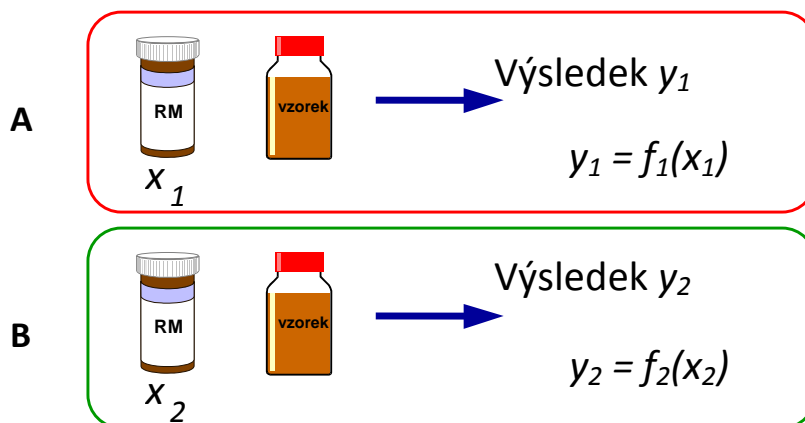
**3.6.1** Velmi podobné zásady se rovněž vztahují na případy, kdy se měřené proměnné použijí ve výpočtu výsledku, ale situace je složitější, protože se nepředpokládá, že hodnoty jsou stabilní, ale určitým způsobem ‚konzistentní‘. Především každý potřebuje používat shodnou měřicí stupnici. Takové ‚konzistence‘ se dosáhne, když se použijí pro následná měření stejné kalibrační standardy. Následující krátké pojednání toto pojetí rozvíjí. Pro jednoduchost se uvažuje jen jedna reference, i když většina měření je pochopitelně založena na několika referencích.

**3.6.2** Mějme dvě laboratoře, A a B, provádějící měření vzorků zhruba stejného typu (viz obrázek 1). Každá kalibruje své zařízení standardem měření o známé nominální koncentraci ( $x_1$  a  $x_2$ ). Počítají své výsledky  $y_1$  a  $y_2$  z kalibrační rovnice dosazením hodnot  $x$ . V každém z případů je výsledek  $y$  funkcí referenční hodnoty  $x$  (obvykle jednoduchý násobek, předpokládáme-li lineární odezvu). Referenční hodnota  $x$  přitom určuje jednotky měření. Kde existuje takový vztah – jednu hodnotu lze vypočítat z druhé, referenční, hodnoty – vypočítanou hodnotu lze vždy vydávat jako návaznou

---

\* Zřejmě je v praxi zřídka kdy potřebné hodiny kalibrovat úplně; jednoduché kontroly pomocí časového signálu obvykle pro měření běžných časových úseků postačí. Princip ale zůstává stejný; všechny hodiny se porovnávají s jedinou referencí.

k referenční hodnotě<sup>\*\*</sup>. V tomto případě je  $y_1$  návazná k  $x_1$  a  $y_2$  k  $x_2$ , ačkoliv až do této chvíle to má jen velmi omezený význam.



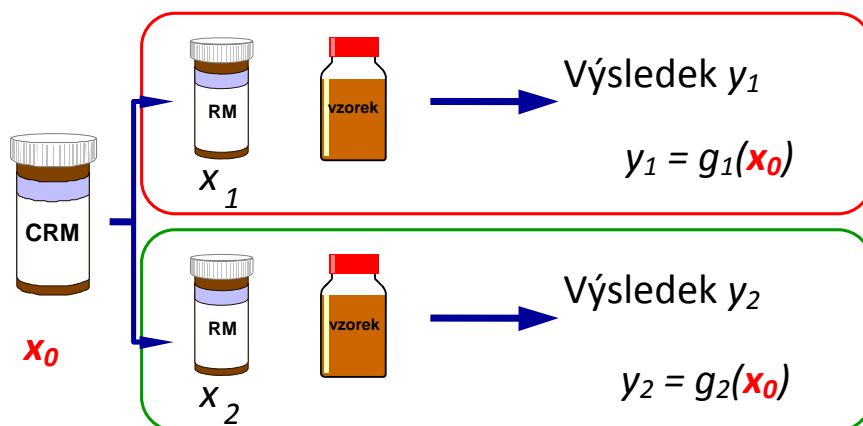
Obrázek 1

**3.6.3** Důležitou otázkou je vztah mezi  $y_1$  a  $y_2$ . Ačkoliv jsou hodnoty  $y_1$  a  $y_2$  (obvykle) různé, je rozdíl skutečný, nebo je jen důsledkem odlišných referencí? Podle obrázku 1 neexistuje základ pro porovnání těchto dvou výsledků; určitě nemůžeme napsat matematický vztah, který by například vyjadřoval  $y_1$  pomocí  $y_2$ .

**3.6.4** Když jsou však oba standardy měření kalibrovány nějakou společnou referencí, stane se porovnání smysluplným (obrázek 2). Nyní jsou oba výsledky odvozeny ze stejné hodnoty ( $x_0$ ). Oba mají stejné jednotky měření (stejnou stupnici a stejné jednotky jako  $x_0$ ) a přímé porovnání hodnot  $y_1$  a  $y_2$  je nyní nejen možné, ale má také smysl. Analogicky by ovšem mohlo být  $x_0$  odvozeno z ještě vyšší reference, aby bylo možno porovnávat v globálním měřítku.

<sup>\*\*</sup> K prohlášení o návaznosti podle definice VIM i pro praktické potřeby je též nutno znát nejistotu přidruženou k  $y$ .





Obrázek 2

**3.6.5** V tomto příkladu tedy návaznost nečiní výsledky identické; nakonec pro různé vzorky by se obecně měly výsledky lišit. Ale návaznost prostřednictvím kalibrace dovoluje porovnávání, která mají smysl tím, že zaručují ‚konzistentnost‘ jednotek měření.

**3.6.6** Tyto úvahy objasňují další dvě zásady:

- *Je-li výsledek vypočítán z referenční hodnoty, je návazný k této hodnotě.*
- *Návaznost ke společné referenci dovoluje smysluplné porovnávání výsledků.*

### 3.7 Společné reference dovolují libovolnou definici

**3.7.1** Přestože je tento bod obtížně srozumitelný, existuje další důsledek návaznosti ke společné referenci, který je v metrologii důležitý. Prohlédneme-li si ještě jednou obrázek 2, je v principu možné odvodit přímý matematický vztah mezi  $y_1$  a  $y_2$ , z něhož by se eliminovala hodnota  $x_0$  (přinejmenším v prvním přiblížení). Například v jednoduchých případech lineární odezvy poměr  $y_1/y_2$  neobsahuje  $x_0$  (i když v případě obrázku 1 by zahrnoval jak  $x_1$  tak  $x_2$ ). Vyplývá z toho, že pokud je zajištěna návaznost ke společné referenci, může být hodnota této společné reference v podstatě definována libovolně bez ovlivnění vztahu mezi konečnými výsledky. To je velmi užitečný výsledek; mezinárodní kilogram je takovou libovolnou referencí a bez návaznosti k tomuto jedinému artefaktu by neexistoval na celém světě základ pro porovnávání stanovení hmotnosti.

### 3.8 Význam vývoje metody

**3.8.1** Vývoj metody obvykle směřuje ke standardnímu pracovnímu postupu, který zahrnuje soubor instrukcí, jak provádět měření a soubor podmínek měření definujících

hodnoty parametrů, jež musí být udržovány stabilní, a rovnici, pomocí níž se počítá z hodnot měřených parametrů výsledek. Poskytuje tedy rovnici, od níž se očekává, že poskytne konsistentní výsledky za předpokladu, že jsou specifikované podmínky správně nastaveny a udržovány stabilní. Důsledkem toho je, že pokud mají hodnoty všech těchto parametrů návaznost ke stabilním referencím, budou výsledky konzistentní.

**3.8.2** Toto očekávání je však vždy založeno na některých předpokladech, především výslovně na linearitě odezvy, absenci celkového vychýlení (bias) a nepřítomnosti jiných významných vlivů. Pokud jsou tyto předpoklady nesprávné, například kvůli přítomnosti nepředpokládaných vlivů, budou výsledky nespolehlivé a často chybné. Praktická zkušenost ukazuje až příliš jasně, že neznámé vlivy jsou časté a jsou často velké. Takové předpoklady se tedy nesmí považovat za nesporné.

### 3.9 Význam validace metody

**3.9.1** Validace metody se, kromě dalších významných funkcí spojených s výkonností metody, týká mechanismu prověřování rozhodujících předpokladů. Odpovídá na otázku „Jsou tyto předpoklady platné?“ prověřením modelu měření a testuje je experimentálně, například experimenty s vhodnými referenčními materiály nebo porovnáním s výsledky nezávislých postupů. Kontrola vychýlení (bias) zkoumá přítomnost významného vychýlení, studie výtěžnosti hledá ztráty látky, kontrola linearity odkrývá významné odchylky od linearity a robustnost nebo studie podobného typu pátrá po přítomnosti dalších vlivů atd.

**3.9.2** Když se takový vliv objeví, musí se postup modifikovat, dále vyvíjet a validovat. Taková modifikace může mít tři základní formy:

- eliminace takového vlivu (například změnou podmínek rozkladu, aby se zabránilo srážení při elementární analýze),
- snížení variability vyvolané takovým vlivem tím, že se zvýší nebo sníží regulovaný rozsah. Například, pro snížení vychýlení (bias), může být zapotřebí stanovit konkrétní pracovní teplotu nebo teplotní rozsah,
- korekce vlivu tím, že se zahrne do výpočtu výsledku.

Povšimněme si, že poslední dvě možnosti vyvolají v průběhu postupu další měření – tedy další faktor vyžadující návaznost.

**3.9.3** Jestliže nebyly zjištěny žádné významné vlivy, považuje se postup za validovaný a může se beze změny používat; rovnice a specifikace podmínek měření se považují za postačující základ měření. V důsledku toho již postup zjevně zahrnuje všechny faktory, které vyžadují návaznost – neexistují žádné další známé významné vlivy. Pokud jsou všechny identifikované vlivy návazné k vhodným referencím, lze očekávat, že postup bude poskytovat konzistentní výsledky.

**3.9.4** Úloha validace při zajištění návaznosti tedy spočívá v prověření toho, že je postup dostatečně definován a zahrnuje všechny požadavky na návaznost.

### 3.10 Návaznost a nejistota měření

**3.10.1** Na obrázku 2 dospěli dva analytici do stádia, kdy má porovnávání jejich výsledků smysl. Když však budou muset s nějakou spolehlivostí rozhodnout, zda má jeden vzorek vyšší hladinu analytu než druhý (a ne pouze, zda se jejich výsledky liší), chybí další podstatná informace. Je potřeba znát nejistotu výsledků.

**3.10.2** O nejistotě měření pojednávají podrobně jiné publikace [8, 9] a nebude zde tedy podrobně popisována. Pro stávající diskusi jsou nejdůležitější následující hlediska:

i) Nejistota pochází, přinejmenším částečně a někdy úplně, ze vstupů do výpočtu výsledku. Vzhledem k tomu, že referenční hodnoty jsou nejisté, přispívá nejistota referenční hodnoty k nejistotě výsledku.

ii) Nejistota výsledků tedy vzniká kombinací všech nejistot referenčních hodnot a nejistoty měřicího postupu jak z náhodných variací, tak z i dalších příčin.

**3.10.3** K odhadu nejistoty určitého výsledku potřebuje pak analytik nejen příspěvky nejistoty vyplývající z vlastního postupu měření (z preciznosti, vlivu obsluhy atd.), ale také nejistotu spojenou s referenčními hodnotami. Vyplývá z toho, že efektivní měření s nejistotami je možno provádět jen tehdy, mají-li všechny nezbytné parametry návaznost k vhodným referencím a je-li známa nejistota každé z těchto referencí.

## 4 Metrologická návaznost: mezinárodní definice

**4.1** V předchozí kapitole jsme ukázali, že pro konsistentní a užitečné výsledky měření je důležité jak vytvoření řetězce porovnávání k přijatým referencím, tak i zjištění nejistoty s těmito porovnáváními spojené. Tyto zásady vedly přímo k definici návaznosti v Mezinárodním metrologickém slovníku (VIM):

*Metrologická návaznost: vlastnost výsledku měření, pomocí níž může být výsledek vztahen ke stanovené referenci přes dokumentovaný nepřerušovaný řetězec kalibrací, z nichž každá se podílí svým příspěvkem na stanovené nejistotě měření.*

**4.2** Tato definice zavádí návaznost jako vlastnost výsledků měření, tedy hodnot získaných měřením. Přesně řečeno fráze ‚mající návaznost k dané laboratoři‘ [traceable to a given laboratory] je zkratkou pro ‚mající návaznost k referenční hodnotě udržované touto laboratoří‘ [traceable to a reference value maintained by that laboratory]. Podobně ‚návný k SI‘ [traceable to the SI] je zkratkou pro ‚návný k referenčním hodnotám získaným dohodnutou realizací jednotek SI‘ [traceable to reference values obtained by agreed realisations of the SI units] (například výsledek uváděný v jednotkách  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a deklarován jako ‚návný k SI‘ by vyžadoval, aby byl návvný k realizacím kilogramu a metru).

4.3 Definice VIM je doplněna několika informativními poznámkami. O nich se pojednává v příručce Eurachem „Názvosloví analytického měření“ [3].

## 5 Mezinárodní systém veličin a jednotek (SI)

**5.1** V oddílu 3.2.1 jsme ukázali, že se měření musí vyjadřovat v dohodnutých jednotkách měření. Vhodný systém jednotek pro většinu chemických měření představuje „Systeme Internationale“ (SI). Jednotky SI tvoří koherentní systém, který se užívá téměř universálně ve vědě a je velmi rozšířen i v obchodě.

**5.2** SI definuje základní jednotky pro hmotnost (kilogram, kg), délku (metr, m), čas (sekunda, s), termodynamickou teplotu (kelvin, K), elektrický proud (ampér, A), svítivost (kandela, cd) a látkové množství (mol, mol). Definuje také pomocí těchto základních jednotek mnoho odvozených jednotek. V tabulce 1 je uveden výběr odvozených jednotek, důležitých pro chemická měření (odkazy [10 a 11] poskytují úplnější přehled). Povšimněme si, že mol je jedinou základní jednotkou, která vyžaduje další bližší určení; je nezbytné specifikovat, které *entity* se týká, tedy co je látkou, ke které se vztahuje.

**5.3** Podstata analyzované látky je ovšem zásadní pro všechna chemická měření, ať jsou či nejsou vyjadřována v jednotce mol. Zvláště pak veličiny jako hmotnostní zlomek nejsou při chemických měřeních ‚bezrozměrné‘, poněvadž se vždy vztahují k podílu jedné látky ke směsi dalších látek. Z toho pro přijatelnou návaznost vyplývá, že každé měření musí mít návaznost k referenci určité látky.

Tabulka 1. Běžně používané veličiny a jednotky chemických měření

Veličina	Jednotky
molární zlomek	mol/mol, %
hmotnostní zlomek	kg/kg, %
objemový zlomek	m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> , %
molární koncentrace	mol/m <sup>3</sup>
hmotnostní koncentrace	kg/m <sup>3</sup>
objemová koncentrace	m <sup>3</sup> /m <sup>3</sup>
molalita	mol/kg
pH	1 (záporný logaritmus aktivity vodíkových iontů)
enzymatická aktivita	katal (mol/s; SI jednotka), U (μmol/min)

Čistota, významná vlastnost mnohých referenčních materiálů a dalších látek, se obecně vyjadřuje jedním ze zlomků nebo koncentrací uvedených výše.

## 6 Zajištění návaznosti

### 6.1 Základní činnosti při zajišťování návaznosti

**6.1.1** V úvodu byly vyjmenovány činnosti, které jsou zapotřebí k zajištění návaznosti v provozní laboratoři:

- i) Specifikování měřené veličiny, rozsahu měření a cílové nejistoty měření [7].
- ii) Výběr vhodné metody k odhadu hodnoty, tedy měřicího postupu, spolu s výpočtem – rovnicí – a podmínkami měření.
- iii) Prokázání pomocí validace, že výpočet a podmínky měření zahrnují všechny ‚ovlivňující veličiny‘ (zastoupené jejich hodnotami  $x_1$  až  $x_n$  v rámečku v odstavci 2.3), které významně ovlivňují výsledek nebo hodnotu přiřazenou standardu.
- iv) Určení relativního významu každé ovlivňující veličiny.
- v) Výběr a použití vhodných standardů měření.
- vi) Odhad nejistoty.

Z tohoto seznamu nutně nevyplývá pořadí či priorita těchto činností, důležité jsou všechny. Určité vzájemné závislosti také mohou příležitostně způsobit, že dřívější rozhodnutí přehodnotíme. Důležitou podmínkou je, aby se všechny uvedené činnosti prováděly způsobem adekvátním danému účelu. Nicméně abychom byli důslední, uvádíme je postupně v následujících odstavcích ve výše uvedeném pořadí.

**6.1.2** Povšimněme si, že tyto kroky stačí k prohlášení návaznosti výsledků za předpokladu, že se uplatní další opatření k zajišťování kvality (QA), včetně školení personálu, řízení kvality měření atd.

### 6.2 Specifikování měřené veličiny a požadované nejistoty

**6.2.1** Měření, které má mít smysl, vyžaduje jednoznačnou specifikaci měřené vlastnosti nebo veličiny, kterou hodláme měřit. Pro účely této příručky se měřená veličina obvykle popisuje slovy, avšak je nutno vzít v úvahu některé specifické otázky, jako jsou

- *Identita analytu.* Chemická měření obvykle kvantifikují určité molekulární nebo atomární částice. Nepochybně musíme být mimořádně pozorní, když je látka přítomna v různých formách a jsou-li rozdíly mezi formami významné. Například je třeba odlišit různé isotopy, jejich směsi, isotopomery, enantiomery nebo krystalické formy.
- *Automaticky předpokládané podmínky měření.* Předpokládá se, že se většina analytických výsledků získává za podmínek blízkých normálním hodnotám teploty prostředí, tlaku a vlhkosti. Je běžnou praxí tyto podmínky při popisu měřené veličiny vynechat. Když však uvažujeme návaznost, je třeba znát podmínky přesně, jelikož tvoří část formální definice měřené veličiny. Když nejsou podmínky uvedeny, lze obvykle předpokládat, že je měřená veličina definována při normální teplotě a tlaku (20 °C, 1 atmosféra).

- *Korekce výtěžnosti.* Je velmi důležité jasně uvést, zda je sledovanou veličinou množství látky izolované ze substrátu, či zda je to podle našich domněnek veškeré přítomné množství. V prvním případě se běžně analytická výtěžnost nekoriguje. Druhý případ může vyžadovat korekci, pokud se výtěžnost významně liší od 100 %. To je důležité, jelikož korekce výtěžnosti vyžaduje dodatečná měření a ta obecně zvyšují požadavky na návaznost.
- *Specifikace v rámci postupu.* Pokyny v tomto dokumentu jsou stejné, ať je měřená veličina definována postupem nebo není. Definice v pojmech postupu jednoduše vede jen k delšímu seznamu vázaných parametrů. Všimněte si však, že definování měřené veličiny pomocí postupu použitou metodu neomezuje. Ačkoliv to není běžné, v principu lze použít pro měření zcela odlišný postup. Například čistě spektroskopická technika se může použít k odhadu ‚obsahu tuku‘, i když ‚tuk‘ je nejčastěji definován hmotností materiálu extrahovaného za stanovených podmínek. Avšak vždy je třeba prokázat, že alternativní postupy poskytují pro zkoušené položky v rámci sledovaného postupu ekvivalentní výsledky.

**6.2.2** Často je vhodné uvážit v tomto stádiu požadovanou výkonnost postupu měření. Jedná-li se o návaznost, je nejdůležitější požadovaná nejistota měření. Je důležitá, protože:

- a) Nejistota výsledku nemůže být lepší než nejistota pocházející z použitých standardů měření. Požadavky na nejistotu podle toho ovlivní výběr standardů měření.
- b) U určité měřicí techniky vyžaduje dosažení menší celkové nejistoty větší kontrolu. To vede normálně ke zvýšení počtu proměnných, které musí být pod kontrolou.

### 6.3 Výběr vhodného postupu

**6.3.1** Jakmile známe měřenou veličinu a rozumíme jí, zvolíme postup měření nebo ho můžeme vytvořit speciálně pro tento účel. Výběr postupu zahrnuje řadu faktorů, včetně například požadavků daných právními předpisy, požadavků zákazníka, náklady, zkušenosti s různými metodami, dostupnost zařízení a náročnost rozhodování. Výběr postupu je tedy založen na úsudku opírajícím se o potřeby zákazníka.

**6.3.2** Tato příručka se zabývá pouze zajištěním návaznosti zvoleného postupu. *Předpokládá*, že v daných podmínkách byl zvolen ten nejlepší dostupný. Je na analytikovi, aby rozhodl a pokud to bude nutné i prokázal, zda je postup dostačující. Pokud se rozhodne, že ano, pak může tato příručka pomoci prokázat, že výsledky mají návaznost k vhodným referencím.

**6.3.3** Předpokládá se, že instrukce k metodě obsahují potřebné výpočty a stanovují všechny potřebné kontroly, včetně alespoň těch, které vyžaduje definice měřené veličiny. Typicky to má formu rovnice nebo soustavy rovnic pro výpočet výsledku měření spolu se seznamem podmínek, jako jsou doby, teploty, koncentrace činidel

atd., které je třeba dodržet. (Na tuto rovnici a soubor podmínek se pro zjednodušení odkazuje dále jako na *rovnici měření*.)

**6.3.4** Veličiny uvedené ve specifikaci metody jsou všechny významné *ovlivňující veličiny* pro účel zajištění návaznosti a podléhají validaci, jak je uvedeno dále.

## 6.4 Validace

**6.4.1** Validací se podrobně zabývají jiné prameny [4] a zde není třeba jí pojednat podrobně. Je však nutno uvážit základní požadavky týkající se validace. Aby splnila svoji úlohu při potvrzení přiměřenosti specifikace metody, musí validace obsahovat rozumný test rovnice a podmínek měření. Je třeba vědět, že to nemůže být vyčerpávající a že praktické důvody mohou možné testování limitovat. Z uvedených důvodů validace v ideálním případě zahrnuje v určité laboratoři následující činnosti:

- Posouzení selektivity, abychom se ujistili, že měřicí systém má odezvu na sledované složky, a ne na jiné podobné složky.
- Kontrolu pomocí certifikovaného referenčního materiálu, že postup nevykazuje významné vychýlení (bias), pomocí porovnání s nezávisle získanými návaznými hodnotami.
- Přiměřené kontroly specifických, pravděpodobných vlivů, jiných než zahrnutých v rovnici měření, které mají prokázat, že není třeba brát v úvahu další vlivy.
- Studie preciznosti v tak širokém časovém intervalu a souboru podmínek, jaké jsou rozumně možné, která bude dalším testem přítomnosti významných neočekávaných vlivů.
- Dodatečné studie specifických a pravděpodobných zdrojů vychýlení (bias) včetně spikování a studií výtěžnosti, jako jsou studie interferencí a zkřížené reaktivity, které opět prokáží, zda neexistují další významné vlivy.

*Poznámka: Chování přidaného (spikovaného) analytu nemusí být ekvivalentní chování přirozeného nebo „zabudovaného“ (incurred) analytu; spikování může tedy selhat a neindikovat výtěžnosti analytu v přírodní formě.*

- Kontrolu linearity pro prokázání, že odezva měřicího systému je úměrná hodnotě měřené veličiny.

Další výkonnostní charakteristiky, jako je například detekční schopnost, se často posuzují navíc k výše uvedeným při posuzování vhodnosti pro daný účel.

**6.4.2** Vzájemná porovnávání mezi analytiky a různými laboratořemi nebo mezi dalšími metodami mohou též prokázat možné nedostatky postupu. Jsou-li náležitě vedeny jako testy na přítomnost dalších vlivů, jsou dalším potvrzením přiměřenosti rovnice měření.

**6.4.3** Druhým důležitým hlediskem validačních studií je, aby reference používané ke kontrole, kalibraci a testování postupu během validace byly samy návazné. Je to



důležité jako záruka, že validační studie přímo odpovídají výsledkům získaným při rutinním používání.

**6.4.4** Validace byla identifikována (oddíl 3.9 výše) jako klíčová pro zajišťování návaznosti. Nepředstavuje volitelnou, nepovinnou činnost. I když přebíráme standardizovaný postup, který byl validován a důkladně testován, je určitá úroveň validace stále nutná. Normálně není nutné opakovat kompletní studii všech možných nebo pravděpodobných vlivů; rovnice měření může být převzata bez dalšího detailního ověřování. Ale analytické postupy jsou komplexní, a tudíž náchylné k lidským chybám. Je nutné vždy alespoň zkontrolovat, že je laboratoř schopna provozovat postup správně (to se často nazývá verifikací). Nejlépe je udělat ji s vhodným certifikovaným referenčním materiálem. Důkazy ze zkoušení způsobilosti a dalších studií mohou, podle podstaty programu, také poskytnout důkaz o správném fungování postupu.

## 6.5 Význam různých ovlivňujících veličin

**6.5.1** Stanovení relativní důležitosti jednotlivých ovlivňujících veličin je zásadní pro určení vhodného stupně kontroly nebo kalibrace. Není vždy nutné provádět pro každou veličinu speciální kalibraci.

**6.5.2** Obecně určuje význam různých ovlivňujících veličin jejich kvantitativní vliv na výsledek měření. Veličiny s velkým vlivem na výsledek jsou pravděpodobně významné. Druhým důležitým hlediskem je pravděpodobný vliv na výsledek daný zahrnutými nejistotami. Je typické, že vlivy pocházející z fyzikálních veličin jako jsou čas, hmotnost a objem, jsou dobře kontrolovatelné a snadno měřitelné ve srovnání s mnoha chemickými vlivy, zvláště na stopové úrovni. Avšak tato situace je důsledkem velké péče věnované v minulosti fyzikálním měřením a v praxi je velmi pravděpodobné, že bude analytik nucen věnovat daleko víc pozornosti chemickým vlivům než pomocným fyzikálním měřením.

**6.5.3** K rozhodnutí, zda je vliv třeba měřit a zahrnout do návaznosti, stačí běžně uvažovat nejhorší případ, který by mohl rozumně nastat a který by vedl k významné chybě měření. Pokud by k tomu nedošlo, není to vážný důvod pro další kalibraci. Například je dosti nepravděpodobné, aby teplota prostředí v provozní laboratoři byla ve Spojeném království mimo rozsah 10–30 °C a jelikož toto rozpětí není významné pro jakékoliv měření v laboratoři, není pro kalibraci a regulaci teploty v laboratoři závažný důvod.

**6.5.4** Formální vyhodnocení nejistoty, které zahrnuje všechny možné vlivy (a nejen ty, o nichž je známo, že jsou významné) je nepochybně mimořádně mocným nástrojem při rozhodování o relativní důležitosti jednotlivých vlivů. Pokud je nejistota (vyjádřená jako příspěvek ke kombinované nejistotě) spojená s určitým vlivem malá ve srovnání s kombinovanou nejistotou výsledku měření, není další kontrola nutná.

**6.5.5** Musí být jasné, že navzdory předchozí diskusi mohou podmínky prostředí a další vlivy, v rovnici měření výslovně neuvedené, mít na výsledek nějaký vliv. Rovněž

vývoj většiny metod probíhá v poměrně ohraničených podmínkách prostředí a zřídka je možné testovat extrémy. Namísto toho se obecně předpokládá, že laboratoře pracují v přibližně stejných podmínkách, za jakých probíhal vývoj metody. To vede k nevysloveným požadavkům na řízení podmínek prostředí a dalších vlivů a od laboratoří se obecně očekává, že věnují kontrole podmínek měření patřičnou péči. Nejdůležitější otázkou v souvislosti s touto příručkou je, zda má tato péče vést až k návazným měřením a regulaci podmínek. Vyhodnocení možného dopadu by se mělo normálně řídit zásadami načrtnutými v odstavci 6.5.3. Obvykle se však zjišťuje, že podmínky prostředí potřebují určitou úroveň kontroly přinejmenším pro některá měření a je tudíž dobrým zvykem jeho podmínky alespoň monitorovat pomocí vhodně kontrolovaného zařízení.

## 6.6 Výběr a aplikace vhodných standardů měření

**6.6.1** Abychom se ujistili, že všechny hodnoty použité v rovnici měření a všechny ostatní stálé hodnoty používané při měření mají návaznost k vhodným referencím, je v praxi pouze nutné stanovit postupy pro kalibraci zařízení, jež měří nebo řídí stabilní hodnoty, a pro kalibraci, certifikaci nebo kontrolu všech referencí použitých při měření. Kalibrace jsou tudíž spolu s validovanými postupy klíčem k návaznosti.

**6.6.2** Z praxe je známo, že kalibrované standardy měření nebo certifikované referenční materiály nejsou vždy dostupné, je však vždy třeba zavést dostatečnou kontrolu vhodně vybranými standardy měření. Je mnoho různých typů standardů měření, zejména pro chemická měření, a jsou i různé okolnosti jejich používání. Tyto otázky jsou předmětem podrobné diskuse v kapitole 7.

## 6.7 Vyhodnocení nejistoty

**6.7.1** Požadavek na informace o nejistotě vyplývá z potřeby, že je třeba za prvé zajistit, aby byly použité reference pro daný účel dostatečně přesné a za druhé, aby poskytly úplné informace o výsledku měření. O vyhodnocení nejistoty je podrobně pojednáno jinde [8] a zde nebude předmětem diskuse. Nutné minimum pro použitelná měření však představuje:

- *bud'* posouzení příspěvku nejistoty každé referenční hodnoty k celkové nejistotě výsledku měření (což může spočívat ve validaci, která prokáže, že změny v rozsahu nejistoty vyvolají zanedbatelné změny výsledku), *nebo* pokud to odpovídá situaci, dodržení požadavků na zařízení, kalibraci a řízení u použitých standardních metod (norem),
- posouzení celkové nejistoty výsledku, včetně vlivu použitých referencí,
- potvrzení, že celková nejistota vyhovuje požadavkům konečného použití.

## 7 Volba reference

### 7.1 Úvod

**7.1.1** Kapitoly 4 a 6 vysvětlují, jak zásadní roli v návaznosti hrají vhodné reference. Výběr reference je tudíž klíčový. V následujících odstavcích se pojednává o výběru referencí pro:

- fyzikální měření prováděná během analýz,
- potvrzení identity,
- kalibrace s použitím certifikovaných referenčních materiálů,
- kalibrace s použitím jiných materiálů,
- kalibrace s použitím referenčních dat,
- vývoj, validaci a verifikaci metody.

**7.1.2** V některých případech nelze vhodný certifikovaný standard měření (etalon) získat. Tehdy se musí jasně uvést omezení návaznosti výsledků a zákazníkovi je nutno oznámit všechny nepříznivé vlivy této skutečnosti na použitelnost výsledků.

### 7.2 Fyzikální měření

**7.2.1** Při analytické práci je běžná celá řada fyzikálních měření. Naštěstí zřídka kdy představuje vhodná kalibrace zařízení pro fyzikální měření a dostupnost standardů zásadní problém analytických měření. Vybavení a etalony pro měření hmotnosti, délky, objemu, teploty, času a pro měření elektrických veličin vykazují normálně nejistoty kalibrací hluboko pod jakoukoliv hladinou významnosti ve srovnání s nejistotami, které nacházíme u analytických měření. Závisí to však zcela na pevně zavedené a pečlivě udržované infrastruktuře, odkázané na návaznost k národním a globálním referencím. Pro každou praktickou analytickou práci se tedy musí vybírat etalony vhodné ke kalibraci zařízení a s dostatečně malou nejistotou pro daný účel, jejichž hodnoty musí vykazovat návaznost k příslušným referencím. Ve většině případů to představuje požadavek na kalibrační certifikát vystavený oprávněným orgánem.

**7.2.2** Když zařízení kalibruje třetí strana a laboratoř neuchovává kalibrační etalon, musí být poskytovatel kalibrace schopen dodat kalibrační certifikát včetně hodnoty nejistot. Kromě toho má laboratoř soustavně sledovat výkonnost zařízení mezi kalibracemi pomocí domácích stabilních kontrolních standardů, aby si potvrdila, že pracuje uvnitř rozmezí kalibračních nejistot.

### 7.3 Potvrzení identity

**7.3.1** U většiny analytických měření se identita látky musí potvrdit porovnáním s autentickým vzorkem nebo s referenčními daty\*. Konfirmace identity porovnáváním nevytváří podle obecného názoru návaznost ve smyslu definovaném ve VIM. Nicméně výběru vhodných referencí pro toto porovnávání je třeba vždy věnovat patřičnou péči. Pro konfirmaci identity často poslouží čisté látky s certifikátem, pokud jsou dostupné v dostatečném množství. Obvykle jsou vhodnou náhradou autentické vzorky z uznávaného zdroje za předpokladu, že jejich čistota postačuje k vytvoření v podstatě čisté odezvy pro sledovaný analyt.

**7.3.2** Porovnání s referenčními údaji, například ve formě spektrálních dat, se jako důkaz identity běžně přijímá. V tom případě je však třeba zajistit, aby:

- referenční data byla získána za podmínek velmi podobných těm, které byly v laboratoři. Například infračervená spektra pevných látek by se měla porovnávat s referenčními údaji pro pevné látky, a nikoliv pro roztoky, ledaže by se uvažovaly vlivy rozdílného skupenství;
- referenční data a data zkoušených položek byla návazná k vhodným referencím (například standardům – etalonům vlnové délky), což dovoluje přímé porovnání.

Pro potřeby potvrzení identity, se u většiny současných přístrojů obvykle dosahuje návaznosti s odpovídající nejistotou rutinními kalibracemi a řízením kvality.

**7.3.3** Identita může být také určena například:

- ze znalosti postupu syntézy. Například při reakci kyseliny octové s ethanolem lze očekávat ethylacetát;
- měřením základních charakteristik, z nichž lze identitu odvodit. Například se může použít elementární složení, molekulární hmotnost nebo přítomnost určitých funkčních skupin;
- přímým porovnáním s autentickými látkami.

### 7.4 Kalibrace certifikovanými referenčními materiály

**7.4.1** Certifikovaný referenční materiál je formálně definován [2] jako „referenční materiál doprovázený dokumentem vydaným způsobilou osobou a poskytující jednu nebo více specifikovaných hodnot vlastností s přidruženými nejistotami a návazností s použitím platných postupů“. Základní rysy, které odlišují tyto materiály od jiných kalibračních standardů, jsou tudíž:

---

\* Některé techniky jako NMR spektroskopie mohou poskytovat odezvy dostatečně předvídatelné z teorie anebo z modelových systémů, takže lze potvrdit identitu bez autentického vzorku. V obecné analýze to však není běžné.

- prokazatelná návaznost k národním nebo mezinárodním standardům,
- údaj o nejistotě.

**7.4.2** V mnoha případech je možno koupit certifikované referenční materiály nebo kalibrační roztoky, přičemž je jejich používání výhodné a obvykle i efektivní z hlediska nákladů. Protože hodnoty mají návaznost k národním nebo mezinárodním standardům a jsou proto velmi spolehlivé, doporučuje se jejich použití tam, kde je to možné. Informace o návaznosti hodnoty referenčního materiálu je třeba požadovat na jeho dodavateli.

**7.4.3** U některých případech, například rentgenových fluorescenčních analýz slitin, je možné použít ke kalibraci vhodný certifikovaný matricový referenční materiál. V takových případech má výsledek nepochybně návaznost k hodnotě referenčního materiálu. Při výběru takových matricových referenčních materiálů je třeba uvážit hlediska stejná jako ta uvedená v oddílu 7.7. Je však třeba mít na vědomí, že se certifikované matricové referenční materiály obecně nedoporučují pro kalibrace. Brání tomu většinou cena, v praxi vzácný dostatečný soulad matrice a pro kalibrační účely často příliš velké nejistoty přidružené k hodnotám přírodních certifikovaných matricových materiálů.

## 7.5 Kalibrace jinými materiály

### a) Čisté látky

**7.5.1** V mnoha případech je měřenou veličinou množství určité chemické látky, prvku nebo jediné molekulární specie. Chemici prošli dlouhými dějinami izolace a čištění takových látek a běžně lze získat odpovídající materiály v čistotě postačující pro referenční standardy. Vyplyvá to z unikátního rysu chemických měření, u nichž tvoří 100% čistota přirozenou referenční hodnotu, která nemůže být překročena. Tato skutečnost, spolu se široce dostupnými a prvotřídními údaji o atomových a molekulárních hmotnostech a často s dalšími referenčními údaji o fyzikálních vlastnostech jako je hustota, znamená, že velmi čisté látky umožňují přímo na místě praktickou realizaci jednotek koncentrace prostřednictvím konverze hmotnosti na látkové množství. Kalibrace materiály o dostatečně stanovené čistotě je tudíž platným způsobem zajištění návaznosti.

**7.5.2** Dosažení čistoty je založeno primárně na vhodných technikách přípravy a čištění materiálu (u něhož se již předpokládá vysoká čistota), následovaných snahou detekovat významné nečistoty obvykle řadou technik schopných postihnout širokou paletu možných kontaminantů. Spolehlivost těchto postupů nelze jinak snadno prověřit než dlouhou praxí a kvalifikovaným profesionálním úsudkem, opírajícím se o důkladnou znalost použité chemie. Bez průkazné existence návazných hodnot se známou nejistotou je pak vhodnost takových látek jen záležitostí pečlivosti a odborného uvážení. Obecně musí laboratoře pro potvrzení spolehlivosti necertifikovaných čistých látek obzvláště pečlivě zajišťovat spolehlivé dodávky, kontrolovat materiál podle potřeby a používat všechny přiměřené kontroly.

**7.5.3** Příprava čistých referenčních materiálů je natolik nákladná, že ji většina provozních analytických laboratoří nepodstoupí. Přesto bude v mnoha případech vlastní příprava jedinou možností, nejčastěji asi v případě, kdy vyvstane potřeba zkoušet firemní materiál. Takový materiál se musí kontrolovat všemi dostupnými způsoby, které typicky zahrnují (ale neomezují se na) bod tání a další termální vlastnosti, spektroskopický důkaz několika nezávislými způsoby, stanovení vlhkosti, kontaminaci nekovy, kontrolu obsahu anorganických látek (v organických materiálech), elementární mikroanalýzu, chromatografické ověření a specifické kontroly na možné nečistoty.

**7.5.4** I když mají dostupné materiály vyhovující čistotu, nakonec vedou rostoucí požadavky na stopové analýzy k potřebě roztoků s nízkými koncentracemi. Při nízkých koncentracích často podléhají obsah analytu i čistota látky sekundárním vlivům, jako jsou adsorpce na stěnách nádob, kontaminace, oxidace atd. Je nutné věnovat nemalou péči výběru dodavatele, jakož i způsobu používání a skladování. Je rozumné kontrolovat následné šarže materiálu vůči sobě navzájem.

#### **b) Jiné referenční materiály**

**7.5.5** Pro kalibrace je dostupná celá škála dalších materiálů a přípravků včetně například směsných roztoků pro elementární analýzu prvků, slitin a pečlivě charakterizovaných nových farmaceutických referenčních materiálů. Bez formálního důkazu návaznosti a informace o přidružené nejistotě je odpovědností laboratoře prokázat, že materiály jsou vhodné pro zamýšlený účel. Jak již bylo uvedeno v 7.5.4, je třeba jejich výběru věnovat značnou péči.

## **7.6 Kalibrace s využitím referenčních dat**

**7.6.1** V některých situacích se používají referenční data buď jako podpora kalibrace s dostatečně charakterizovaným materiálem nebo jako kalibrační faktory. Příkladem mohou být spektroskopická referenční data pro kalibraci stupnic vlnových délek (v infračervené spektroskopii) nebo použití referenčních absorbancí přímo ke stanovení koncentrací z naměřených absorbancí. V takovém případě mají hodnoty výsledku měření návaznost k příslušným referenčním údajům.

**7.6.2** Podobně jako v oddílu 7.3 je třeba zajistit, aby:

- se referenční data používala za podmínek měření (což může zahrnovat vhodné konverzní metody),
- referenční data vykazovala návaznost k vhodným referencím (například návaznost ke standardům vlnových délek je důležitá při používání hodnot absorbance ve spektroskopii).

## 7.7 Referenční materiály pro vývoj metody, validaci a verifikaci

**7.7.1** Jak jsme ukázali v kapitolách 4 a 7, hrají referenční materiály, a zvláště pak matricové referenční materiály významnou úlohu při vývoji, validaci a verifikaci metody. Jejich používání se pro tento účel velmi doporučuje. Je však důležité, aby materiál poskytl nejen referenční hodnoty s návazností, ale aby také odpovídal danému použití.

**7.7.2** Matricové vlivy a další faktory, jako je koncentrační rozsah, mohou být mnohem důležitější než nejistota certifikované hodnoty. Mezi faktory, které je třeba brát v úvahu, patří:

- měřená veličina (např. koncentrace analytu),
- měřicí rozsah (např. rozsah koncentrace),
- shoda matrice a potenciální interference,
- velikost vzorku,
- homogenita a stabilita,
- nejistota měření,
- postupy charakterizace a certifikace (měření a statistické zpracování).

**7.7.3** Podrobnější informaci o výběru a použití referenčních materiálů podává EEE/RM/062 [13] a Pokyn ISO 33 [12].

## 7.8 Posouzení návaznosti komerčních referenčních materiálů

Při výběru dodavatele referenčních materiálů je třeba brát ohled na následující faktory:

- a) Shodu přípravy referenčních materiálů s normami kvality jako jsou ISO 17034 [14] nebo ISO/IEC 17025 [1]. Shoda by se měla přednostně prokazovat posouzením třetí stranou.
- b) Záznamy o výrobcí a materiálu. Například byl-li RM podroben mezilaboratornímu porovnávání, překontrolován různými metodami, nebo existují-li ve více laboratořích zkušenosti s jeho používáním v intervalu několika let.
- c) Dostupnost certifikátu a certifikační zpráva, jež vyhovuje Pokynu ISO 31 [15].
- d) Platnost údajů o certifikaci a o nejistotě včetně shody klíčových postupů s Pokynem ISO 35 [16].

**7.8.1** Některé nebo všechny tyto požadavky mohou být uvedeny v zadání zákazníka a v analytické specifikaci, ale často bývá zapotřebí profesionální úsudek analytika. Je třeba si uvědomit, že kvalita se nutně nerovná malé nejistotě a že je nutno používat kritérium vhodnosti pro daný účel.

## 8 Uvádění návaznosti

**8.1** Doklady o návaznosti se uvádějí v kalibračních certifikátech (je to podle ISO/IEC 17 025 povinný údaj) nebo pokud je vyžaduje zákazník. Taková zpráva by měla obsahovat (podle potřeby odkazy na další dostupné údaje):

- všechny použité chemické kalibrační standardy,
- identifikaci použitých referenčních standardů použitých k řízení podmínek měření, pokud je to významné.

**8.2** Uvádět podrobnosti o návaznosti v protokolu o zkoušce není obvyklé. Avšak pokud je nutné uvést důkaz o návaznosti výsledků, uvádí se obvykle do protokolu:

- identifikace použitých kalibračních standardů,
- identifikace referencí použitých k řízení podmínek měření, pokud je to významné.



## 9 Závěr

**9.1** Tato příručka představila zásady zajištění návaznosti postupů používaných kalibračními, měřicími a zkušebními laboratořemi. Dokument zastává názor shrnutý v úvodu, že:

- vývoj metody stanovuje optimalizovaný postup získání přijatelného odhadu hodnoty měřené veličiny včetně výpočtu a souboru podmínek měření,
- validace prokazuje, že tento výpočet a soubor podmínek jsou pro daný účel dostatečně úplné,
- jsou-li tyto podmínky splněny, potřebuje laboratoř pouze zajistit návaznost nebo řízení každé z hodnot v této rovnici a pro každou stanovenou podmínku,
- návaznost zajištěná kalibrací s použitím vhodných standardů měření je nutná pro kritické hodnoty měření; pro méně kritické hodnoty může být požadovaná kontrola méně přísná.

Podrobné pojednání o principech návaznosti a o nezbytných činnostech vychází z tohoto základu a poskytuje souborný a praktický přístup k zajišťování a prokazování návaznosti výsledků.

**9.2** Na závěr je nutno poznamenat, že tyto jednoduché zásady jsou použitelné jen v souvislosti se spolehlivým systémem řízení a zajišťování kvality, což je důležitým předpokladem vyjádřeným v tomto Pokynu. Jak se dále v tomto Pokynu uvádí, neposkytne žádná snaha o návaznost použitelný výsledek, pokud bude zvolen nevhodný postup, pokud nebudou zkušenosti a školení na odpovídající úrovni nebo pokud se postup použije mimo rozsah platnosti. Avšak pokud věnuje laboratoř patřičnou péči všem ostatním faktorům nezbytným pro udržení své kompetence, dovolí dodržování tohoto Pokynu laboratoři prohlašovat, že její výsledky vykazují plnou návaznost k odpovídajícím referencím.

## **Příloha: Příklady zajištění návaznosti**

Následující příklady návaznosti jsou založeny na příkladech příručky Eurachem/CITAC “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”, která je dostupná na webových stránkách Eurachem a CITAC.

Formát každého příkladu vychází ze seznamu uvedeného v oddílech 2.4 a 6.1.1, které stanovují následující činnosti jako požadavky zajištění návaznosti:

- i) Specifikování měřené veličiny, rozsahu měření a cílové nejistoty měření [7].
- ii) Výběr vhodné metody k odhadu hodnoty, tedy měřicího postupu, spolu s výpočtem – rovnicí – a podmínkami měření.
- iii) Prokázání pomocí validace, že výpočet a podmínky měření zahrnují všechny ‘ovlivňující veličiny’ (zastoupené jejich hodnotami  $x_1$  až  $x_n$  v rámečku v odstavci 2.3), které mohou významně ovlivnit výsledek nebo hodnotu přiřazenou standardu.
- iv) Určení relativního významu každé ovlivňující veličiny.
- v) Výběr a použití vhodných referenčních standardů.
- vi) Odhad nejistoty.

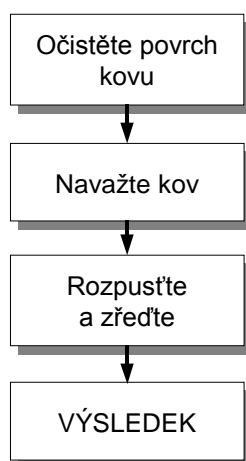
## A1 Příprava kalibračního standardu

### Specifikace měřené veličiny a cílové nejistoty měření

Kalibrační standard pro použití v laboratoři se má připravit z vysoce čistého kovu (kadmia) v koncentraci  $\approx 1000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  s požadovanou kombinovanou standardní nejistotou  $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  nebo menší. Koncentrace je definována při  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Protože se požaduje malá nejistota, je použití komerčních kalibračních roztoků neschůdné.

### Vypracování postupu přípravy kalibračního standardu

Povrch vysoce čistého kovu se očistí od kontaminace oxidy. Pak se kov odváží a posléze v odměrné baňce rozpustí v kyselině dusičné.



Jednotlivé kroky jsou:

- Povrch vysoce čistého kovu se očistí směsí kyselin k odstranění veškeré kontaminace oxidy kovu. Metodu čištění poskytl výrobce kovu a musí se provést, aby se získala čistota deklarovaná v certifikátu.
- Zvážení odměrné baňky (100 ml) prázdné a s očištěným kovem uvnitř. Použité váhy měly rozlišení 0,01 mg.
- Přidání 1 ml kyseliny dusičné (65 % hmotn.) a 3 ml deionizované vody do baňky za účelem rozpuštění kadmia (přibližně 100 mg, zváženo přesně). Poté se baňka doplní po značku deionizovanou vodou a obsah se promíchá alespoň třicetinasobným převrácením baňky.
- Koncentrace se vypočítá podle

$$c_{\text{Cd}} = \frac{1000 \cdot m \cdot \text{pur}}{V} (\text{mg}\cdot\text{l}^{-1})$$

kde jsou

$c_{Cd}$  koncentrace kalibračního standardu ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )

1000 převodní faktor z (ml) na (l)

$m$  hmotnost čistého kovu (mg)

$pur$  čistota kovu jako hmotnostní zlomek (kg/kg)

$V$  objem roztoku kalibračního standardu (ml)

Hmotnost, čistota a objem vystupují v rovnici a jsou tudíž ovlivňujícími veličinami a musí být tedy pod vhodnou kontrolou. Jelikož specifikace měřené veličiny zahrnuje implicitně i teplotu jako fixní hodnotu, pak čtyři veličiny významné pro návaznost jsou hmotnost, čistota, objem a teplota.

### Validace

Validace je nezbytným předpokladem zajištění návaznosti. Základní vlivy jsou v tomto jednoduchém a srozumitelném postupu dobře známy. Avšak důležitým a nevysloveným předpokladem je úplné rozpuštění materiálu. V praxi obvykle postačuje jednoduchá vzájemná kontrola s jinou nezávislou přípravou. Validace tedy sestává ze dvou hlavních částí. Za prvé musíme získat kalibrační roztok s podobnou kombinovanou standardní nejistotou. Takový roztok může být buď kalibrační roztok používaný dříve ve stejné laboratoři, roztok připravený odlišným postupem, nebo roztok dodávaný národním standardizačním programem jako jsou SRM roztoky NIST. Za druhé se musí koncentrace obou roztoků porovnat analytickou technikou s dostatečnými měřicími schopnostmi, aby bylo možno detekovat hrubou chybu, která mohla vzniknout neúplným rozpuštěním nebo zpětným vysrážením. Taková kontrola optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) zjistila dobrý souhlas mezi naměřenou a očekávanou hodnotou. Se zřetelem na dlouhou zkušenost s rozpouštěním to postačuje k potvrzení jednoduché specifikace.

### Určení relativního významu každé ovlivňující veličiny

Hmotnost, čistota a objem jsou veličiny zjevně rozhodující, protože jsou součástí výpočtu výsledku. Jejich vhodné reference se tedy budou muset vybírat se zřetelem na jejich nejistoty. Teplota však není zahrnuta v rovnici, a jak vyplývá z odstavců 6.5.2-3 bude vhodné uvážit, zda vyžaduje zvláštní pozornost. V odstavci 6.5.3 se navrhuje kontrola ‚nejhorším případem‘. Pro vodné roztoky byly odhadnuty následující vlivy chyby teploty (v  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$  Cd):

Chyba teploty (°C)	Chyba koncentrace (mg·l <sup>-1</sup> Cd)
10,0	2,00
5,0	1,00
1,0	0,20
0,1	0,02

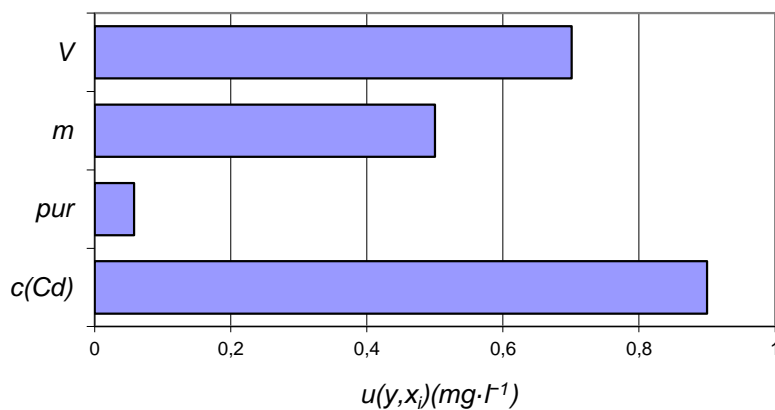
Zřejmě je přirozený rozsah teplot (představující podle příkladu v odstavci 6.5.3 chybu 10 °C) pravděpodobně nepřijatelný. Chyba 5 °C vede ale k chybě pouze 1 mg·l<sup>-1</sup> Cd, významně menší, než je požadovaná nejistota. Toho lze snadno dosáhnout v provozní laboratoři s běžnou regulací teploty. Nebude tedy třeba dalšího měření nebo kalibrace i když, jak bylo uvedeno v odstavci 6.5.5, je rozumné teplotu sledovat.

### Výběr a použití vhodných referencí

- Hmotnost  $m$  musí mít návaznost ke standardům měření (etalonům) s dostatečně malou nejistotou. To lze běžně zajistit normálním postupem kalibrování vah a potvrdit příslušným kalibračním certifikátem. Protože kalibrační intervaly jsou pro analytické váhy relativně dlouhé, kontroluje se pravidelně interním kontrolním závažím vah, zda linearita zůstává v rozmezí podle certifikátu výrobce. Platnost toho se dále každý den přezkoumává kontrolními váženými, která mají návaznost k národním standardům a mohou odhalit významné odchylky od nominálních hodnot.
- Čistota je certifikovanou vlastností referenčního materiálu, již certifikuje dodavatel, a nejistota je prokazatelně dostatečně malá pro daný účel (viz hodnoty nejistoty níže). Za předpokladu, že se povrch kovu očistí podle návodu dodaného dodavatelem, může být čistota považována za návaznou s odpovídající nejistotou.
- Objem je odměřován pomocí baňky zvoleného výrobce, jenž poskytuje informaci o návaznosti objemu baňky k národnímu standardu v kalibračním certifikátu. Výsledná nejistota tvoří podstatný, avšak přijatelný příspěvek. Protože skleněné nádoby se může časem mírně deformovat a kalibrace skleněné baňky je převládajícím zdrojem nejistoty, kontroluje se objem baňky pravidelně vážením příslušného objemu vody.
- Baňka byla kalibrována vodou při teplotě 20 °C. Kontrola laboratorní teploty ukazuje, že regulace se pohybuje v rozmezí 20 °C ± 4 °C, což je podle předpokladu (viz výše) přijatelné rozmezí, takže postačuje temperování roztoků při laboratorní teplotě. Laboratorní teplota se zjevně musí monitorovat teploměrem s menší nejistotou. V praxi se toho snadno dosáhne běžným rtuťovým skleněným teploměrem prověřovaným kalibrovaným teploměrem.

**Vyhodnocení nejistoty**

Vyhodnocení kombinované standardní nejistoty je popsáno v prvním příkladu v příručce Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement [8]. Celkovou nejistotu a její hlavní příspěvky ukazuje následující obrázek. Povšimněte si, že nejistota objemu zahrnuje příspěvek nejistoty teploty, který vychází z rozmezí okolních teplot  $20\text{ °C} \pm 4\text{ °C}$  a odpovídá přibližně  $0,4\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ , což potvrzuje přijatelnost řízení okolní teploty.



## A2 Uvolňování kadmia z keramických výrobků

### Specifikace měřené veličiny a přijatelné nejistoty

Množství kadmia uvolněného z keramických výrobků se stanovuje atomovou absorpční spektrometrií. Používaným postupem je empirický (nebo „operačně definovaný“) postup podle normy BS 6748. Je vyžadován AAS spektrometr s mezí detekce pod  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  kadmia. Cílová nejistota měření pro tento empirický postup je 10 % (vyjádřeno jako relativní standardní nejistota).

### Zavedení postupu stanovení uvolněného kadmia z keramických výrobků

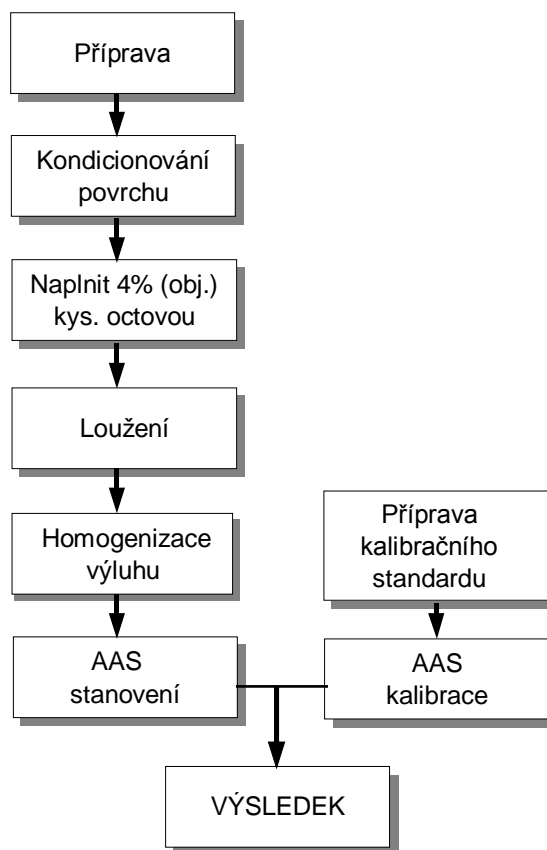
Úplný postup je uveden v britské normě BS 6748:1986 „Specification for limits of metal release from ceramic ware, glass ware, glass ceramic ware and vitreous enamel ware” [17], což představuje specifikaci měřené veličiny. Zde uvádíme pouze obecný popis.

Obecný postup sestává z následujících kroků a je znázorněn na následujícím schématu:

- i. Vzorek se temperuje na  $(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ . Když je to zapotřebí (zboží „kategorie 1“), změří se plocha povrchu. V tomto příkladu byla plocha  $2,37 \text{ dm}^2$ .
- ii. Temperovaný vzorek se naplní 4% (obj.) roztokem kyseliny při  $(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$  do výšky méně než 1 mm pod úroveň přelití měřeno od horního okraje, nebo méně než 6 mm od nejvyšší hrany vzorku s plochým nebo zkoseným okrajem.
- iii. Požadované nebo použité množství 4% (obj.) kyseliny octové se zaznamená s přesností  $\pm 2 \%$  (v tomto příkladu bylo použito 332 ml kyseliny octové).
- iv. Předmět se louží při  $(22 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$  po dobu 24 h v temnotě, přičemž se vhodnými opatřeními brání ztrátám odparem.
- v. Po loužení se roztok dostatečně promíchá kvůli homogenizaci, odebere zkušební podíl, podle potřeby zředí faktorem  $d$  a analyzuje se atomovou absorpční spektrometrií (AAS) při vhodné vlnové délce; v tomto příkladu s kalibrační křivkou získanou metodou nejmenších čtverců.
- vi. Výsledek se vypočítá a uvádí jako množství kadmia v celkovém objemu loužičího roztoku a vyjadřuje se v miligramech kadmia na čtvereční decimetr plochy povrchu pro zboží kategorie 1 nebo v miligramech kadmia v litru pro zboží kategorie 2 a 3.

Specifikace činidel a zařízení, která mohou mít vliv na nejistotu, je následující:

- čerstvě připravený 4% (obj.) roztok ledové kyseliny octové ve vodě, připravený zředěním 40 ml ledové kyseliny octové na 1 l.
- standardní roztok kadmia  $(500 \pm 1) \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  ve 4% (obj.) kyselině octové.
- potřebné laboratorní sklo by mělo být přinejmenším třídy B se zanedbatelným (pod mezí detekce) uvolňováním kadmia 4% kyselinou octovou v průběhu zkoušky.
- použitý atomový absorpční spektrometr musí pro kadmium vykazovat mez detekce ne vyšší než  $0,02 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ .



Množství kadmia  $r$  v celkovém objemu loužičího roztoku v miligramech kadmia na čtvereční decimetr plochy povrchu, stanovené postupem určeným britskou normou BS 6748:1986 ( $r$ ) a vyjádřené v  $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ , se vypočítá podle vzorce\*

$$r = \frac{c_0 \cdot V_L}{a_V} \cdot d \quad (\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2})$$

kde jsou

$r$             výsledek měření; hmotnost vylouženého Cd na jednotku plochy ( $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$ )

$V_L$           objem výluhu (l)

$a_V$           povrch nádoby ( $\text{dm}^2$ )

$d$             faktor ředění vzorku

$c_0$           koncentrace kadmia ve výluhu ( $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ) daná jako

$$c_0 = \frac{(A_0 - B_0)}{B_1}$$

\* Všimněte si, že v odkazu [8] je tato rovnice rozšířena tak, aby zahrнула vlivy koncentrace činidla, času a teploty z důvodu jednoznačného odhadu nejistoty. Zde uvádíme pouze výpočet výsledku podle kapitoly 6.



$A_0$	absorbance kovu ve vzorku výluhu
$B_0$	úsek kalibrační přímky
$B_1$	směrnice kalibrační přímky

V rovnici pro výsledek jsou čtyři parametry a další tři parametry jsou uvedeny v postupu pro řízení loužicího procesu. To dává sedm důležitých ovlivňujících veličin: koncentraci kadmia ve výluhu, objem, povrch, ředící faktor, koncentraci kyseliny, čas a teplotu loužení.

### Validace

Tento místní postup vychází ze zavedeného standardního, již validovaného postupu a lze tedy brát seznam parametrů jako úplný. Kromě toho existuje o tomto postupu bohatá literatura, která svědčí o tom, že čas, teplota a koncentrace kyseliny jsou při loužení v nemíchaném roztoku jedinými významnými parametry.

Uvedená standardní metoda neurčuje přesnou formu výpočtu  $c_0$ , a proto se připouští každá metoda s vhodnou výkonností. To zjevně přenáší odpovědnost za výběr postupu stanovení pomocí AAS a jeho validaci na laboratoř. Technika měření se podle toho podrobí validaci včetně kontroly linearity sérií řaděných kalibračních roztoků, kontroly preciznosti, meze stanovitelnosti (k ověření, zda měřená hodnota leží uvnitř lineárního rozsahu), a kontroly vychýlení (bias) nezávisle připraveným referenčním roztokem. Operační parametry přístroje, jako jsou rychlosti průtoku plynů, se při tom měnily, aby se ověřily významné vlivy. Tato opatření potvrzují, že pokud se kalibrace provádí ve stejné sérii jako měření zkušebních vzorků a parametry přístroje se během této série nemění, další dodatečné významné vlivy neexistují. Uvedená rovnice může být tedy přijata jako dostatečně úplná a není nutné uvažovat o žádných dodatečných parametrech.

### Určení relativního významu každé ovlivňující veličiny

Použitá standardní metoda poskytuje jednoznačné instrukce pro řízení všech ovlivňujících veličin včetně tolerancí měřicího zařízení a kalibračních standardů. Existují pouze dvě otázky, které je vhodné zmínit: měření související s měřením délek a konkrétní kalibrační metoda použitá pro spektrometr.

Měření délky tvoří základ pro stanovení plochy a pro objem použitého loužicího roztoku, který se určuje měřením vzdálenosti mezi hladinou loužicího roztoku a hranou zkoušené nádoby. Britská norma BS 6748:1986 výslovně požaduje zaplnění nádoby do výšky méně než 1 mm pod úroveň přetečení, měřeno od horního okraje vzorku nebo méně než 6 mm od nejvyššího okraje vzorku s plochým nebo zkoseným okrajem. Tyto požadavky nejsou samy o sobě nijak přísné, nicméně omezují chyby při plnění u většiny praktických případů na méně než 2 %. Je tudíž jasné, že měření tolerancí (jmenovitě 1 mm nebo 6 mm) bude mít malý vliv na výsledek zkoušky, pokud budou tyto požadavky splněny.

Dosáhnout při měření plochy požadovanou nejistotu bude těžší, hlavně kvůli praktickým obtížím při měření vnitřních rozměrů i u jednoduchých tvarů. Nicméně přes potřebnou péči o vlastní měření nepředstavuje kontrola měřidla či posuvného měřidla větší problém. Běžným požadavkem je měřit řádově 10 cm, a mnohá

technická měřidla to mohou měřit s nejistotami značně pod 1 % (jako relativní směrodatná odchylka). I když je měření plochy důležité, je nepravděpodobné, že by vlastní měřicí zařízení vyžadovalo zvýšenou pozornost.

Přestože metoda specifikuje nejistotu kalibračního roztoku, je přesná realizace tohoto měřicího standardu na uvážení laboratoře. O tom se pojednává více v oddílu validace.

### Výběr a použití vhodných referencí

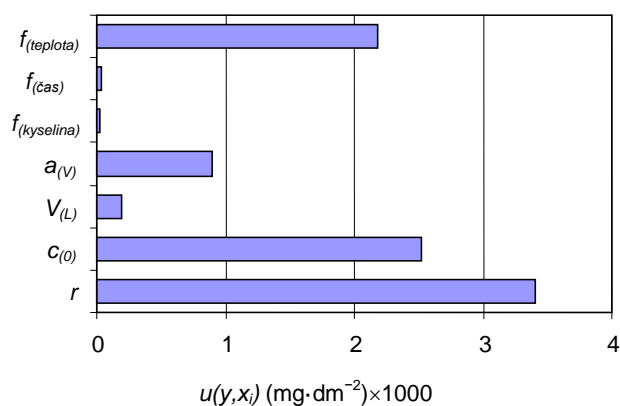
Existuje sedm ovlivňujících veličin: koncentrace kadmia ve výluhu, objem, plocha, faktor ředění, koncentrace kyseliny, čas a teplota. Pro zajištění návaznosti výsledku je nutné zajistit návaznost těchto parametrů s odpovídající nejistotou.

- *Koncentrace  $c_0$ .*  $A_0$ ,  $B_0$  a  $B_1$  vztahují koncentraci výluhu, který má největší příspěvek k nejistotě, ke koncentraci kalibračních roztoků a vytvářejí návaznost ke kalibračním roztokům. Tyto kalibrační roztoky byly získány ředěním referenčního roztoku ( $500 \pm 1$ )  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  kadmia ve 4% (obj.) kyselině octové. Referenční roztok vykazuje návaznost k roztoku NIST SRM podle certifikátu výrobce. NIST prokázal své měřicí schopnosti v klíčovém porovnávání CIPM. K ředění bylo použito odměrné nádobí, u něhož výrobce uvádí hodnotu objemu a její toleranci. Jsou rovněž známy podrobné údaje o postupu použitým k zajištění návaznosti k SI. Kalibrační roztoky byly měřeny atomovou absorpční spektrometrií a pak byly získané hodnoty absorbancí a příslušných koncentrací kalibračních roztoků použity k výpočtu úseku  $B_0$  a směrnice  $B_1$  kalibrační přímky regresní metodou nejmenších čtverců. Tyto činnosti vedly k dosažení návaznosti pro  $c_0$ .
- $V_L$  je objem výluhu. Odměruje se odměrným válcem. Kontrola objemu stanoveného odměrným válcem je tedy závislá na výrobních tolerancích, takže postačuje nákup podle specifikace od zdroje s dobrou pověstí. Jak je však obvyklé, představuje zběžná kontrola laboratorního nádobí po dodání, byť jen porovnáním s podobným vybavením rozumnou ochranu před náhodnými, i když zřídka se vyskytujícími, chybami výrobce.
- Měření *délky* se provádí pravítkem při umístění značky na nádobu pro kontrolu vzdálenosti 1 mm nebo 6 mm. Není to kritické měření, není tedy nutná zvláštní kalibrace měřidla. Pro opatrnost však bylo měřidlo zkontrolováno po převzetí do laboratoře kalibrovaným posuvným měřidlem s noniem (které bylo k dispozici pro jiná měření).
- $a_V$  je plocha povrchu nádoby. Je změřena měřidlem kontrolovaným, jak bylo uvedeno výše.
- $d$  je faktor vyjadřující ředění vzorku. Při tomto stanovení nebyl použit, takže prohlášení o návaznosti není potřeba.
- *Koncentrace kyseliny.* Britská norma BS 6748:1986 specifikuje hodnotu koncentrace kyseliny na základě ledové kyseliny octové deklarované čistoty. Protože vliv změn koncentrace kyseliny je malý (odhad nejistoty vychází ze stupně čistoty udané výrobcem), jsou existující opatření pro zajištění návaznosti k SI dostačující.
- *Čas.* Doba trvání loužení, kterou stanoví britská norma, musí být pod kontrolou. Jelikož čas jako takový má minimální vliv na kombinovanou standardní nejistotu, postačuje jeho odměřování normálními laboratorními hodinami, které vyžadují jen příležitostnou kontrolu odpovídajícím časovým signálem.

- *Teplota.* BS 6748:1986 uvádí teplotní rozmezí  $(22 \pm 2)$  °C. Jelikož vliv teploty je druhý největší příspěvek k celkové nejistotě, je nutné ji kontrolovat a měřit teploměrem, který je kontrolován a kalibrován každé dva roky výrobcem. Výrobce má pro tuto kalibrační službu akreditaci. Tímto způsobem je zajištěna návaznost k SI.

### Vyhodnocení nejistoty měření

Vyhodnocení nejistoty měření popisuje příručka Eurachem/CITAC “Quantifying uncertainty in analytical measurement”, strany 72-80 [8]. Nejistoty náležející jednotlivým ovlivňujícím veličinám jsou znázorněny na následujícím obrázku (příspěvky nejistot času, teploty a koncentrace kyseliny jsou přiřazeny jmenovitým korekčním faktorům, které byly zavedeny výhradně pro potřebu vyhodnocení nejistoty [8]).



## Literatura

1. ISO/IEC 17025:2017, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories ISO, Geneva (2017).  
[Zavedeno v ČR jako: ČSN EN ISO/IEC 17025:2018. Všeobecné požadavky na kompetenci zkušebních a kalibračních laboratoří.]
2. ISO/IEC Guide 99:2007, International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) ISO, Geneva (2007). Publikováno také (s minoritními změnami) jako JCGM 200:2012, dostupné z <http://www.bipm.org/en/publications/guides/vim.html>.  
[Zavedeno v ČR jako: TNI 01 0115:2009. Mezinárodní metrologický slovník – Základní a všeobecné pojmy a přidružené termíny (VIM). ÚNMZ Praha 2009.]
3. V J Barwick and E Prichard (Eds), Eurachem Guide: Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3 (2011). ISBN 978-0-948926-29-7. Dostupné z <http://www.eurachem.org>.  
[Český překlad: KVALIMETRIE 18. Názvosloví analytického měření: Úvod k 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod. Eurachem-ČR, Praha 2013.]
4. B Magnusson and U Örnemark (Eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Dostupné z <http://www.eurachem.org>.  
[Český překlad: KVALIMETRIE 20. Vhodnost analytických metod pro daný účel. Pokyn Eurachem, 2. vydání. Eurachem-ČR, Praha 2015 (ISBN 978-80-86322-00-1).]
5. The International System of Units (SI), 8th Edition, 2006 (updated in 2014) (<http://www.bipm.org>).
6. V Barwick (Ed), Eurachem/CITAC Guide: Guide to Quality in Analytical Chemistry: An Aid to Accreditation (3rd ed. 2016). ISBN 978-0-948926-32-7. Dostupné z <http://www.eurachem.org> a <http://www.citac.cc>.  
[KVALIMETRIE 22: Průvodce kvalitou v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci. Eurachem-ČR, Ústí nad Labem 2017. (978-80-86322-10-0)]
7. R. Bettencourt da Silva and A. Williams (Eds), Eurachem/CITAC Guide: Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement, (1st ed. 2015). Dostupné z <http://www.eurachem.org>.  
[Český překlad: KVALIMETRIE 21. Nastavení a používání cílové nejistoty v chemických měřeních. Pokyn Eurachem/CITAC. Eurachem-ČR 2016, Praha 2016. (ISBN 978-80-86322-09-4).]
8. S L R Ellison and A Williams (Eds). Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, (3rd ed. 2012). ISBN 978-0-948926-30-3. Dostupné z <http://www.eurachem.org>.  
[Český překlad: KVALIMETRIE 19. Stanovení nejistoty analytického měření. Pokyn Eurachem/CITAC, 4. české rozšířené vydání, Eurachem-ČR, Praha 2014 (ISBN 978-80-86322-07-0).]
9. ISO/IEC Guide 98-3:2008, Uncertainty of measurement – Part 3: Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM:1995), ISO, Geneva (2008).

- Dostupné také jako JGCM 100:2008 z <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>.  
[Zavedeno v ČR jako TNI 01 4109-3:2011, Nejistoty měření - Část 3: Pokyn pro vyjádření nejistoty měření (GUM:1995) (Pokyn ISO/IEC 98-3). ÚNMZ, Praha 2011.]
10. B Taylor. NIST Special Publication 811: Guide for the Use of the International System of Units (SI). (U.S. Government Printing Office, Washington, DC, October 1995).
  11. ISO 80000-9:2009, Quantities and units – Part 9: Physical chemistry and molecular physics, ISO, Geneva (2009).  
[Zavedeno v ČR jako: ČSN EN ISO 80000-9:2011 Veličiny a jednotky – Část 9: Fyzikální chemie a molekulová fyzika. ÚNMZ Praha.]
  12. ISO Guide 33:2015. Reference materials – Good practice in using reference materials, ISO, Geneva (2015).  
[Zavedeno v ČR jako: TNI Pokyn ISO 33:2016 Referenční materiály – Správná praxe při jejich používání. ÚNMZ Praha.]
  13. EEE/RM/062, The selection and use of reference materials; A basic guide for laboratories and accreditation bodies (2002). Dostupné z <http://www.eurachem.org>.
  14. ISO 17034:2016, General requirements for the competence of reference material producers. ISO, Geneva (2016).  
[Zavedeno v ČR jako: ČSN EN ISO 17034:2017 Všeobecné požadavky na kompetenci výrobců referenčních materiálů. ÚNMZ Praha.]
  15. ISO Guide 31:2015, Reference materials – Contents of certificates, labels and accompanying documentation. ISO, Geneva (2015).  
[Zavedeno v ČR jako: TNI POKYN ISO 31:2017 Referenční materiály – Obsah certifikátů, označení a doprovodných informací. ÚNMZ Praha.]
  16. ISO Guide 35:2017, Reference materials – Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. ISO, Geneva (2017).  
[Zavedeno v ČR jako: TNI POKYN ISO 35:2019 Referenční materiály – Návod pro charakterizaci a posouzení homogeneity a stability. ČAS Praha.]
  17. BS 6748:1986, Specification for limits of metal release from ceramic ware, glassware, glass ceramic ware and vitreous enamel ware. British Standards Institution, London (1986).

Poznámka: Další studijní materiál spolu s aktuálními citacemi většiny výše uvedených zdrojů lze nalézt v „Eurachem Reading List“, který je dostupný na <http://www.eurachem.org>.



---

# KVALIMETRIE

24

2. část

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnáání

Eva Klokočnicková, David Milde, Alena Nižnanská

## **OBSAH**

0. Úvod .....	49
1. Plán programu mezilaboratorní porovnávací zkoušky .....	51
2. Příprava položky zkoušky MPZ, testování homogenity a stability .....	52
2.1 Příprava položky zkoušky MPZ .....	52
2.2 Testování homogenity a stability .....	53
3. Statistické zpracování výsledků.....	56
3.1 Dvoustranná porovnáání.....	56
3.2 Statistické zpracování výsledků tří laboratoří.....	59
3.3 Statistické zpracování výsledků 4-7 laboratoří .....	59
4. Obsah instrukcí účastníkům .....	61
5. Zacházení s položkami zkoušky způsobilosti.....	62
6. Postupy pro stanovení vztažné hodnoty a směrodatné odchylky pro posuzování způsobilosti.....	63
6.1 Postup pro stanovení vztažné hodnoty (X) .....	63
6.2 Postup pro stanovení směrodatné odchylky pro posuzování způsobilosti ( $\sigma_{PT}$ )...	63
6.3 Volba vztažné hodnoty a $\sigma_{PT}$ při malém počtu účastníků.....	64
7. Hodnocení výkonnosti .....	66
8. Zpráva o účasti.....	68
9. Literatura .....	69



### 0. Úvod

Poskytovatelé zkoušení způsobilosti (proficiency testing – PT) pokrývají velkou část poptávky laboratoří po programech PT. Přesto mohou existovat důvody k tomu, aby laboratoře organizovaly či aby se účastnily malých mezilaboratorních porovnáání, například když není k dispozici žádný vhodný PT program nebo se jedná o specifické zkoušky. Účast v malém mezilaboratorním porovnáání zahrnuje ve většině případů dvě až čtyři zúčastněné laboratoře, ale může jich být i více.

Laboratoře, které organizují malá mezilaboratorní porovnáání mezi sebou, mohou použít odpovídající požadavky ČSN EN ISO/IEC 17043 [1], pokud mají být výsledky a hodnocení výkonnosti použity jako nástroj ke sledování a prokázání platnosti svých výsledků měření. Avšak norma je implicitně zaměřena na rutinní programy PT a plnění všech jejich požadavků nemusí být účelné nebo potřebné pro malé mezilaboratorní porovnáání organizované v rámci malé skupiny účastníků. Proto byl Evropskou organizací pro spolupráci v akreditaci (EA) vydán dokument pro tuto oblast EA-4/21 INF: 2018 [2]. Tento dokument vznikl v rámci pracovní skupiny EEE-PT, která kromě EA sdružuje Eurachem a Eurolab. Uvedený dokument slouží primárně pro posuzování malých mezilaboratorních porovnáání akreditačními orgány. Tyto dva dostupné dokumenty lze ještě doplnit technickým reportem IUPAC z roku 2010 týkajícím se této problematiky [3]. Věnuje se metrologickým aspektům malých mezilaboratorních porovnáání, uvádí a na příkladech ilustruje 3 základní scénáře kurčení klíčového parametru – vztažné hodnoty: 1. z odpovídajícího matricového CRM s metrologickou návazností certifikovaných hodnot (použijí se údaje z certifikátu CRM); 2. přídavek matricového CRM do reálné matrice, 3. použití laboratorního RM s omezenou návazností.

V současnosti neexistuje jednoznačný postup pro organizování a vyhodnocení výkonnosti malých mezilaboratorních porovnáání. Tento metodický návod si klade za cíl poskytnout praktické rady pro pořádání mezilaboratorních porovnáání s malým počtem účastníků, obvykle dvou až sedmi.

V tomto dokumentu se používají následující pojmy:

#### **Mezilaboratorní porovnáání [1]**

Organizování, provádění a vyhodnocení měření nebo zkoušek stejné nebo podobné položky dvěma nebo více laboratořemi za předem stanovených podmínek.

#### **Zkoušení způsobilosti [1]**

Vyhodnocení výkonnosti účastníka vůči předem stanoveným kritériím pomocí mezilaboratorního porovnáání.

#### **Malé mezilaboratorní porovnáání (malé MPZ) [2]**

Mezilaboratorní porovnáávání pro malý počet účastníků.

### **Poskytovatel zkoušení způsobilosti [1]**

Organizace, která odpovídá za všechny úkony při přípravě a provádění programu zkoušení způsobilosti.

### **Účastník [1]**

Laboratoř, organizace či fyzická osoba, která obdrží položky zkoušky způsobilosti a předá poskytovateli zkoušení způsobilosti výsledky k posouzení.

### **Položka zkoušky MPZ [2]**

Vzorek, výrobek, artefakt, referenční materiál, část zařízení, měřicí etalon (standard), soubor dat nebo jiná informace používaná pro zkoušení způsobilosti.

### **Vztažná hodnota [1]**

Hodnota přiřazená konkrétní vlastnosti položky zkoušky způsobilosti.

### **Směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti ( $\sigma_{PT}$ ) [1]**

Míra rozptýlení používaná při vyhodnocení výsledků zkoušení způsobilosti vycházející z dostupných informací.

## **1. Plán programu mezilaboratorní porovnávací zkoušky**

Organizátor mezilaboratorních porovnávacích zkoušek by měl být odborně způsobilý v oblasti zkoušení, kterého se mezilaboratorní porovnaní týká. Měl by být také způsobilý provádět statistická hodnocení výsledků zkoušek. Musí být zajištěna nestrannost a nezávislost organizátora a zajištění důvěrnosti informací získaných touto činností. Pokud se programu účastní také laboratoř, která program organizuje, mělo by být zajištěno, aby pracovníci provádějící zkoušky nebyli informováni o vztažné hodnotě ani jinak zvýhodněni.

Definice mezilaboratorního porovnaní je zmíněna v Úvodu. Organizování mezilaboratorního porovnaní vyžaduje odbornou rozvahu a přípravu celého projektu dostatečně předem. Průběh programu musí být naplánován a tento plán musí obsahovat pro účastníky všechny důležité informace, aby se mohli rozhodnout, zda má pro ně takové mezilaboratorní porovnaní význam vzhledem k jimi prováděným laboratorním činnostem. Důležitá bude nejen vlastní příprava položky zkoušky MPZ, ale i způsob vyhodnocení výsledků a stanovení úspěšnosti v tomto programu. Je potřeba předem stanovit podmínky účasti v tomto porovnaní a všechny důležité informace s potenciálními účastníky komunikovat.

Organizátor mezilaboratorního porovnaní, tj. ve většině případů laboratoř, která odpovídá za přípravu a provádění programu mezilaboratorního porovnaní, by měl písemně zdokumentovat plán, který bude detailně popisovat průběh programu. Doporučuje se v případě potřeby využít konzultaci s experty v příslušných oblastech zkoušení. Plán programu by měl být zveřejněn dostatečně předem a měl by obsahovat minimálně tyto informace:

- hlavní kontaktní osoba včetně způsobu komunikace (E-mail, telefon, adresa atd.),
- další osoby nebo subjekty důležité pro organizování programu (např. laboratoř, která připraví vzorek, statistik, který vyhodnotí výsledky atd.),
- seznam účastníků, pokud je předem znám, nebo alespoň očekávaný počet,
- měřená veličina nebo charakteristika, která se bude v programu sledovat,
- závazné požadavky (výroba, homogenita, stabilita) na položku mezilaboratorního porovnaní a způsob její přepravy k účastníkům,
- způsob balení, označování a distribuce položek,
- způsob doručení vzorku účastníkům,
- časový harmonogram mezilaboratorního porovnaní,
- informace o postupech (metodách), které je možno v programu použít a další důležité informace pro účastníky programu,
- popis metody, která bude využita pro hodnocení výsledků, kritéria použitá pro vyhodnocení výkonnosti,
- popis formátu uvádění výsledků pro účastníky mezilaboratorního porovnaní,
- cena za účast v tomto mezilaboratorním porovnaní.

## 2. Příprava položky zkoušky MPZ, testování homogenity a stability

### 2.1 Příprava položky zkoušky MPZ

Položky zkoušky MPZ musí být připraveny a otestovány způsobilou laboratoří a musí být připraveno dostatečné množství vzorků i pro případ znehodnocení nebo ztráty některé položky zkoušky MPZ a také pro testování homogenity a stability, pokud je prováděno.

Pro získávání vhodných položek zkoušky MPZ se doporučuje využívat certifikované referenční materiály (CRM), kde lze využít k hodnocení výsledků v certifikátu uvedenou certifikovanou hodnotu a její nejistotu. Tyto materiály splňují i požadavek na metrologickou návaznost položky zkoušky MPZ.

Dále lze využít v laboratoři vyrobeného a otestovaného referenčního materiálu (tzv. in-house – viz TNI Pokyn ISO 80 [4]).

V případě nedostupnosti takového materiálu lze využít při přípravě položky zkoušky MPZ metodu „spikování“ (přidavku analytu do matrice).

Položky zkoušky MPZ musí být připraveny v souladu s plánem a musí vyhovovat účelu organizovaného mezilaboratorního porovnání. Měly by v maximální míře odpovídat typu zkušebních vzorků, které se vyskytují při rutinním zkoušení účastnicích se laboratoří zejména s ohledem na matici, měřené veličiny a rozsah koncentrací sledovaných složek.

Musí být stanovena vhodná kritéria pro vyhovující homogenitu a stabilitu položek zkoušky MPZ. Tato kritéria musí vycházet ze znalosti vlivu případné nehomogenity a nestability položky programu na vyhodnocení výkonnosti účastníků. Položky zkoušky MPZ musí zůstat stabilní během celého průběhu programu. V případě zjištění nehomogenity položek zkoušky MPZ, je nutné tuto skutečnost zahrnout do nejistoty vztažné hodnoty a celkového vyhodnocení výsledků.

Testování homogenity by mělo být provedeno před distribucí vzorků účastníkům. Organizátor by měl dokumentovat postup testování homogenity a stability včetně počtu vybraných testovaných vzorků a využívat k této hodnotící činnosti informace z dostupných norem a dalších mezinárodních dokumentů. Homogenita a stabilita položky zkoušky MPZ by měla být testována na dostatečném počtu vybraných vzorků, aby se zabránilo poškození účastníka programu vzhledem k případné nehomogenitě a nestabilitě položky zkoušky MPZ.

Organizátor si musí být vědom zodpovědnosti za správnou přípravu položky zkoušky MPZ včetně jejího testování vzhledem k důsledkům, jaké mohou mít hrubé chyby při její přípravě.

Položky zkoušky MPZ musí být jednoznačně označeny a doručeny účastníkům tak, aby nedošlo ke změně jejich vlastností během distribuce vzorku.

### 2.2 Testování homogenity a stability

Pokud jsou položky zkoušky MPZ připravovány organizátorem mezilaboratorního porovnání, je třeba otestovat jejich homogenitu a stabilitu, přičemž je možné využít postupů, které jsou uvedeny v této kapitole.

#### Testování homogenity:

Testování homogenity se provádí na vhodně zvoleném počtu položek zkoušky MPZ, které byly náhodně vybrány z připravených položek. Normativní příloha B2 ČSN ISO 13528 [5] doporučuje porovnat výběrovou směrodatnou odchylku mezi vzorky  $s_s$  se směrodatnou odchylkou pro posuzování způsobilosti  $\sigma_{PT}$ . Dané položky zkoušky MPZ lze považovat za dostatečně homogenní pokud:

$$s_s \leq 0,3 \sigma_{PT}. \quad (2.1)$$

Hodnota faktoru 0,3 vychází z toho, že pokud je toto kritérium splněno, přispívá směrodatná odchylka mezi vzorky méně než 10 % k variabilitě při vyhodnocování výkonnosti. Ilustrační řešený příklad je na konci této kapitoly.

#### Testování stability:

K testování stability položek zkoušky MPZ lze použít postup uvedený v ČSN ISO 13528 [5] v normativní příloze B5. Porovnává se průměr naměřených hodnot získaný při kontrole připravených položek zkoušky MPZ před distribucí  $\bar{y}_1$  (např. z testování homogenity) s průměrem po skončení cyklu mezilaboratorního porovnání  $\bar{y}_2$ . Položky zkoušky MPZ mohou být považovány za přiměřeně stabilní, pokud platí nerovnost

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3 \sigma_{PT}, \quad (2.2)$$

kde  $\sigma_{PT}$  je směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti. Položky zkoušení způsobilosti se analyzují alespoň duplikátně. Položka či položky pro testování stability je třeba po dobu cyklu uskladnit odpovídajícím způsobem, tj. aby skladování odpovídalo tomu, jak se vzorky budou zacházet účastníci mezilaboratorního porovnání.

#### **Příklad:**

Následující příklad vychází z obvyklého uspořádání experimentů, kdy se provádí duplikátní stanovení analytu v položkách zkoušky MPZ. Postup pro případ, kdy je

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání

provedeno více opakovaných měření, je popsán v normativní příloze B3 normy ČSN ISO 13528 [5].

Organizátor mezilaboratorního porovnání vyčlenil pro testování homogenity a stability 6 položek zkoušky MPZ. Pět bylo použito k testování homogenity a jedna pro testování stability. U položek s označením H1-H5 bylo provedeno duplikátně stanovení analytu s následujícími výsledky:

Položka	Replikát 1	Replikát 2
H1	60,6	58,9
H2	58,6	59,6
H3	60,2	59,5
H4	60,5	60,0
H5	60,7	58,4

Pro výpočet směrodatné odchylky  $s_s$  je třeba nejprve vypočítat směrodatnou odchylku průměru vzorků  $s_{\bar{x}}$  a směrodatnou odchylku popisující rozptýlení výsledků v rámci vzorků  $s_w$ .

Pro výpočet  $s_{\bar{x}}$  byly spočítány průměry pro položky H1-H5 a z nich pak výběrový odhad směrodatné odchylky.

Položka	Replikát 1	Replikát 2	Průměr	Rozpětí ( $w_i$ )
H1	60,6	58,9	<b>59,75</b>	<b>1,7</b>
H2	58,6	59,6	<b>59,1</b>	<b>-1</b>
H3	60,2	59,5	<b>59,85</b>	<b>0,7</b>
H4	60,5	60,0	<b>60,25</b>	<b>0,5</b>
H5	60,7	58,4	<b>59,55</b>	<b>2,3</b>

$$s_{\bar{x}} = 0,421$$

Směrodatnou odchylku  $s_w$  získáme ze vzorce 2.3 a následně pak směrodatnou odchylku  $s_s$  ze vzorce 2.4. V případě, že rozptyl  $s_s^2 < 0$ , pak je třeba použít hodnotu  $s_s = 0$ .

$$s_w = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n w_i^2}{2p}}, \quad (2.3)$$

kde  $p$  je počet položek, v našem příkladu  $p = 5$ . Pro tento příklad  $s_w = 0,995$ .

$$s_s = \sqrt{s_{\bar{x}}^2 - \frac{s_w^2}{2}}. \quad (2.4)$$

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání

---

A opět v našem příkladu  $s_s^2 = -0,319$ , což znamená, že položky zkoušení jsou vysoce homogenní a nerovnost 2.1 je v tomto příkladu splněna, protože za  $s_s$  dosadíme 0. Homogenita je tedy dostatečná.

Po trvání cyklu daného mezilaboratorního porovnání byla analyzována jedna položka opět duplikátně s následujícími výsledky:

Položka	Replikát 1	Replikát 2	Průměr
S1	58,6	59,6	<b>59,1</b>

Hodnotu  $\bar{y}_1$  získáme jako celkový průměr všech výsledků z testování homogenity a hodnota  $\bar{y}_2 = (58,6 + 59,6)/2 = 59,1$ . V našem příkladu bylo vypočteno, že  $\bar{y}_1 = 59,7$ . Směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti  $\sigma_{PT}$  byla stanovena na 15 % celkového průměru výsledků při testování homogenity, tedy  $\sigma_{PT} = 0,15 \times 59,7 = 8,96$ . Dosazením do 2.2 získáme:

$$|59,7 - 59,1| \leq 0,3 \times 8,96$$

Vzhledem k tomu, že tato nerovnost platí ( $0,6 \leq 2,69$ ), je stabilita postačující.

### 3. Statistické zpracování výsledků

Veškeré statistické výpočty, vzorce a příklady v této kapitole jsou uvedeny pro hladinu významnosti  $\alpha = 5 \%$ , tedy se spolehlivostí 95 %. Je-li požadováno testování na jiné hladině významnosti, je nutné použít jiné kritické hodnoty, které lze najít např. v použité a doporučené literatuře v závěru tohoto dokumentu.

#### 3.1 Dvoustranná porovnání

V případě porovnání výsledků dvou laboratoří, kde každá analyzovala jeden až tři vzorky, lze k porovnání výsledků pro každý vzorek použít testování hypotéz (tzv. test shodnosti). Metodický pokyn pro akreditaci MPA-30-03-18 označuje tato porovnání jako bilaterální programy zkoušení způsobilosti.

Testování shodnosti, pokud jsou známy nejistoty měření:

Provádíme test hypotézy  $H_0: \mu_1 = \mu_2$  podle rovnice 3.1, kde  $\mu_1$  a  $\mu_2$  jsou střední hodnoty výsledků ze dvou laboratoří. Hypotéza  $H_0$  platí, jestliže

$$\frac{|x_1 - x_2|}{\sqrt{u_1^2 + u_2^2}} \leq 1,96, \quad (3.1)$$

kde  $x_1$  a  $x_2$  jsou výsledky měření ze dvou laboratoří,  $u_1$  a  $u_2$  jsou příslušné standardní kombinované nejistoty [6]. Pokud nerovnost platí, lze výsledky obou laboratoří považovat za shodné.

Pokud není známa nejistota měření, využijeme konfidenční intervaly:

K ověření platnosti hypotézy  $H_0: \mu_1 = \mu_2$  využijeme konfidenční intervaly  $L_{12}$  vypočítané podle vzorce 3.2 pro každou laboratoř. Pokud se konfidenční intervaly překrývají, lze výsledky obou laboratoří považovat za shodné. Pokud se intervaly nepřekrývají, výsledky dvou porovnávaných laboratoří nelze považovat za shodné.

$$L_{12} = \bar{x} \pm t_{(1-\frac{\alpha}{2}; n-1)} \frac{s}{\sqrt{n}}, \quad (3.2)$$

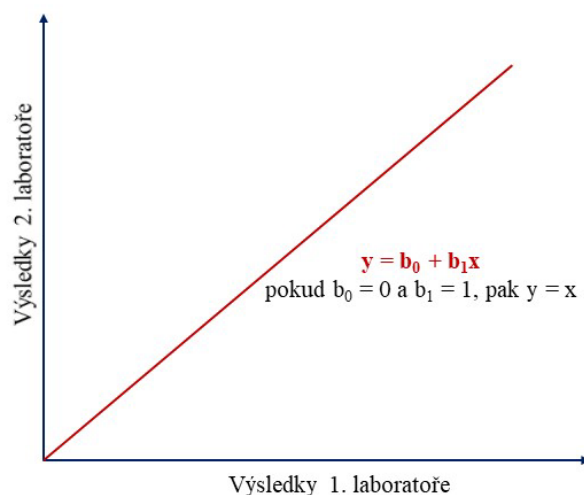
kde  $\bar{x}$  představuje aritmetický průměr,  $s$  výběrovou směrodatnou odchylku a  $t_{(0,975; n-1)}$  je kvantil  $t$  - rozdělení pro  $n$  výsledků. V tomto případě je třeba, aby každá laboratoř analyzovala vzorek nejméně 3×. V případě tří opakování lze také využít vzorec 3.4 a v případě 4-7 opakování vzorec 3.5. K tomuto účelu lze také místo konfidenčních intervalů využít  $t$  testy shodnosti.



### Porovnání pomocí lineární regrese

V případě porovnání výsledků dvou laboratoří, kde každá analyzovala 4 a více vzorků s různými koncentracemi analytu, lze k porovnání výsledků pro všechny analyzované vzorky použít lineární regresi (metodu nejmenších čtverců). Pro tento postup použijeme výsledky jedné laboratoře jako nezávisle proměnnou (osu x) a výsledky druhé laboratoře jako závisle proměnnou (osu y). Na tato data aplikujeme výpočet lineární regrese – proložení přímky – a získáme hodnoty úseku  $b_0$  a směrnice  $b_1$  pro rovnici přímky  $y = b_0 + b_1x$ . V případě shody výsledků mezi oběma laboratořemi musí platit, že  $b_0 = 0$  a  $b_1 = 1$ . Tedy rovnice přímky bude  $y = x$  (obr. 1). Vzhledem k tomu, že porovnávání provádíme se zvolenou úrovní spolehlivosti (95 %), nepostačuje vypočítané hodnoty úseku a směrnice pouze porovnat s čísly 0 a 1, ale je nezbytné provést výpočet konfidenčních intervalů pro  $b_0$  a  $b_1$  a zjistit, zda konfidenční interval  $b_0$  obsahuje 0,  $b_1$  obsahuje 1. Výpočet lze provést ve většině statistických softwarů. Níže jsou uvedeny vzorce pro výpočet konfidenčních intervalů pro ověření výpočtů ze software. Pokud platí:

- že konfidenční interval  $b_0$  obsahuje 0,  $b_1$  obsahuje 1, lze výsledky obou laboratoří považovat za shodné,
- že konfidenční interval pro  $b_0$  neobsahuje 0 a pro  $b_1$  obsahuje 1, výsledky obou laboratoří nelze považovat za shodné, jedna laboratoř má výsledky systematicky vyšší,
- že konfidenční interval  $b_0$  obsahuje 0 a pro  $b_1$  neobsahuje 1, výsledky obou laboratoří nelze považovat za shodné, výsledky se mezi laboratořemi liší v závislosti na koncentraci analytu ve vzorku,
- že konfidenční interval  $b_0$  neobsahuje 0 a pro  $b_1$  neobsahuje 1, výsledky obou laboratoří nelze považovat za shodné. Je vhodné podrobně prozkoumat příčinu rozdílů.



Obr. 1 Princip porovnání výsledků dvou laboratoří pomocí lineární regrese

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání

Konfidenční intervaly regresních parametrů  $b_i$  získáme ze vztahu 3.3.

$$L_{12} = b_i \pm t_{(0,975;n-2)} s_{bi} \quad (3.3)$$

Ve vztahu 3.3 je  $t_{(0,975;n-2)}$  kvantil  $t$  - rozdělení,  $n$  je počet analyzovaných vzorků v každé laboratoři a  $s_{bi}$  jsou příslušné směrodatné odchylky:

$$s_{b0} = s_y \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad s_{b1} = \frac{s_y}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad s_y = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - y_{i,reg})^2}{n-2}}$$

V posledním vzorci jsou  $y_i$  hodnoty naměřené a  $y_{i,reg}$  hodnoty vypočítané s použitím hodnot  $x_i$  a regresní rovnice  $y = b_0 + b_1 x$ . Podrobnosti uvádí např. [7].

### Příklad:

Dvě laboratoře chtějí mezi sebou porovnat výsledky pomocí analýzy 4 vzorků s různými koncentracemi analytu (stejně jednotky koncentrace). Následující tabulka uvádí dosažené výsledky:

Laboratoř	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4
A	0,049	0,133	1,112	8,631
B	0,05	0,13	1,05	8,66

S využitím statistických nástrojů tabulkového editoru MS Excel byly získány následující hodnoty úseku, směrnice a směrodatných odchylek:

	<i>Chyba</i>				
	<i>Koeficienty</i>	<i>stř. hodnoty</i>	<i>Hodnota P</i>	<i>Dolní 95%</i>	<i>Horní 95%</i>
Úsek	-0,02175	0,023515	0,452642	-0,12293	0,079426
Směrnice	1,005239	0,005404	2,89E-05	0,98199	1,028489

Chyba stř. hodnoty v tabulce z MS Excel odpovídá směrodatné odchylce.

Tedy:  $b_0 = -0,022, s_{b0} = 0,024$

$b_1 = 1,005, s_{b1} = 0,005$

Hodnoty mezi konfidenčních intervalů jsou uvedeny ve výstupu z MS Excel (dolní 95% a horní 95%). Lze je vypočítat i ze vzorce 3.3 s využitím kvantilu  $t$  - rozdělení  $t_{(0,975;2)} = 4,30$ . Konfidenční intervaly (se zaokrouhlenými hodnotami  $b_i$  a  $s_{bi}$  na 3 desetinná místa) pak jsou pro  $b_0 <-0,125; 0,081>$  a pro  $b_1 <0,983; 1,027>$ . Konfidenční interval pro  $b_0$  obsahuje 0 a pro  $b_1$  obsahuje 1. Výsledky obou laboratoří lze považovat za shodné.

### 3.2 Statistické zpracování výsledků tří laboratoří

Ze statistického hlediska je tato situace nejméně přehledná. Vhodnější je použít aritmetický průměr ze dvou bližších hodnot než určit medián či aritmetický průměr ze všech tří hodnot. Pro 95%ní konfidenční interval střední hodnoty můžeme využít rovnici 3.4.

$$L_{12} = \bar{x}_D \pm 4,30 \frac{s}{\sqrt{3}}, \quad (3.4)$$

kde  $\bar{x}_D$  je aritmetický průměr ze dvou sobě bližších hodnot, hodnota 4,30 platí za předpokladu normálního rozdělení (kvantil  $t$  - rozdělení) a  $s$  je výběrová směrodatná odchylka vypočtená ze všech tří hodnot.

### 3.3 Statistické zpracování výsledků 4-7 laboratoří

Pro tento počet laboratoří lze k výpočtu konfidenčního intervalu doporučit tzv. Hornův postup založený na pořádkových statistikách. Podrobnosti a kritické hodnoty  $T_H$  pro jiné hladiny významnosti či vyšší počet laboratoří lze nalézt v literatuře [8]. Pro konfidenční interval  $L_{12}$  (95 %) střední hodnoty slouží vztah 3.5:

$$L_{12} = P_L \pm R_L T_{H(0,975;n)}. \quad (3.5)$$

V této rovnici je odhadem střední hodnoty pivotová polosuma  $P_L$  (nahrazující průměr) a odhad rozptýlení (nahrazující výběrovou směrodatnou odchylku u běžného konfidenčního intervalu) představuje pivotové rozpětí  $R_L$ .

Pro získání těchto hodnot postupujeme následovně:

1. Seřadíme všechny výsledky podle velikosti (tj. vytvoříme tzv. pořádkovou statistiku).
2. Vyčíslíme hloubku pivotu podle jednoho z následujících dvou vzorců v závislosti na počtu hodnot:

$$H = \text{int} \frac{(n+1)/2}{2} \quad \text{pro } n \text{ liché} \quad H = \text{int} \frac{\frac{n+1}{2} + 1}{2} \quad \text{pro } n \text{ sudé}^*$$

\*  $\text{int}$  (integer) znamená číslo před desetinnou čárkou

3. Určíme dolní pivot  $x_{Dol} = x_{(H)}$  a horní pivot  $x_{Hor} = x_{(n+1-H)}$
4. Vypočítáme pivotovou polosumu  $P_L = (x_{Dol} + x_{Hor})/2$
5. Vypočítáme pivotové rozpětí  $R_L = x_{Hor} - x_{Dol}$
6. Vypočítáme konfidenční interval ze vztahu 3.5.

Tabulka kritických hodnot  $T_H$  pro 95%ní konfidenční interval:

$n$	4	5	6	7
$T_{H(0,975)}$	0,738	2,094	1,035	0,720

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání

---

### Příklad:

Použití Hornova postupu představíme na ilustrativním příkladu. Šest laboratoří stanovilo koncentraci účinné látky v krevním séru získaném od jednoho dobrovolníka. Byly získány následující výsledky v  $\text{mmol l}^{-1}$ :

Laboratoř	A	B	C	D	E	F
Výsledek	44	40	39	45	49	41

Pořádková statistika: 39 40 41 44 45 49

Hloubka pivotu:  $H = \text{int}((6 + 1)/2) + 1)/2 = 2$

Určení pivotů:  $x_{Dol} = 40$  a  $x_{Hor} = 45$

Pivotová polosuma:  $P_L = (40 + 45)/2 = 42,5 \text{ mmol l}^{-1}$

Pivotové rozpětí:  $R_L = 45 - 40 = 5 \text{ mmol l}^{-1}$

Konfidenční interval:  $L_{12} = 42,5 \pm 5 \cdot 1,035 \Rightarrow <37,3; 47,7> \text{ mmol l}^{-1}$

### 4. Obsah instrukcí účastníkům

Organizátor musí v dostatečném předstihu informovat účastníky o časových termínech zkoušení. Dále tyto instrukce musí obsahovat:

- požadavek, jak zacházet s položkami zkoušky MPZ způsobem používaným v laboratoři,
- podrobnosti o faktorech, které by mohly mít vliv na zkoušení (přeprava, skladování),
- počet zkoušení mezilaboratorního porovnaní, o jaké položky zkoušky se jedná a jaké zkušební metody se použijí,
- časový harmonogram zkoušení,
- podrobný popis úpravy/přípravy položek zkoušky MPZ,
- případně jakékoliv potřebné další instrukce včetně požadavků na bezpečnost,
- specifické a podrobné instrukce o způsobu zaznamenávání a uvádění výsledků zkoušek včetně nejistot (např. jednotky měření, počet platných číslic nebo desetinných míst u uváděných výsledků),
- termín odeslání výsledků,
- informace o výstupech z mezilaboratorního porovnaní,
- informace o kontaktech na organizátora.

Za všech okolností musí být položky zkoušky MPZ před vlastní distribucí chráněny před možnou kontaminací (např. stykem s nevhodnými materiály) nebo degradací.

Účastníci obdrží osobně či poštou položku zkoušky MPZ, popř. další instrukce k mezilaboratornímu porovnaní a provedou analýzu položek podle informací organizátora a výsledky zapíší do protokolu, který obdrží od organizátora nebo zašlou organizátorovi svůj protokol s výsledky (dle dohody). Protokol zaslaný organizátorem by měl minimálně obsahovat:

- označení mezilaboratorního porovnaní,
- identifikaci účastníka včetně adresy,
- označení vzorku v knize příjmů,
- datum převzetí vzorku, datum analýzy,
- tabulku výsledků (ukazatel, veličina, jednotka, rubriky pro příslušný počet opakovaných měření, rozšířená nejistota výsledků účastníka, identifikaci pracovního postupu),
- datum, jméno a podpis pracovníka odpovědného za správnost výsledků.

Účastník ve stanoveném termínu musí odeslat protokol organizátorovi, který provede vyhodnocení.

## **5. Zacházení s položkami zkoušky MPZ**

Organizátor mezilaboratorního:

- Odpovídá za patřičné označení všech položek zkoušení způsobilosti a vyloučení znehodnocení nebo kontaminace od doby jejich přípravy až po distribuci účastníkům.
- Musí zajistit bezpečné prostory na skladování, zabránit poškození či zničení položky zkoušky MPZ mezi přípravou a distribucí.

### **Balení, označování a distribuce položek zkoušky MPZ**

Způsob balení, označení a distribuce položek zkoušek způsobilosti musí být v souladu s požadavky právních předpisů a technických norem. Každá vzorkovnice musí mít jednoznačnou identifikaci, např. označení štítkem s jednoznačnou identifikací položky zkoušky MPZ. Obalové materiály musí být voleny v souladu s požadavky právních předpisů.

Organizátor musí specifikovat odpovídající prostředí pro dopravu, popř. jak monitorovat příslušné podmínky prostředí během přepravy nebo eventuálně stanovit instrukce pro dopravu vzorků a jejich skladování.

## 6. Postupy pro stanovení vztažné hodnoty a směrodatné odchytky pro posuzování způsobilosti

### 6.1 Postup pro stanovení vztažné hodnoty ( $X$ )

Existuje pět způsobů, jak získat vztažnou hodnotu a k ní přidruženou standardní nejistotu:

#### 1. Příprava

Přídavek známého množství analytu k základnímu materiálu (spikování), který analyt neobsahuje.

#### 2. Certifikovaná referenční hodnota

V případě, kdy položkou zkoušky MPZ je certifikovaný referenční materiál (CRM), jeho certifikovaná hodnota se použije jako vztažná hodnota. Výhodou tohoto způsobu je, že poskytuje návaznou vztažnou hodnotu, ale je nákladný a vhodné certifikované referenční materiály nejsou často dostupné. Standardní nejistota je odvozena z údaje o nejistotě obsažené v certifikátu certifikovaného referenčního materiálu.

#### 3. Referenční hodnoty

Vybrané připravené položky zkoušení způsobilosti jsou změřeny ve vybrané laboratoři buď za použití primární metody, nebo souběžně s certifikovaným referenčním materiálem. Vztažná hodnota se získá přímo použitou primární metodou nebo z kalibrace za použití certifikované hodnoty certifikovaného referenčního materiálu (CRM).

#### 4. Konsenzuální hodnoty z expertních laboratoří

Stanovení konsenzuální hodnoty získané z výstupů skupiny expertních či referenčních laboratoří, které dobře zvládají použitou analytickou metodu, je pravděpodobně nejvěrnější způsob, jak získat pravou hodnotu položky, ale tento způsob může být značně nákladný. Expertní laboratoře a použité metody by se měly zveřejnit před zahájením zkoušení způsobilosti.

#### 5. Konsenzuální hodnoty účastníků

Použití konsenzuální hodnoty je založené na výsledcích jednotlivých účastníků.

### 6.2 Postup pro stanovení směrodatné odchytky pro posuzování způsobilosti ( $\sigma_{PT}$ )

Existuje pět metod [5], jak stanovit směrodatnou odchylku pro posuzování způsobilosti – přijatelné rozpětí výsledků účastníků:

### 1. Předepsaná hodnota

Směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti se může nastavit na hodnotu požadovanou pro specifický úkol interpretace dat, nebo může být odvozena z požadavku formulovaného v legislativě (regulativní požadavek).

### 2. Na základě představy

Směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti se může nastavit na hodnotu odpovídající úrovni výkonnosti, které by laboratoře měly být schopny dosáhnout.

### 3. Na základě obecného modelu

Hodnota směrodatné odchylky pro posuzování způsobilosti se může odvodit z obecného modelu reprodukovatelnosti měřicí metody.

### 4. Z výsledků mezilaboratorní studie preciznosti metody měření

Je-li metoda použitá v programu zkoušení způsobilosti standardizována a jsou-li dostupné informace o její opakovatelnosti a reprodukovatelnosti, může se směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti z těchto údajů vypočítat.

### 5. Z údajů získaných z cyklu programu zkoušení způsobilosti akreditovaného poskytovatele

## 6.3 Volba vztažné hodnoty a $\sigma_{PT}$ při malém počtu účastníků

Hodnocení výsledků účastníka malého MPZ je komplikovanější než u velkého zkoušení způsobilosti.

Z metrologického hlediska a v rámci malého MPZ, se upřednostňuje použití vztažné hodnoty na základě externí reference (6.1 bod 2) před vztažnou hodnotou založenou na výsledcích účastníků (6.1 bod 5), jež naopak má být preferováno před nepoužitím vztažné hodnoty.

**6.1 bod 2:** Vyhodnocení výsledků z malého MPZ a hodnocení výkonnosti účastníků je jednoduché. Může se použít  $z$ -skóre, ve kterém jsou vztažná hodnota i  $\sigma_{PT}$  nezávislé na reportovaných výsledcích, nebo  $E_n$  číslo nebo zeta skóre, pokud vztažná hodnota a reportované hodnoty jsou uvedeny s nejistotami. Obdobně  $\sigma_{PT}$  může být externí cílová hodnota, která je v souladu s výsledky dřívějších mezilaboratorních porovnání (6.2 bod 5) nebo splňuje specifické právní předpisy, pro které byla zkouška prováděna (6.2 bod 1).

**6.1 bod 3:** Jeden z účastníků je považován za účastníka pracujícího na vyšší metrologické úrovni (tj. s nižší nejistotou měření) v důsledku použití referenční metodologie a pokročilejšího vybavení. Výsledek jeho měření může být použit jako vztažná hodnota, stejně jako  $\sigma_{PT}$ .



**6.1 bod 5:** Vztažná hodnota se určí na základě výsledků účastníků. Tento postup se může použít, pokud účastníky jsou zkušené laboratoře, které získaly způsobilost například prostřednictvím předchozích kol ze stejného nebo podobného mezilaboratorního porovnání. I zde  $\sigma_{PT}$  může být externí cílová hodnota, která je v souladu s výsledky dřívějších mezilaboratorních porovnání (6. 2 bod 5) nebo splňuje specifické právní předpisy, pro které byla zkouška prováděna (6.2 bod 1).

## 7. Hodnocení výkonnosti

Vzhledem k rozmanitým mezilaboratorním porovnáním není možné určit jedinou univerzální metodu hodnocení.

Vyhodnocení výkonnosti pomocí  $z$ -skóre (nejčastější případ) zpracovává původní analytické výsledky účastníka a provádí se normalizovaným způsobem proto, aby se staly všechny výsledky srovnatelné a účastník mohl okamžitě postihnout smysl ohodnocení [5, 9].

$$z \text{ skóre} \quad z = \frac{(x - X)}{\sigma_{PT}} \quad (6.1)$$

Ve vzorci 6.1 je  $x$  výsledek uváděný účastníkem,  $X$  vztažná hodnota,  $\sigma_{PT}$  směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti.

Klasifikace  $z$  skóre:

$|z| \leq 2,0$  takové skóre znamená „vyhovující“ výkonnost a neposkytuje žádný podnět,  
 $2,0 < |z| < 3,0$  skóre poukazuje na „problematickou“ výkonnost a signalizuje varování,  
 $|z| \geq 3,0$  takové skóre ukazuje na „nevyhovující“ výkonnost a vyžaduje opatření.

Četnost používání nejistot měření při hodnocení výkonnosti se zvyšuje se zvyšujícím se porozuměním tomuto parametru. V případě, že jsou dostupné jak nejistota vztažné hodnoty, tak i nejistota výsledků účastníků, lze k hodnocení výkonnosti použít zeta skóre nebo  $E_n$  číslo [1].

### Příklad:

Sedm laboratoří se dohodlo na organizaci malého MPZ. Po úspěšném otestování homogenity (a později i stability) bylo přistoupeno k vyhodnocení jejich úspěšnosti pomocí  $z$  skóre, kde vztažná hodnota byla určena jako pivotová polosuma z Hornova postupu z výsledků účastníků a směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti byla na základě výsledků z předchozích programů dohodnuta jako 15 % ze vztažné hodnoty. Laboratoře dodaly následující výsledky:

Laboratoř	A	B	C	D	E	F	G
Výsledek	1,45	1,38	1,66	2,14	1,74	1,98	1,76

Výpočet pivotové polosumy provedeme podle postupu uvedeného v kapitole 3.3.

Pořádková statistika:            1,38   1,45   1,66   1,74   1,76   1,98   2,14

Hloubka pivotu:                  $H = \text{int}(7 + 1)/2/2 = 2$

Určení pivotů:                     $x_{Dol} = 1,45$  a  $x_{Hor} = 1,98$

## Metodický návod pro pořádání malých mezilaboratorních porovnání

---

Pivotová polosuma:  $P_L = (1,45 + 1,98)/2 = 1,72$

Vztažná hodnota  $X = 1,72$  a směrodatná odchylka pro posouzení způsobilosti  $\sigma_{PT} = 0,15 \times 1,72 = 0,26$ . S využitím vzorce 6.1 byly získány hodnoty z-skóre pro účastníci se laboratoře:

Laboratoř	A	B	C	D	E	F	G
z zkóre	-1,04	-1,31	-0,23	1,62	0,08	1,00	0,15

Všechny laboratoře dosáhly vyhovující výkonnosti.

### Organizátor nepoužil žádnou vztažnou hodnotu

Pokud není k dispozici žádná externí vztažná hodnota a vztažná hodnota nemůže být spolehlivě vypočítána z datového souboru, pak organizátor mezilaboratorního porovnání nemá počítat skóre výkonnosti, ale může být stanovena individuální výkonnost. Uváděné výsledky lze například graficky zobrazit a diskutovat mezi účastníky malého MPZ. Toto se stává např. při stanovení mikrobiologie čistírenského kalu v návaznosti na platné právní předpisy.

### Kvalitativní programy zkoušení způsobilosti

U těchto programů, pokud se nestanoví skóre výkonnosti, mohou být výsledky převážně ve formě „ano/ne“ nebo výsledku „zjištěno/nezjištěno“, „přítomen/nepřítomen“. Pro tento druh výsledků neexistuje v současnosti obecně uznávaný přístup k hodnocení. Organizátor musí určit hodnocení výkonnosti předem.

### 8. Zpráva o účasti

Organizátor programu mezilaboratorního porovnáání by měl účastníkům poskytnout všechny potřebné informace, aby mohl účastník výsledky co nejlépe využít k zajištění platnosti výsledků zkoušek ve své laboratoři. Zpráva o účasti musí být jasná a srozumitelná a musí být předána účastníkům podle plánovaného časového harmonogramu. Výsledky programů zkoušení způsobilosti se musí účastníci dozvědět co nejdříve, aby v případě potřeby mohlo být urychleně přijato vhodné nápravné opatření.

Zprávy o účasti by měly obsahovat minimálně tyto informace:

- datum, kdy byl program organizován,
- kontaktní osoba,
- účastníci programu,
- označení programu,
- popis položky mezilaboratorního porovnáání,
- přehledně uspořádané výsledky účastníků,
- popis metody hodnocení porovnatelnosti výsledků (vztažná hodnota a její přiřazená nejistota měření, stanovení směrodatné odchylky, rozsah výsledků všech účastníků, grafické zobrazení),
- vlastní hodnocení výsledků účastníků,
- komentáře organizátora případně doporučení plynoucí z výsledků programu,
- uvedení osoby, která zodpovídá za celkový průběh programu mezilaboratorního porovnáání,
- informace o možnosti odvolat se proti vyhodnocení výkonnosti v programu mezilaboratorního porovnáání.

## 9. Literatura

1. ČSN EN ISO/IEC 17043 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti. ÚNMZ Praha, 2010.
2. EA-4/21 INF: 2018 Guidelines for the assessment of the appropriateness of small interlaboratory comparisons within the process of laboratory accreditation. Dostupné z <http://european-accreditation.org>.  
[V češtině zavedeno jako: Pokyn pro posuzování vhodnosti malých mezilaboratorních porovnání v rámci procesu akreditace laboratoře. Informativní dokument EA. Dostupné z <http://www.cai.cz>.]
3. Kuselman I., Fajgelj A.: IUPAC/CITAC Guide: Selection and use of proficiency testing schemes for a limited number of participants – chemical analytical laboratory. Pure Applied Chemistry **82**, 1099 (2010).
4. TNI POKYN ISO 80:2015 Příručka pro vlastní přípravu materiálů pro řízení kvality (QCM). ÚNMZ Praha.
5. ČSN ISO 13528 Statistické metody používané při zkoušení způsobilosti mezilaboratorním porovnáváním. ÚNMZ Praha, 2017.
6. Suchánek M.: KVALIMETRIE 16. Statistické metody v metrologii a analytické chemii. Eurachem-ČR, Praha 2009. (ISBN 80-86322-04-1).
7. Miller J.N., Miller J.C.: Statistics and chemometrics for analytical chemistry, 6<sup>th</sup> ed. Pearson Education, 2010.
8. Meloun M., Militký J.: Statistické zpracování experimentálních dat. PLUS, Praha 1994.
9. Suchánek M. (Ed.): KVALIMETRIE 17. Mezilaboratorní porovnávání a zkoušení způsobilosti: Pomůcka k zajišťování kvality v chemických, biochemických a klinických laboratořích. Eurachem-ČR, Praha 2010.

## **Řada příruček KVALIMETRIE**

### **V prodeji jsou následující tituly:**

13. Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. (2003).
17. Mezilaboratorní porovnání a zkoušení způsobilosti. Pomůcka k zajišťování kvality v chemických, biochemických a klinických laboratořích. (2010)
19. Stanovení nejistoty analytického měření. Pokyn EURACHEM/CITAC. (4. rozšířené vydání 2014).
20. Vhodnost analytických metod pro daný účel. Pokyn EURACHEM. (2. přepracované vydání 2015).
21. a) Referenční materiály v chemické analýze (2. přepracované vydání 2016).  
b) Nastavení a používání cílové nejistoty v chemických měřeních. Pokyn EURACHEM/CITAC (2015).

### **Ke stažení na webových stránkách [www.eurachem.cz](http://www.eurachem.cz) jsou následující tituly:**

16. Statistické metody v metrologii a analytické chemii. (2009).
18. a) Názvosloví analytického měření. Úvod do 3. vydání Mezinárodního metrologického slovníku.  
b) Jak vyhovět požadavkům ISO 17025 na verifikaci metod. (2013).
22. Průvodce kvalitou v analytické chemii Pomůcka k akreditaci. Pokyn EURACHEM/CITAC (3. vydání 2016).
23. Měření v chemii. Stručný přehled metrologie v chemii (2018).