



Klub Polskich Laboratoriów Badawczych

**POLLAB**

# **XVII Sympozjum**

**Wymagania techniczne normy  
PN-EN ISO/IEC 17025 w praktyce  
laboratoryjnej – 3  
Walidacja**

Kołobrzeg / Krynica Zdrój, 2011 r.





Klub Polskich Laboratoriów Badawczych

**POLLAB**

# **XVII Sympozjum**

**Wymagania techniczne normy  
PN-EN ISO/IEC 17025 w praktyce  
laboratoryjnej – 3  
Walidacja**

Kołobrzeg / Krynica Zdrój, 2011 r.

## Informacje o wydaniu

### Symposium Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB

Materiały szkoleniowe – wydanie 1

Praca zbiorowa pod redakcją: Krystyny Krzyśko – Prezesa Klubu POLLAB

Wydrukowano z materiałów dostarczonych przez autorów

Nakład 600 egz.

#### **Wydawca**

Klub Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB

ul. Kłobucka 23A, 02-699 Warszawa

[www.pollab.pl](http://www.pollab.pl)

#### **Projekt okładki i skład**

Wydawnictwo EUREKA

**Druk**

ZG Taurus

ISBN 83-923010-4-8

Warszawa 2011

## Szanowni Państwo !

Spełnienie wymagań technicznych normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ap1:2007 jest istotnym zadaniem dla każdego akredytowanego laboratorium.

Zarząd Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB, analizując problemy i potrzeby zgłaszane przez członków Klubu oraz uczestników poprzednich sympozjów zdecydował się na kontynuowanie tematu dotyczącego wymagań technicznych. Celem kolejnego symposium będzie wymiana doświadczeń w zakresie walidacji oraz doskonalenia systemu zarządzania w laboratorium w tym obszarze.

W programie symposium znalazły się referaty Polskiego Centrum Akredytacji, Polskiego Komitetu Normalizacyjnego, przedstawicieli wyższych uczelni oraz praktyków akredytowanych organizacji członków Klubu POLLAB.

**W imieniu Zarządu Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB wyrażam podziękowanie wszystkim autorom referatów za ich przygotowanie i wysoki poziom merytoryczny.**

Życzę wszystkim uczestnikom aby udział w symposium przyczynił się do rozszerzenia i wykorzystania zdobytej wiedzy przy rozpoznawaniu możliwości laboratorium w celu wykonania zlecenia klienta.

Jesteśmy przekonani, że doskonała atmosfera integracyjna XVII Symposium będzie kolejną okazją do odnowienia kontaktów, nawiązania nowych i wymiany doświadczeń.

\* \* \*

*Ponadto chciałabym w 20-tą rocznicę powstania Klubu Polskich Laboratoriów Badawczych POLLAB, która przypada w tym roku, podziękować wszystkim tym, którzy są z Klubem od samego początku, którzy tworzyli tę wspaniałą organizację. Miło mi również powitać wszystkich nowych członków, którzy dołączają do grona klubowiczów na przestrzeni tych 20 lat.*

*Życzę wszystkim, aby nadal mogli wspierać działalność Klubu POLLAB poprzez swoje uczestnictwo w pracach i w codziennym życiu klubowym.*

*Grono członków Klubu POLLAB jest liczne co stanowi o sile Klubu, a zapewniam Państwa, że Nasz Klub jest elitarną organizacją z tradycjami.*

*Wszystkiego najlepszego dla Naszego Klubu oraz wszystkich jego Członków.*

Krystyna Krzyśko  
Prezes Klubu POLLAB



# Spis treści

1.	<b>Walidacja abecadło. Ogólne zasady walidacji</b> – <i>Piotr Konieczka</i> .....	1
2.	<b>Podsumowanie: walidacja a potwierdzenie</b> – <i>Ewa Bulska</i> .....	9
3.	<b>Omówienie walidacji i szacowania niepewności pobierania próbek na przykładzie pobierania próbek kruszyw zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 932-1:1999</b> – <i>Agnieszka Kalarus, Piotr Paździorko</i> .....	17
4.	<b>Wpływ wilgotności optymalnej na wartość CBR</b> – <i>Mirosław Pytasz</i> .....	27
5.	<b>Walidacja metody oznaczania wybranych anionów o kationów w wodzie i ściekach za pomocą chromatografii jonowej</b> – <i>Agnieszka Wichłacz</i> .....	35
6.	<b>Szacownie niepewności pomiaru w znormalizowanych metodach mikrobiologicznych badania żywności i pasz jako element sprawdzania w warunkach laboratorium</b> – <i>Barbara Sokołowska</i> .....	43
7.	<b>Walidacja techniki PCR</b> – <i>Krystyna Pappelbaum</i> .....	51
8.	<b>Kwalifikacja wyposażenia pomiarowego w laboratorium jako element walidacji procesu badawczego</b> – <i>Andrzej Hantz</i> .....	57
9.	<b>Problematyka szacowania niepewności pomiaru i subiektywne metody oceny na przykładzie badań wyrobów włókienniczych</b> – <i>Beata Witkowska</i> .....	67
10.	<b>Wpływ usytuowania mikrofonu na wyniki pomiarów w badaniach poziomu ciśnienia akustycznego</b> – <i>Krystyna Klembalska</i> .....	79
11.	<b>Odporność – ważny parametr metody badawczej</b> – <i>Ryszard Dobrowolski</i> .....	89
12.	<b>Działania PKN na rzecz zainteresowanych normalizacją</b> – <i>Tomasz Henryk Schweitzer</i> .....	97



Piotr Konieczka  
**Katedra Chemii Analitycznej**  
**Wydział Chemiczny**  
**Politechnika Gdańska**

## Walidacja - abecadło. Ogólne zasady walidacji

*W pracy scharakteryzowano proces walidacji procedury analitycznej – element systemu i zapewnienia jakości wyników pomiarów analitycznych. Określono rolę i znaczenie walidacji procedury analitycznej w otrzymywaniu miarodajnych wyników pomiarów. Opisano poszczególne parametry walidacyjne. Zaprezentowany został także ogólny schemat postępowania przy wyznaczaniu poszczególnych parametrów walidacyjnych.*

### 1. WPROWADZENIE

Procedura analityczna jest „narzędziem” stosowanym do przeprowadzenia pomiaru analitycznego i uzyskania w efekcie wyniku analitycznego. Celem nadrzędnym prowadzenia pomiarów jest otrzymanie w ich następstwie miarodajnego wyniku. Dlatego bardzo ważnym jest określenie potencjału stosowanej procedury analitycznej. Jedynym sposobem by stwierdzić przydatność stosowanej procedury analitycznej, określić jej zakres stosowalności, dokonać jej oceny czy też ją zdefiniować, jest przeprowadzenie procesu walidacji.

Walidacja to proces oceny procedury analitycznej, który pozwala na stwierdzenie, czy dana procedura spełnia postawione przed nią wymagania i może być stosowana w danym, wcześniej określonym celu.

Walidacja powinna być przeprowadzona każdorazowo gdy:

- opracowywana jest nowa procedura analityczna,
- prowadzone są próby rozszerzenia zakresu stosowalności znanej procedury analitycznej np. do oznaczania danego analitu ale w innej matrycy,
- w wyniku kontroli jakości stosowanej procedury stwierdzono zmienność jej parametrów walidacyjnych w czasie,
- planowane jest wykorzystanie danej procedury analitycznej w innym laboratorium (różnym od tego, w którym była już poddana procesowi walidacji), bądź z zastosowaniem innej aparatury, czy też oznaczenia za jej pomocą mają być wykonywane przez innego analityka,
- przeprowadza się porównanie nowej procedury analitycznej z inną, znaną procedurą standardową.

## 2. PARAMETRY WALIDACYJNE

Podstawą procesu walidacji jest wyznaczenie parametrów walidacyjnych takich jak:

- selektywność,
- liniowość,
- granica wykrywalności,
- granica oznaczalności,
- zakres pomiarowy,
- precyzja (powtarzalność, precyzja pośrednia, odtwarzalność),
- poprawność,
- dokładność,
- odporność,
- elastyczność.

Zakres parametrów, których wyznaczenie powinno być podstawą procesu walidacji danej procedury analitycznej zależy od wielu czynników takich jak:

- charakteru badań analitycznych, które mają być przeprowadzone z wykorzystaniem danej procedury (analiza jakościowa czy ilościowa, analiza pojedynczej próbki czy też badanie analityczne o charakterze prac rutynowych),
- wymagań stawianych danej procedurze analitycznej,
- czasochłonności i kosztów jakie mogą być poniesione w procesie walidacji.

Im więcej parametrów wchodzących w skład procesu walidacji procedury analitycznej, tym więcej czasu należy poświęcić na jego przeprowadzenie. Z kolei im bardziej restrykcyjne przyjęte wartości graniczne (oczekiwane) odpowiednich parametrów, tym częściej należy sprawdzać, kalibrować, czy wręcz rewalidować daną procedurę analityczną.

Nie zawsze istnieje konieczność przeprowadzania całego procesu walidacji. Należy wówczas określić, który z parametrów powinien być włączony do procesu walidacji.

### 2.1. Sелеktywność

Selektywność to zdolność procedury do odróżnienia badanego analitu od innych substancji.

Selektywność określa zatem zakres zastosowań procedury analitycznej do oznaczania określonego analitu (grupy analitów) w próbce o danym składzie matrycy, bez wpływu na wartość uzyskanego sygnału sygnałów (interferencji) pochodzących od innych składników występujących w próbce.

Jest to pierwszy z parametrów, który musi zostać określony w procesie walidacji. Zanim bowiem przystąpi się do określania cechy analitu na podstawie pomiaru wielkości uzyskanego sygnału analitycznego, należy upewnić się, że dany sygnał jest spowodowany tylko i wyłącznie występowaniem w próbce analitu.

### 2.2. Liniowość

W momencie, gdy istnieje pewność w przypisaniu badanej cechy danemu sygnałowi, należy wyznaczyć zależność między tymi wielkościami.

Liniowość to przedział zakresu pomiarowego procedury analitycznej, w którym sygnał wyjściowy zależy liniowo od stężenia analitu.

Zależność liniowa jest najczęściej występującą w chemii analitycznej. W przypadku zdecydowanej większości pomiarów analitycznych wykorzystywany jest etap kalibracji, kiedy to wartościom sygnału wyjściowego przypisywane są odpowiadające im wartości zawartości analitu. W celu wyznaczenia zależności funkcyjnej wiążącej sygnał wyjściowy z zawartością analitu wykorzystuje się głównie metodę regresji liniowej.

### **2.3. Granica wykrywalności i granica oznaczalności**

Wartości tych parametrów są ściśle związane z wielkością szumów systemu pomiarowego.

Stosunek sygnału do szumu (S/N): to wielkość bezwymiarowa, która określa stosunek sygnału analitycznego do średniego poziomu szumów dla określonej próbki.

Granica wykrywalności (LOD) jest najniższym stężeniem (najmniejszą ilością) analitu, jakie może być wykryte ze statystycznie istotną pewnością. Wartość ta jest krotnością poziomu szumów – najczęściej trzykrotnością.

Jest to ten poziom stężenia, powyżej którego z odpowiednio wysokim prawdopodobieństwem jesteśmy w stanie stwierdzić obecność analitu w próbce.

Z kolei granica oznaczalności (LOQ) to najmniejsza ilość lub najmniejsze stężenie substancji, możliwe do ilościowego oznaczenia z wykorzystaniem danej procedury analitycznej z założoną dokładnością, precyzją i niepewnością. Jest ona najczęściej obliczana jako 3-krotność granicy wykrywalności.

### **2.4. Zakres pomiarowy**

Wyznaczenie liniowości i wartości granicy oznaczalności pozwala na określenie zakresu pomiarowego. Zakres pomiarowy jest określany jako przedział od wartości granicy oznaczalności do najwyższego stężenia analitu, dla którego system pomiarowy wykazuje wzrost sygnału wyjściowego. W praktyce jest to najwyższe stężenie roztworu wzorcowego, w oparciu o analizę którego przeprowadzono kalibrację.

### **2.5. Precyzja**

Precyzja jest definiowana jako stopień zgodności pomiędzy niezależnymi wynikami uzyskanymi w trakcie analizy danej próbki z zastosowaniem danej procedury analitycznej. Jej wartość jest związana z występowaniem błędów przypadkowych i jest miarą rozproszenia (dyspersji) lub rozrzutu wokół wartości średniej. Wyrażana jest za pomocą odchylenia standardowego.

Powtarzalność z kolei, jest definiowana jako precyzja wyników uzyskanych w tych samych warunkach pomiarowych (dane laboratorium, analityk, instrument pomiarowy, odczynnik).

Precyzja pośrednia to precyzja wyników otrzymanych w danym laboratorium w długoterminowym procesie pomiarowym. Precyzja pośrednia jest pojęciem bardziej ogólnym (ze względu na możliwość zmian większej liczby parametrów prowadzenia oznaczeń) od powtarzalności.

Odtwarzalność jest precyzją wyników uzyskanych przez różnych analityków w różnych laboratoriach z zastosowaniem danej metody pomiarowej.

Każdy z tych parametrów może być określany w oparciu o wyznaczoną wartość odchylenia standardowego, względnego odchylenia standardowego lub tzw. współczynnika zmienności. W trakcie wyznaczania powtarzalności zalecane jest, aby analizie poddawane były próbki o różnej zawartości analitu, jak i różniące się składem matrycy.

## 2.6. Poprawność

Poprawność to stopień zgodności wyniku oznaczenia (jako wartości średniej obliczonej na podstawie serii pomiarów) z wartością oczekiwaną.

Poprawność jest zatem parametrem, który określa stopień zgodności wyników uzyskanych z zastosowaniem danej procedury analitycznej z wynikami rzeczywistymi (oczekiwanymi). Na jej wielkość ma wpływ przede wszystkim wartość błędu systematycznego tej metody analitycznej.

Poprawność jest wyznaczana w oparciu o wyniki pomiarów dla próbek ze znaną zawartością analitu (certyfikowane materiały odniesienia, metoda dodatku wzorca) i najczęściej jest przedstawiana jako wartość odzysku.

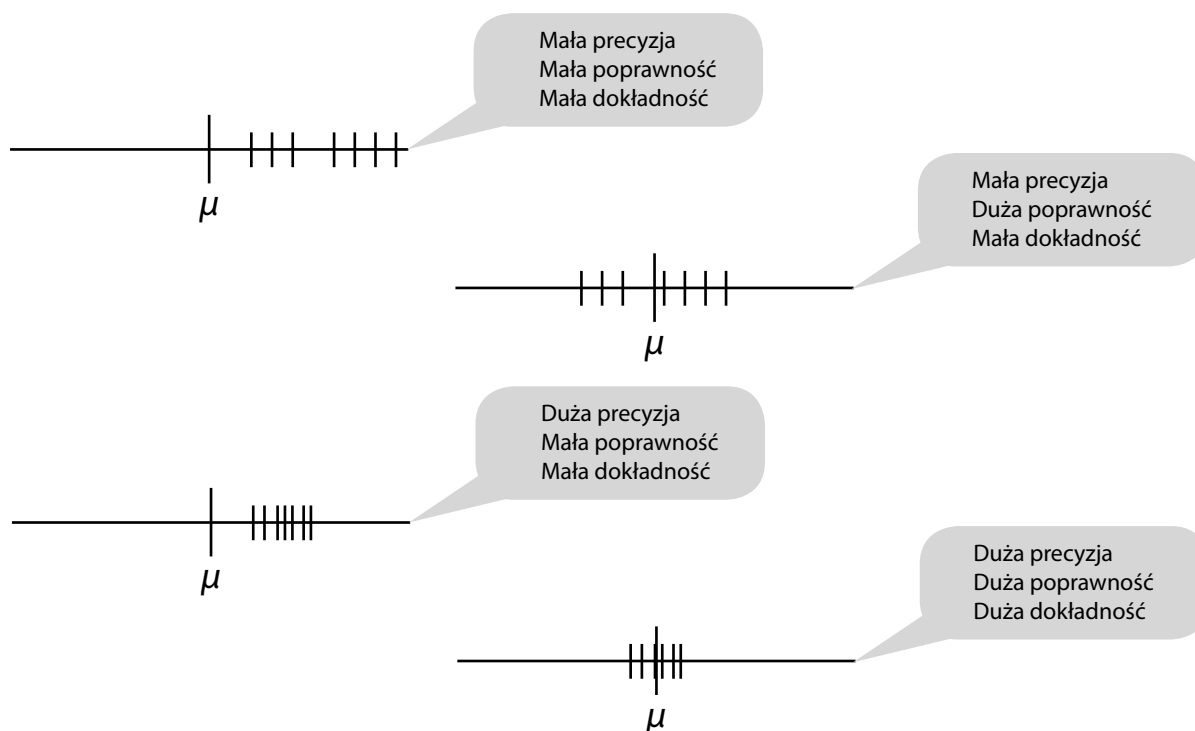
## 2.7. Dokładność

Dokładność definiowana jest jako stopień zgodności pomiędzy uzyskanym wynikiem pomiaru (pojedynczego!) a wartością rzeczywistą (oczekiwaną).

Dokładność stanowi wypadkową poprawności i precyzji. Jest to parametr, którego wartość jest dokumentowana na podstawie wyznaczonych wartości precyzji i poprawności. Im bowiem bardziej poprawne i precyzyjniejsze są wyniki uzyskane z zastosowaniem danej metody, tym dokładniejszy będzie wynik pojedynczego pomiaru. Schematycznie zależności między poprawnością, precyzją i dokładnością przedstawiono na rysunku 1.

## 2.8. Odporność

Odporność (niewrażliwość) metody jest wyznaczana w celu określenia wpływu niewielkich wahań warunków prowadzenia danej procedury analitycznej na wartość wyniku końcowego oznaczenia. Jej wartość wpływa na reżim prowadzenia pomiarów z wykorzystaniem danej metody analitycznej. Im bowiem większy jest wpływ niewielkich zmian parametrów prowadzenia procesu pomiarowego na końcowy wynik oznaczenia analitycznego, tym większą uwagę należy poświęcić utrzymywaniu tychże parametrów na stałym poziomie. Jest to parametr odnoszący się do zmian warunków wewnętrznych. Wartość odporności jest szacowana jako „różnica” między precyzją pośrednią a powtarzalnością.



**Rysunek 1:** Zależności między precyzją, poprawnością i dokładnością.  
 $\mu$  - wartość oczekiwana (rzeczywista)

## 2.9. Elastyczność

Z kolei tolerancyjność (elastyczność) to parametr określający przydatność danej metody analitycznej w stosowaniu w różnych warunkach – może być oszacowana na podstawie wartości odtwarzalności, jako „różnica” między odtwarzalnością a precyzją pośrednią.

## 3. PROCES WALIDACJI

Przed przystąpieniem do procesu walidacji należy określić podstawowe cechy charakterystyczne procedury analitycznej a mianowicie:

- rodzaj oznaczanego składnika (analitu),
- poziom stężeń analitu,
- zakres stężeń analitu,
- rodzaj matrycy próbki,
- obecność substancji przeszkadzających (interferentów) wraz z określeniem konieczności ich oznaczenia,
- istnienie odgórnych regulacji i wymogów, którym powinna sprostać procedura analityczna,
- rodzaj oczekiwanej informacji - ilościowa czy jakościowa,
- wymagana wartość granicy wykrywalności i oznaczalności,
- oczekiwana i wymagana dokładność (precyzja i poprawność) procedury,
- wymagana odporność procedury,
- wymagana aparatura – czy oznaczenia z wykorzystaniem danej procedury mają być przeprowadzone z wykorzystaniem ściśle określonego przyrządu pomiarowego, czy też przyrządów podobnego typu,
- możliwość zastosowania walidowanej procedury w innym niż dane laboratorium.

W trakcie przeprowadzenia procesu walidacji stosowane mogą być różnorodne narzędzia, takie jak:

- ślepe próbki (w tym także tzw. ślepe próbki odczynnikowe),
- roztwory wzorcowe (roztwory kalibracyjne, próbki testowe),
- próbki ze znaną ilością dodanego analitu,
- (certyfikowane) materiały odniesienia,
- przeprowadzenie serii równoległych pomiarów z tej samej próbki (powtórzenia),
- analiza statystyczna zbiorów wyników pomiarów.

Należy zaznaczyć, iż procedura może zostać poddana procesowi walidacji jedynie wówczas, gdy wcześniej zostały przeprowadzone odpowiednie badania optymalizacyjne.

Proces walidacji procedury analitycznej może być przeprowadzony właściwie w dowolnej kolejności. Biorąc jednak pod uwagę kolejność wyznaczania określonych parametrów, najbardziej logicznym wydaje się jego przeprowadzenie zgodnie ze schematem przedstawionym na rysunku 2.

#### 4. PODSUMOWANIE

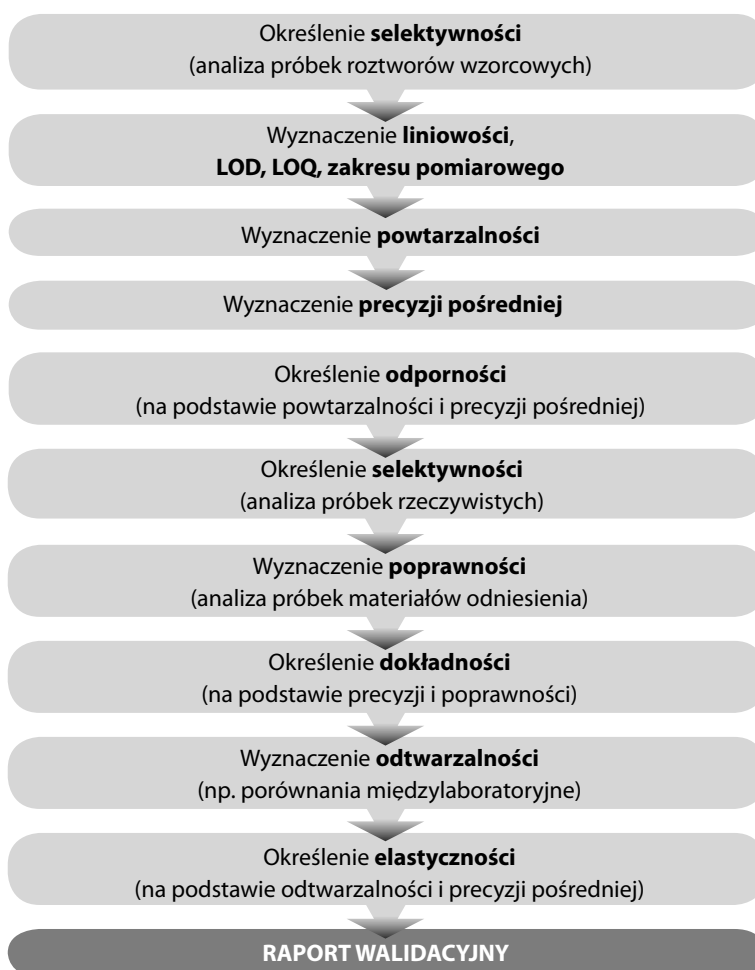
Proces walidacji metodyki analitycznej powinien być zakończony sporządzeniem raportu końcowego zawierającego:

- przedmiot i przeznaczenie procedury analitycznej (zakres jej stosowalności),
- podstawy metrologiczne pomiaru,
- rodzaj analitu(ów) i skład matrycy,
- spis wszystkich wykorzystywanych odczynników, wzorców, materiałów odniesienia wraz z ich dokładną specyfikacją (czystość, jakość, producent, w przypadku syntezy w laboratorium – dokładny opis tej syntezy), a także opis procedur służących do sprawdzania czystości stosowanych substancji i jakości wykorzystywanych wzorców,
- niezbędne środki ostrożności w trakcie przeprowadzania procedury analitycznej,
- plan opisujący sposób przeniesienia procedury z warunków laboratoryjnych do pomiarów rutynowych,
- wyznaczone wartości parametrów walidacyjnych procedury,
- spis parametrów krytycznych – tzn. tych, których niewielkie wahania mogą w sposób znaczący wpływać na wynik końcowy oznaczenia – parametry wynikające z określenia odporności procedury analitycznej,
- spis wszelkiego rodzaju sprzętu laboratoryjnego wraz z ich cechami charakterystycznymi (wymiary, klasa dokładności itp.), schematy blokowe w przypadku skomplikowanych zestawów aparaturowych,
- szczegółowy opis warunków przeprowadzenia procedury analitycznej,
- opis postępowania statystycznego wraz z załączonymi odpowiednimi równaniami i obliczeniami,
- opis procedury w celu kontroli jakości w przypadku analiz rutynowych,
- odpowiednie rysunki i wykresy np. chromatogramy, krzywe kalibracyjne,
- zgodność wyznaczonych parametrów walidacyjnych z założonymi wartościami granicznymi,
- wartość niepewności pomiaru analitycznego,
- kryteria, które należy spełnić w procesie rewalidacji,

- imię i nazwisko osoby, która przeprowadzała proces walidacji,
- spis wykorzystywanej literatury,
- podsumowanie i wnioski,
- potwierdzenie i podpis osoby odpowiedzialnej za sprawdzenie i zatwierdzenie procesu walidacji.

Należy także pamiętać o tym, że najbardziej optymalnym sposobem walidacji, jest poddanie temu procesowi całej procedury analitycznej, tzn. z uwzględnieniem wszystkich jej etapów. Bardzo często popełniany jest błąd polegający na tym, że wyznaczone parametry walidacyjne są obliczane w oparciu o wyniki pomiarów dla próbek roztworów wzorcowych, które były analizowane po ich bezpośrednim wprowadzeniu do urządzenia pomiarowego. W takim przypadku walidowane jest to urządzenie a nie cała procedura analityczna. Dlatego odpowiednio i metrologicznie poprawne zaplanowanie procesu walidacji jest kluczowe przed przystąpieniem do wykonywania pomiarów.

Walidacja procedury analitycznej to jeden z pięciu składników systemu kontroli i zapewnienia jakości wyników pomiarów analitycznych. Pozostałe cztery (niepewność pomiaru, spójność pomiarowa, materiały odniesienia i porównania między laboratoryjne) muszą być stosowane w powiązaniu z walidacją. Tylko stosowanie wszystkich z tych elementów zapewnia miarodajność otrzymywanych wyników pomiarów analitycznych.



**Rysunek 2:** Kolejność wyznaczania parametrów walidacyjnych

## 5. LITERATURA

1. Konieczka P., Namieśnik J. (red.) Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, WNT, Warszawa 2007.
2. Bulska E. Metrologia chemiczna – sztuka prowadzenia pomiarów, Malamut, Warszawa 2008.
3. International vocabulary of basic and general terms in metrology, 3-nd edition, 2004, International Organization for Standardization (Geneva, Switzerland).
4. Huber, L. Validation and Qualification in Analytical Laboratories, Interpharm/CRC Second edition 2007.
5. Fajgelj, A.; Ambrus, A. Principles and Practices of Method Validation Proceedings, Royal Society of Chemistry, 2000.
6. Konieczka, P.; Namieśnik, J. Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory: A Practical Approach, CRC Press/Francis and Taylor, Boca Raton, FL, 2009.

## Podsumowanie: walidacja a potwierdzenie

*Walidacja jest procesem pozwalającym na potwierdzenie, że wybrana procedura badawcza spełnia określone wymagania. Każda metoda badawcza, przewidziana do zastosowania w laboratorium, powinna być zwalidowana, co nie oznacza jednak, że automatycznie gwarantuje otrzymywanie wiarygodnych wyników. W związku z tym konieczne jest potwierdzenie, że w warunkach laboratoryjnych wybrana procedura pomiarowa spełnia określone wcześniej wymagania. Metody znormalizowane są uznane za zwalidowane, co oznacza, że laboratorium nie jest zobowiązane do przeprowadzenia formalnego procesu walidacji, ale powinno potwierdzić, że jest w stanie prawidłowo realizować proces pomiarowy.*

### 1. WIARYGODNOŚĆ WYNIKÓW POMIARÓW

Wiarygodność wyników pomiarów jest najważniejszym celem każdego laboratorium badawczego. Trudno jest w dzisiejszych czasach przecenić rolę pomiarów chemicznych, szczególnie w obszarze związanym z jakością życia i bezpieczeństwem społeczeństwa. Truizmem jest stwierdzenie, że nieprawidłowy wynik pomiaru jest najbardziej kosztownym społecznie. Błędne decyzje, które mogą być podjęte na podstawie niewiarygodnych wyników mogą powodować konsekwencje, których koszty przekraczają znacznie nakłady, jakie są wymagane na prowadzenie pomiarów z zapewnieniem wszystkich możliwych działań w kierunku zapewnienia ich wiarygodności.

Pomiary chemiczne są prowadzone w odniesieniu do różnych sytuacji. W przypadku leków lub substancji odżywczych istotne może być określenie czy dany lek zawiera odpowiednią zawartość substancji czynnej a substancja odżywcza odpowiedni poziom niezbędnych składników odżywczych. W przypadku potencjalnego zanieczyszczenia środowiska istotne jest natomiast stwierdzenie, czy zawartość substancji o niekorzystnym działaniu nie przekracza dozwolonego i bezpiecznego poziomu. Z tego względu podejmowane są różnorodne działania ukierunkowane na zwiększenie wiarygodności pomiarów, tak aby możliwe było zaufanie do podawanych przez laboratoria wyników.

Pomiary wielkości chemicznych wymagają optymalizacji procedury pomiarowej zarówno w zakresie kalibrowania przyrządów pomiarowych jak i przygotowania próbki, tak aby możliwe było przeprowadzenie pomiarów. Ważna jest przy tym świadomość tego, że badane obiekty mogą ulegać przemianom fizykochemicznym nie tylko w czasie przygotowania próbki, ale również w czasie jej przechowywania. Oznacza to, że badany obiekt często nie

jest stabilny w czasie. Dodatkową trudnością w pomiarach chemicznych jest złożony często skład chemiczny próbek oraz różnorodność form fizykochemicznych. Stąd niezmiernie ważne jest aby optymalizacja procedury pomiarowej, zakończona jej walidacją i potwierdzeniem przydatności do założonego celu badań była prowadzona dla próbek o jak najbardziej zbliżonych cechach do tych typowych dla badanych w laboratorium obiektów.

Jednym z bardzo wygodnych sposobów walidacji procedury pomiarowej jest wykorzystanie materiałów odniesienia, a w przypadku gdy jest to materiał z certyfikowaną zawartością danego składnika, dodatkowo możliwe jest potwierdzenie dokładności pomiarów oraz zapewnienie ich spójności pomiarowej. Zgadając się w pełni z zaletami wykorzystywania materiałów odniesienia warto zwrócić uwagę na ich formę. Przykładowo, do oznaczania metali ciężkich w surowicy krwi dostępne są liofilizowane surowice, które przed użyciem można rekonstruować dodając odpowiedniej ilości wody destylowanej. W tym miejscu ważna jest ocena, na ile otrzymany roztwór liofilizowanej wcześniej surowicy krwi będzie podobny do surowicy krwi pacjenta w aspekcie zastosowanej procedury przygotowania próbki.

***Walidacja procedury pomiarowej obejmuje wyznaczenie parametrów analitycznych, w których spójność pomiarowa oraz niepewność wyniku pomiaru determinują wiarygodność wyników.***

## **2. WALIDACJA / POTWIERDZENIE**

### **2.1. Walidacja**

Jak wspomniano wcześniej, każda metoda badawcza stosowana w laboratorium musi zostać wcześniej zwalidowana, tak aby możliwe było stwierdzenie, że spełnia określone wymagania. Walidacja jest terminem opisanym w normie PN-EN ISO/IEC 17025:2005 oraz zdefiniowana w „Międzynarodowym słowniku metrologii”.

***Walidacja jest potwierdzeniem, przez zbadanie i przedstawienie obiektywnego dowodu, że zostały spełnione szczególne wymagania dotyczące konkretnie zamierzonego zastosowania.***

***PN-EN ISO/IEC 17025:2005; p. 5.4.5.1***

Walidacja jest najlepszym sposobem pozyskania dowodów eksperymentalnych potwierdzających parametry analityczne wybranej procedury pomiarowej, tak możliwe było ich porównanie z wymaganiami dla danego, przewidywanego zastosowania. Walidacja może być przeprowadzona w laboratorium lub też laboratorium może przyjąć metodę o statusie metody zwalidowanej, szczególnie w przypadku metod znormalizowanych lub opisanych

w dokumentach renomowanych organizacji technicznych. W „Międzynarodowym słowniku metrologii”, w punkcie 2.45 walidacja, podano, że jest to „weryfikacja, gdzie określone wymagania są adekwatne do zamierzonego zastosowania”. Mimo, że definicja podana w słowniku różni się od tej opisanej w normie PN-EN ISO/IEC 17025:2005, w obu przypadkach podkreślone jest to, że każde działanie laboratorium powinno być dostosowane do zamierzonego zastosowania, czyli celu badań.

Bez względu na to, kto i kiedy przeprowadził walidację, w każdym przypadku konieczne jest potwierdzenie, że zastosowana w laboratorium procedura badawcza pozwala na uzyskanie wiarygodnych wyników. W każdym przypadku postępowanie można opisać w V krokach, opisujących działanie od wyboru metody badawczej (I), poprzez jej walidację (II), potwierdzenie (III), realizację badania (IV), aż do uzyskania wyniku pomiaru. W przypadku stosowania metod znormalizowanych, uznaje się, że walidacja została przeprowadzona w trakcie procesu przygotowywania i zatwierdzania normy, stąd laboratorium jest zobowiązane do potwierdzenia, czy realizacja tej metody umożliwi uzyskanie założonych parametrów analitycznych. Oznacza to, że etap II może zostać formalnie pominięty. W przypadku metod własnych lub metod znormalizowanych zmodyfikowanych, laboratorium jest zobowiązane do przeprowadzenia ich walidacji, co nie oznacza jednak, że konieczne jest potwierdzenie, że dana metoda w dalszym ciągu spełnia wymagania. Wymagania odnośnie zakresu etapu III (potwierdzenie) są przy tym różne, w zależności od sytuacji. Z pewnością potwierdzenie metody znormalizowanej będzie wymagało sprawdzenia wszystkich istotnych parametrów, na-

### Scenariusz postępowania w laboratorium

I. Wybór metody	II. Walidacja	III. Potwierdzenie	IV. Badanie	V. Wynik
-----------------	---------------	--------------------	-------------	----------

tomiast potwierdzenie metody własnej będzie wymagało potwierdzenia tych parametrów, które w danym laboratorium, mogą się zmieniać w czasie. Poniżej pokazano algorytm postępowania w odniesieniu do wykorzystywania metod badawczych, w danym laboratorium.

I. Wybór metody: laboratorium może wybrać metodę znormalizowaną lub opracować metodę własną.

II. Walidacja: metody opisane w normach lub dokumentach technicznych renomowanych organizacji technicznych są uznane za zwalidowane (**NIE wymagają formalnej walidacji**); metody opracowane lub zaadoptowane przez laboratorium **wymagają przeprowadzenia walidacji**.

III. Potwierdzenie: metody zwalidowane (opisane w normach lub dokumentach technicznych renomowanych organizacji technicznych) muszą uzyskać pełne potwierdzenie, że w warunkach danego laboratorium możliwa jest ich prawidłowa realizacja; ); metody nie posiadające walidacji (opracowane lub zaadoptowane przez laboratorium), po ich walidowaniu, mogą być stosowane w laboratorium, a potwierdzenie ich poprawności powinno dotyczyć tych parametrów, które mogą ulegać zmianom w czasie, lub dla których odporność metody badawczej jest ograniczona.

IV. Badanie: metoda może być stosowana w badaniach, o ile została zwalidowana, a jej prawidłowe stosowanie w danym laboratorium zostało potwierdzone.

V. Wynik: wynik pomiaru może zostać uznany za wiarygodny, o ile laboratorium stosuje potwierdzone metody badawcze o statusie metod zwalidowanych.

### 2.1.1. Procedury znormalizowane

Laboratorium ma możliwość stosowania metod badawczych pozyskanych z różnych źródeł. W wielu przypadkach dobrym wyborem jest stosowanie metod opublikowanych w normach międzynarodowych, regionalnych lub krajowych. Do najczęściej wykorzystywanych norm należą normy opracowane i wydane przez Międzynarodową Organizację Normalizacyjną ISO. Normy ISO mogą być przyjęte przez regionalne jednostki normalizacyjne, przykładowo w Europie działa Europejski Komitet Normalizacyjny (CEN – Comité Européen de Normalisation), który zajmuje się przyjmowaniem norm ISO jako norm CEN, które powinny być wprowadzone przez krajowe jednostki w państwach, członkach CEN.

Zgodnie z przepisami wewnętrznymi CEN/CENELEC, do wprowadzenia norm europejskich w niezmienionej wersji i nadania im statusu normy krajowej, są zobowiązane krajowe jednostki normalizacyjne Austrii, Belgii, Cypru, Danii, Estonii, Finlandii, Francji, Grecji, Hiszpanii, Holandii, Irlandii, Islandii, Litwy, Luksemburga, Łotwy, Malty, Niemiec, Norwegii, Polski, Portugalii, Republiki Czeskiej, Słowacji, Słowenii, Szwajcarii, Szwecji, Węgier, Włoch i Zjednoczonego Królestwa.

Procedury znormalizowane mogą być również pozyskiwane z dokumentów renomowanych organizacji technicznych. Dobrym przykładem jest międzynarodowa organizacja AOAC International (The Scientific Association dedicated to Analytical excellence), która opracowuje i publikuje metody badawcze, które spełniają wymagania stawiane procedurom zwalidowanym. Organizacja AOAC podaje w swoich dokumentach sposób przygotowania metody badawczej, przed jej opublikowaniem w czasopiśmie „Official Methods of Analysis”, co pozwala na jednoznaczne przyjęcie, że opublikowane metody przeszły szczegółową procedurę walidacji, a opublikowana wersja metody została oceniona przez grupę ekspertów.

### 2.1.2. Stosowanie procedur znormalizowanych

Zgodnie z zapisami normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 laboratorium powinno stosować metody badań spełniające wymagania klienta i właściwe do zamierzonego celu badań. Istotne wymaganie dotyczy również statusu normy, czyli daty jej wydania

***Laboratorium powinno zapewnić, że stosuje ostatnie ważne wydanie normy, chyba że jest to niewłaściwe lub niemożliwe. Kiedy jest to konieczne, norma powinna być uzupełniona o dodatkowe szczegóły, aby zapewnić jej jednakowe stosowanie.***

***PN-EN ISO/IEC 17025:2005, p. 5.4.2***

Zgodnie z wymaganiami, jednostki normalizacyjne weryfikują zawartość poszczególnych norm, a po weryfikacji nadają aktualną datę wydania. W wielu przypadkach możliwe jest prolongowanie danej normy, bez konieczności wprowadzania modyfikacji odnośnie postępowania technicznego; w takim przypadku laboratorium powinno wykonać aktualizację daty wydania normy. W zasadnych przypadkach, gdy opracowane zostały nowe procedury badawcze, gdy wprowadzone zostały nowe rozwiązania techniczne w odniesieniu do przyrządów pomiarowych lub w odniesieniu do procedury przygotowania próbek jak

również gdy zmieniły się wymagania prawne odnośnie zakresu stężeń, nowe wydanie normy zostało zmienione pod względem zawartości technicznej. W takim przypadku laboratorium powinno przeprowadzić analizę swoich możliwości technicznych i ocenić, czy jest w stanie spełnić wymagania nowego wydania danej normy metodycznej.

W sytuacji, gdy laboratorium nie posiada aparatury opisanej w nowym wydaniu normy, to jest sprawą oczywistą, że jest w stanie prawidłowo realizować metodę, jedynie tę opisaną w uznanej za nieaktualną już normie. Taka procedura badawcza została już wcześniej potwierdzona, stąd laboratorium powinno jedynie poinformować klienta, że stosowana metoda badań jest opisana w nieaktualnym wydaniu normy i upewnić się, że klient świadomie akceptując proponowaną metodę. W sytuacji, gdy laboratorium może spełnić techniczne wymagania nowego, uaktualnionego wydania normy, konieczne jest potwierdzenie, że laboratorium ma możliwość prawidłowego przeprowadzenia oznaczeń zgodnie z tą normą. Czyli potwierdzenie jest konieczne.

## **2.2. Potwierdzenie**

Jak wspomniano wcześniej, potwierdzenie czy wybrana metoda jest właściwa do zamierzonego celu badań oraz że laboratorium jest w stanie właściwie realizować wybraną i zwalidowaną metodę badawczą jest niezbędnym etapem przed wykonaniem badań dla próbek klienta. W praktyce oznacza to szczegółowe określenie wymagań, a następnie wybranie tych parametrów walidacyjnych, które będą najlepszym wskaźnikiem prawidłowości prowadzenia badań. Modyfikując nieco zapis punktu 5.4.5.2 (PN-EN ISO/IEC 17025:2005) można założyć, że „Potwierdzenie powinno być na tyle obszerne, na ile jest to konieczne przy danym zastosowaniu lub obszarze zastosowania.” Idąc dalej tropem tych zapisów, znajdujemy propozycję technik, które są polecane przy walidacji metody, stąd możemy wnioskować o możliwych sposobach wykorzystywanych przy potwierdzeniu, że dana metoda spełnia założone wymagania. Do podstawowych sposobów zaliczamy: (i) wzorcowanie z wykorzystaniem wzorców odniesienia lub materiałów odniesienia; (ii) porównanie wyników uzyskanych innymi metodami; (iii) ocena wskaźników uzyskanych w porównaniach międzylaboratoryjnych; (iv) systematyczna ocena czynników wpływających na wynik; (v) szacowanie niepewności wyników.

### **2.2.1. Kalibrowanie procedury pomiarowej**

W pomiarach wielkości chemicznych kalibrowanie przyrządu pomiarowego nie wnosi najczęściej istotnego wkładu do budżetu niepewności. W tym przypadku najważniejszym elementem jest rodzaj badanego obiektu, jego forma fizyczna, trwałość w warunkach przechowywania, stężenie oraz forma oznaczanej substancji jak i skład matrycy, czyli zawartość innych substancji. Kluczowa jest przy tym znajomość wpływu sposobu przygotowania próbki oraz wpływu składników badanego obiektu na sygnał analityczny. W większości przypadków badany obiekt musi przejść proces, w którym stosowane są różnorodne operacje fizyko-chemiczne, tak aby możliwy był pomiar sygnału analitycznego. Stąd w pomiarach wielkości chemicznych uważa się, że wynik pomiaru jest określony dla danych parametrów operacyjnych (warunki rozpuszczania /mineralizacji/ekstrakcji; warunki prowadzenia reakcji np. derywatywacji, itp.).

W celu powiązania sygnału analitycznego z zawartością oznaczanego składnika w badanym obiekcie wykorzystuje się różne sposoby wyznaczenia odzysku, czyli określenia wpływu przeprowadzonych operacji na „odzyskanie” oczekiwanej wartości zawartości czy stężenia.

Do najczęściej stosowanych sposobów wyznaczania odzysku, a tym samym określenia dokładności prowadzonych pomiarów wykorzystuje się certyfikowane matrycowe materiały odniesienia lub wzbogacanie próbek rzeczywistych. Każdy z tych sposobów ma zarówno zalety, jak też ograniczenia.

### 2.2.1.1. Certyfikowane materiały odniesienia

Materiałami odniesienia mogą być czyste substancje chemiczne lub ich mieszaniny, a te jak wspomniano wcześniej są wykorzystywane przy kalibracji przyrządów pomiarowych. Z punktu widzenia oceny procedury przygotowania próbek rzeczywistych niezmiernie ważna jest możliwość stosowania matrycowych materiałów odniesienia, o certyfikowanej zawartości oznaczanego składnika. Przeprowadzenie całego procesu analitycznego, obejmującego wszystkie etapy przygotowania próbki pozwala na ocenę na ile możliwe jest „odzyskanie” wartości certyfikowanej. Odzysk bliski 100% pozwala przypuszczać, iż zastosowana w laboratorium procedura pomiarowa zapewnia dobrą dokładność wyników. Oczywiście konieczne jest kilkukrotne powtórzenie oznaczenia, tak aby możliwe było wyznaczenie niepewności odzysku, najczęściej jako odchylenia standardowego z serii wyników.

Odzysk **R** wartości certyfikowanej dla materiału odniesienia **CRM** (ang. Certified Reference Material) wyznacza się jako iloraz wartości wyznaczonej w laboratorium  $C_{lab}$  do wartości certyfikowanej  $C_{CRM}$ . Jeżeli odzysk jest oceniany w procentach, to iloraz należy pomnożyć przez 100%, co pokazano w zapisanym poniżej równaniu.

$$R = \frac{C_{lab}}{C_{CRM}} * 100\%$$

W przypadku odzysku różniącego się istotnie od 100%, analityk może zastosować współczynnik przeliczający otrzymany sygnał, co pozwala na uwzględnienie występujących interferencji. Poza wprowadzeniem współczynnika przeliczającego konieczne jest, tak jak przy odzysku bliskim 100%, również uwzględnienie odchylenia standardowego. Takie postępowanie zapewnia spójność pomiarową poprzez odniesienie do wzorca (wartości certyfikowanej) oraz wiarygodność wyniku poprzez wyposażenie go w odpowiednią wartość niepewności złożonej z niepewności wartości certyfikowanej i niepewności wyznaczenia odzysku.

To są oczywiście niekwestionowane zalety stosowania matrycowych certyfikowanych materiałów odniesienia. Nie mniej analityk musi również uwzględnić wiele ograniczeń związanych ze stosowaniem takich odniesień. Po pierwsze przy wyborze materiału odniesienia należy kierować się rodzajem matrycy, tak aby analizując zawartość danego składnika w mleku nie stosować certyfikowanego materiału odniesienia gleby – takie przypadki spotkałam wielokrotnie w swojej praktyce laboratoryjnej. Kolejnym wymaganiem jest stężenie oznaczanego składnika, stosowanie materiału, w którym certyfikowana zawartość oznaczanego składnika jest wyższa o dwa – trzy rzędy wielkości od tej typowej dla analizowanych w laboratorium próbek nie pozwala na właściwą ocenę dokładności uzyskiwanych wyników. Oczywiście opisane sytuacje wynikają często nie z braku wiedzy analityka, ale z braku dostępności materiału odniesienia odzwierciedlającego skład badanych obiektów.

Kolejnym ograniczeniem jest postać fizyczna dostępnego materiału. Najczęściej producenci dostarczają materiał w postaci jednorodnego, dobrze rozdrobnionego, często liofilizowane-

go materiału. Oczywiście jest, że taki przygotowany materiał będzie się zachowywał inaczej niż dostarczone do laboratorium próbki na przykład żywności czy pasz. Ten efekt należy brać pod uwagę oceniając dokładność oraz niepewność pomiarów.

### 2.2.1.2. Wzbogacanie próbek rzeczywistych

Jak wspomniano wcześniej, nie zawsze możliwe jest pozyskanie odpowiedniego materiału odniesienia, stąd innym sposobem pozwalającym na ocenę odzysku jest wzbogacanie próbek rzeczywistych w znaną ilość oznaczanej substancji. Przykładowo, przy oznaczaniu zawartości pozostałości pestycydów w mięsie stosuje się dodatek wzorca danego pestycydu, lub mieszaniny pestycydów do dostarczonej do laboratorium typowej próbki. Do oceny odzysku  $R$  wykorzystuje się sygnał otrzymany dla próbki bez dodatku wzorca  $C_p$ , oraz sygnał otrzymany dla próbki wzbogaconej  $C_w$ . Różnica obu sygnałów jest porównywana z sygnałem jaki uzyskuje się dla wzorca na podstawie zależności kalibracyjnej  $C_{kalib}$ .

$$R = \frac{C_p - C_w}{C_{kalib}} * 100\%$$

Zaletą metody wyznaczania odzysku dla wzbogaconych próbek rzeczywistych jest forma fizyczna i skład chemiczny próbki, idealnie odzwierciedlający cechy analizowanych próbek. Ograniczeniem takiego postępowania jest jednak ryzyko, iż nie znamy w jakiej formie chemicznej występuje analit w próbce i czy dodany do próbki związek chemiczny zostanie wbudowany w taki sam sposób jak oryginalnie występujący w próbce. Takim przykładem może być oznaczanie rtęci we krwi. Badania poświęcone ocenie wpływu spożycia dużych ilości ryb u mieszkańców krajów nadbałtyckich obejmowały oznaczanie zawartości rtęci w postaci nieorganicznej oraz w postaci metylortęci we krwi. Do oceny dokładności procedury pomiarowej zastosowano wzbogacanie próbek krwi za pomocą znanej ilości roztworu wzorcowego rtęci. Okazało się, że zastosowanie mieszania nawet przez kilkadziesiąt minut skutkowało odzyskiem bliskim 100%. Pozostawienie próbek z dodatkiem wzorca w temperaturze około (37°C przez 4 godziny skutkowało zmniejszeniem wartości odzysku do 70%.

### 2.2.2. Porównania międzylaboratoryjne

Dobrym źródłem informacji, które mogą być wykorzystane w procesie potwierdzenia, czy dana metoda badawcza spełnia wymagania są wyniki uzyskane w porównaniach międzylaboratoryjnych. W zależności od uzyskanych wyników oraz od zastosowanego wskaźnika, udział w takim porównaniu może być dobrym dowodem eksperymentalnym potwierdzającym wiarygodność uzyskiwanych za pomocą danej procedury pomiarowej wyników lub może być istotną informacją odnośnie konieczności przeprowadzenia działań korygujących.

Organizator porównań, zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO/IEC 17043:2010, powinien przekazać uczestnikom raport końcowy zawierający wszystkie niezbędne informacje, między innymi wyniki otrzymane od uczestników danego porównania, wraz z wartościami niepewności oraz szczegółową informację na temat algorytmu zastosowanego do obliczania wskaźnika oceny laboratorium. Należy przy tym pamiętać, że podobnie jak w przypadku stosowania certyfikowanych materiałów odniesienia, ważna jest analiza zgodności materiału wykorzystywanego w porównaniu względem rodzaju próbek analizowanych przez dane laboratorium.

### 3. PODSUMOWANIE

Walidacja procedury pomiarowej jest jednym z najważniejszych działań chemika analityka w kierunku zapewnienia wiarygodności wyników pomiarów. Każda procedura musi przejść proces walidacji, bądź w procesie normalizacyjnym bądź w laboratorium. Procedury o statusie normy są uznawane za procedury zwalidowane, a przed ich wykorzystaniem laboratorium musi potwierdzić możliwość ich prawidłowej realizacji. Procedury walidowane przez laboratorium powinny być potwierdzane w odniesieniu do tych parametrów, które mogą zmieniać się w czasie, lub względem których odporność metody jest ograniczona.

### 4. LITERATURA

- [1] Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących”
- [2] DA-06 „Polityka Polskiego Centrum Akredytacji dotycząca zapewnienia spójności pomiarowej”
- [3] ILAC\_P10:2002 „Polityka ILAC dotycząca spójności pomiarowej wyników pomiarów”, wydanie polskie, Polskie Centrum Akredytacji
- [4] PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 „Międzynarodowy słownik metrologii; Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM)”, PKN (2010)
- [5] Bulska E., „Metrologia chemiczna: sztuka prowadzenia pomiarów”, ISBN 978-83-925269-2-6, wyd. MALAMUT (2008)
- [6] Hulanicki A., „Współczesna chemia analityczna: wybrane zagadnienia”, ISBN 83-01-13581, PWN (2001)

Agnieszka Kalarus, Piotr Paździorko  
**Zakład Badań Laboratoryjnych, FERROCARBO Sp. z o.o.**  
**Kraków**

# Omówienie walidacji i szacowania niepewności pobierania próbek na przykładzie pobierania próbek kruszyw zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 932-1:1999

*W referacie omówiono sposób, w jaki przeprowadzono walidację pobierania próbek wraz z oszacowaniem niepewności. Przybliżono również podstawy klasyfikacji błędów pobierania próbki zgodnie z teorią pobierania próbki opracowaną przez Pierre Gy. Przedstawiono metody doświadczalne szacowania niepewności z uwzględnieniem pobierania próbek.*

## 1. WPROWADZENIE

Podstawowa metodyka szacowania niepewności pomiarów (modelowanie), zgodnie z wytycznymi Przewodnika GUM [1] zdążyła zakorzenić się już w większości polskich laboratoriów. Zazwyczaj jednak Laboratoria skupiają się na oszacowaniu niepewności samej procedury analitycznej, nie uwzględniając przy tym etapu, jakim jest pobieranie próbek. Należy zaznaczyć, że właściwe oraz dokładne pobieranie i transport próbek jest wstępnym warunkiem uzyskania wiarygodnych wyników badań. Oszacowanie niepewności poboru próbek nie jest łatwym oraz „tanim” przedsięwzięciem. W najprostszym przypadku, podczas stosowania metody podwojenia pobierania próbek, koszty szacowania niepewności mogą podnieść koszt badania próbek średnio o 40%.

Głównym celem referatu jest zwrócenie uwagi na istotność przeprowadzania walidacji i szacowania niepewności poboru próbek.

## 2. ŹRÓDŁA NIEPEWNOŚCI POBIERANIA PRÓBK

W procesie poboru próbki można wyodrębnić siedem podstawowych czynników, wpływających na niepewność. Przewodnik EURACHEM [2] wymienia następujące czynniki:

- Niejednorodność (stopień równomierności rozmieszczenia właściwości lub składnika w całej badanej masie materiału);
- Strategia pobierania próbki (ustalony sposób postępowania mający na celu wydobywanie, pozyskanie, przechowanie, transport i przygotowanie części, która ma być wydzielona z populacji jako próbka);

- Przemieszczanie masy środowiska (przykładowo zmiana gęstości);
- Stan fizyczny masy (stały, ciekły, gazowy);
- Temperatura i ciśnienie;
- Proces pobierania próbki;
- Transport i zabezpieczenie próbki.

Powyższe czynniki można rozszerzyć o klasyfikację błędów pobierania próbki, opisaną w mało rozpowszechnionej teorii pobierania próbki wg Pierre Gy [3]. Błędy pobierania próbki można sklasyfikować jako:

- Błędy nieprawidłowego pobierania próbki (powstałe głównie w wyniku błędu grubego, pomijane w oszacowaniu niepewności, zgodnie z przyjętymi zasadami Przewodnika GUM). Do błędów tych zalicza się:
  - błąd ważenia (SWE);
  - błąd charakterystyki punktu (PME);
  - błąd wyboru porcji próbki (IDE);
  - błąd pobierania porcji próbki (IXE);
  - błąd przygotowania porcji próbki i próbki (IPE).
- Błędy prawidłowego pobierania próbki, do których zalicza się:
  - błąd wyboru punktu (PSE);
  - błąd ciągły wyboru punktu (PSE 1);
  - błąd okresowy wyboru punktu (PSE 2);
  - błąd grupowania i segregacji (GSE);
  - podstawowy błąd pobierania próbki (FSE).

Niejednorodność materiału, takiego jak np. kruszywo zawsze powoduje wzrost niepewności. Dlatego tak ważne jest pełne oszacowanie niepewności, które będzie uwzględniać niepewność związaną z poborem próbki.

### 3. METODY SZACOWANIA NIEPEWNOŚCI

Literatura podaje dwa główne podejścia do szacowania niepewności pomiaru:

- podejście modelowe,
- podejście doświadczalne.

Podejście modelowe (szeroko opisane w rozdziale 8 Przewodnika GUM) zakłada wstępną identyfikację wszystkich źródeł niepewności, ilościowe określenie tych źródeł oraz połączenie wszystkich składowych, uzyskując w efekcie końcowym złożoną niepewność standardową.

Podejście doświadczalne opiera się na odtwarzalności pomiaru, oszacowanej, czy to na podstawie badań własnych, czy też na podstawie porównań międzylaboratoryjnych. Niewątpliwą zaletą tego sposobu jest otrzymanie wiarygodnego oszacowania niepewności bez konieczności wyodrębniania poszczególnych składowych. Sposób ten dzieli źródła niepewności na pochodzące od czynników losowych lub systematycznych.

Nadrzędnym celem podejścia modelowego, czy też doświadczalnego jest uzyskanie wystarczająco wiarygodnego oszacowania całkowitej niepewności pomiaru.

W podejściu doświadczalnym istnieje pięć metod szacowania niepewności, które przedstawiono w Tabelicy 1.

**Tablica 1:** Metody doświadczalnego szacowania niepewności

Metoda	Krótki opis metody
Podwojenia	IPolega na powtarzaniu pobierania przez tego samego próbkobiorcę. Ponieważ obydwie próbki podlegają przygotowaniu fizycznemu w efekcie końcowym otrzymuje się dwie oddzielne próbki analityczne. Należy zaznaczyć, że metoda nie uwzględnia udziału błędu systematycznego
Strategie pobierania próbek	Polega na zastosowaniu przez jednego próbkobiorcę kilku strategii pobierania próbek. Metoda pozwala wykryć błąd systematyczny tylko pomiędzy poszczególnymi strategiami poboru.
Porównanie międzylaboratoryjne pobierania próbek	Polega na zastosowaniu przez wielu próbkobiorców tej samej strategii poboru próbki (na zasadzie porównania międzylaboratoryjnego). Metoda pozwala wykryć błąd systematyczny pomiędzy próbkobiorcami
Badanie biegłości pobierania próbek	Polega na zastosowaniu przez wielu próbkobiorców różnych strategii poboru próbki. Metoda pozwala na wykrycie błędu systematycznego związanego z poborem próbki
Wariografia	Metoda ta ma zastosowanie do określenia zmian w czasie lub przestrzeni podczas pobierania próbki. Jest narzędziem służącym do identyfikacji oraz ilościowego określenia części składowych niepewności losowych błędów poboru próbki, głównie spowodowanych zmianami w czasie

Najbardziej rozpowszechnioną metodą stosowaną w podejściu doświadczalnym jest metoda podwojenia, dlatego też wykorzystano ją w niniejszym referacie do oszacowania niepewności pobierania próbek kruszyw.

Należy zwrócić uwagę, że każdy ze sposobów szacowania niepewności (modelowy czy doświadczalny) ma w zależności od sytuacji swoje zalety i wady. W Tabelicy 2. wskazano główne zalety i wady stosowania poszczególnych sposobów szacowania niepewności.

**Tablica 2:** Wady i zalety szacowania niepewności

Podejście modelowe		Podejście doświadczalne	
Zalety	Wady	Zalety	Wady
Łatwa identyfikacja głównych składowych niepewności	Może wymagać wstępnych, szczegółowych badań	Pozwala na uwzględnienie wszystkich źródeł niepewności	Zwykle nie pozwala na ilościowe określenie poszczególnych składowych niepewności

Jednoznaczna ocena wpływu poszczególnych składowych w przyjętym modelu	Może wymagać dodatkowych informacji odnośnie zmienności	Nie wymaga wcześniejszej identyfikacji źródeł niepewności	Daje jedynie przybliżoną wartość niepewności
Prowadzi do bardziej szczegółowej oceny niepewności	Może wymagać oszacowań lub założeń dotyczących ośmiu rodzajów błędów pobierania próbki (w przypadku wykorzystania teorii pobierania próbki)	Nie opiera się na teoretycznym modelu pobierania próbki ziarnistej, co w przypadku gazów, cieczy lub biomasy jest niewątpliwą zaletą	Wartości ekstremalne powtarzanych pomiarów mogą prowadzić do przeszacowania niepewności
Korzystniejszy w przypadku długoterminowych poborów próbek	Czasochłonny, przez co kosztowny	Korzystniejszy w przypadku pojedynczych poborów próbek	Czasochłonny, przez co kosztowny

#### 4. SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU POBORU PRÓBEK KRUSZYW

Badania przeprowadzono na składowisku stożkowym kruszywa grubego, w celu możliwości przeznaczenia kruszywa do mieszanek bitumicznych i powierzchniowych utrwaleń stosowanych na drogach, lotniskach i innych powierzchniach przeznaczonych do ruchu zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 13043:2004+Ap1:2010 [4].

Ponieważ kruszywo na składowisku stożkowym ulega segregacji, zgodnie z Załącznikiem C normy PN-EN 932-1:1999 [5], próbki pobierano z wnętrza składowiska. Z dziesięciu losowo wybranych miejsc składowiska pobierano próbki za pomocą ładowarki. Ładowarka w każdym punkcie pobierała po 8 łyżek kruszywa. Z co drugiej łyżki próbkobiorca podwójnie pobierał po ok. 50 kg kruszywa, z którego usypywał dwa odrębne stożki. Próbki następnie pomniejszano metodą kwartowania, przygotowując tym samym po dwie oddzielne próbki pierwotne o masie ok. 10 kg każda.

W dalszym etapie próbki suszono w suszarce z wymuszonym obiegiem powietrza przez okres 12 godzin, w temperaturze 105°C. Następnie próbki pomniejszano do wielkości ok. 10 kg i oznaczano całkowity wskaźnik płaskości zgodnie z wymaganiami normy PN-EN 933-3:2008 [6] oraz zawartość pyłów zgodnie z normą PN-EN 933-1:1999+A1:2004 [7].

Na etapie planowania walidacji ustalono następujące cele:

- zapewnienie, że można uzyskać niepewność pomiaru na poziomie spełniającym przyjęte kryteria,
- opisanie składowych niepewności, w celu identyfikacji etapów pobierania próbki i analizy, które mogą wymagać dopracowania.

W Tablicach 3-4 przedstawiono wyniki przeprowadzonych oznaczeń.

**Tablica 3:** Wyniki oznaczenia wskaźnika płaskości

Badana próbka pierwotna	Wskaźnik płaskości, %			
	A1	A2	B1	B2
1	19	19	18	18
2	18	18	15	16
3	20	20	21	21
4	20	20	20	21
5	19	19	17	16
6	19	19	18	16
7	18	18	18	17
8	21	20	12	18
9	18	19	19	18
10	19	19	18	19

**Tablica 4:** Wyniki oznaczenia zawartości pyłów

Badana próbka pierwotna	Zawartość pyłów, %			
	A1	A2	B1	B2
1	1,3	1,1	1,0	0,9
2	1,6	1,4	1,1	1,7
3	1,5	1,6	1,3	1,1
4	1,8	1,3	1,2	1,4
5	2,1	1,9	1,8	1,8
6	1,6	1,4	0,8	1,7
7	1,5	1,7	1,1	1,2
8	1,1	1,3	1,3	0,9
9	2,4	4,2	1,2	1,4
10	1,7	0,9	1,3	1,5

W toku analizy stwierdzono, że uzyskane wyniki pozwalają wnioskować, iż stosunkowo duża zgodność pomiędzy wynikami, wskazuje na małą niepewność pobierania próbek. Wyrażenie ilościowe składników niepewności pomiaru oraz dwóch głównych składowych, jakimi są w tym przypadku niepewność poboru próbki oraz niepewność procesu analitycznego przeprowadzono, stosując analizę wariancji (ANOVA).

Analiza wariancji (ANOVA) jest metodą statystyczną, służącą do badania obserwacji, które zależą od jednego lub wielu czynników działających równocześnie. Metoda ta wyjaśnia, z jakim prawdopodobieństwem wyodrębnione czynniki mogą być powodem różnic między obserwowanymi średnimi w grupach.

W Tabelicy 5. zestawiono dane obliczeniowe niepewności procesu pomiarowego oznaczania wskaźnika płaskości z zastosowaniem analizy wariancji (ANOVA).

**Tablica 5:** Analiza ANOVA – proces analityczny oznaczania wskaźnika płaskości

Identyfikacja próbki	Oznaczony wskaźnik płaskości FI, %		Wartość średnia $\bar{X}_a$	Suma kwadratów różnic wewnątrz grup $(x_{i1} - \bar{X}_a)^2$
	Wynik 1 $x_{i1}$	Wynik 2 $x_{i2}$		
A1-1	19	19	19	0
A1-2	18	18	18	0
A1-3	20	20	20	0
A1-4	20	20	20	0
A1-5	19	19	19	0
A1-6	19	19	19	0
A1-7	18	18	18	0
A1-8	21	20	20,5	0,25
A1-9	18	19	18,5	0,25
A1-10	19	19	19	0
B1-1	18	18	18	0
B1-2	15	16	15,5	0,25
B1-3	21	21	21	0,0
B1-4	20	21	20,5	0,25
B1-5	17	16	17,5	0,25
B1-6	18	16	17	1,0
B1-7	18	17	17,5	0,25
B1-8	17	18	17,5	0,25
B1-9	19	18	18,5	0,25
B1-10	18	19	18,5	0,25
Wartość średnia wszystkich pomiarów			Błąd –SS	
$\bar{X}_a = \frac{1}{20} \times \sum_{i=1}^{20} \bar{x}_i = 18,575$			$SS_E = \left[ \sum_{i=1}^{20} [(x_{i1} - \bar{x}_i)]^2 + (x_{i2} - \bar{x}_i) \right] = 6,5$	
Liczba stopni swobody (df)			Wariancja	
$df = (N \times 2 - N) = 20$			$\frac{SS_E}{df} = 0,325$	
Odchylenie standardowe			Względne odchylenie standardowe (Niepewność względna procesu analitycznego)	
$SD_{anal} = \sqrt{\frac{SS_E}{df}} = 0,57$			$RSD_{anal} (\%) = \left( \frac{SD}{\bar{X}_a} \right) \times 100\% = 3,0691$	

W ten sam sposób oszacowano niepewność procesu analitycznego oznaczania zawartości pyłów.

W Tabelicy 6 zestawiono dane obliczeniowe niepewności pobierania próbki z zastosowaniem analizy wariancji (ANOVA).

**Tablica 6:** Analiza ANOVA – pobieranie próbki do oznaczania wskaźnika płaskości

Wynik analizy				Średnia $X_i$	$\left(\frac{X_{i1} + X_{i2}}{2} - \bar{X}_i\right)^2$	$\left(\frac{X_{i3} + X_{i4}}{2} - \bar{X}_i\right)^2$
A1 $X_{i1}$	A2 $X_{i2}$	B1 $X_{i3}$	B2 $X_{i4}$			
19	19	18	18	18,5	0,063	0,063
18	18	15	16	16,75	1,563	1,563
20	20	21	21	20,5	0,250	0,250
20	520	20	21	20,25	0,063	0,063
19	19	17	16	17,75	1,563	1,563
19	19	18	16	18,0	1,000	1,000
18	18	18	17	17,75	0,063	0,063
21	20	17	18	19,0	2,250	2,250
18	19	19	18	18,5	0,000	0,000
19	19	18	19	18,75	0,063	0,63
$SS_{Samp} = \sum_{i=1}^{20} \left[ 2 \times \left( \frac{X_{i1} + X_{i2}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 + 2 \times \left( \frac{X_{i3} + X_{i4}}{2} - \bar{X}_i \right)^2 \right] = 27,5$						
Wartość średnia wszystkich pomiarów $\bar{x} = 18,55$					$RSD_{Samp} (\%) = \left( \frac{SD_{Samp}}{\bar{x}} \right) \times 100\% = 5,905$	
$SSE_{Anal} = 7$					$df_s = 10$	$df_A = 20$
Wariancja $V_{samp}$ $V_{samp} = \frac{\left( \frac{SS_{samp}}{df_s} \right) - \left( \frac{SSE_{Anal}}{df_A} \right)}{2} = 1,2$					$SD_{Samp} = \sqrt{V_{Samp}} = 1,0954$	

Szacowanie niepewności z zastosowaniem analizy wariancji (ANOVA) dało następujące wyniki, które zamieszczono w Tabelicy 7. Równocześnie przeprowadzono szacowanie niepewności z zastosowaniem prostej metody obliczeń rozstępu.

**Tablica 7:** Względne niepewności rozszerzone (%), współczynnik rozszerzenia k=2) procesu analitycznego, pobierania próbki podczas walidacji, z zastosowaniem obliczeń ANOVA

ANOVA jednokierunkowa	Proces analityczny	Pobieranie próbki	Niepewność standardowa	Niepewność rozszerzona
<b>Wskaźnik płaskości</b>	3,1	6,0	6,8	13,5
<b>Zawartość pyłów</b>	18,2	15,1	23,6	47,2

Dla porównania przeprowadzono szacowanie niepewności na podstawie obliczeń rozstępu. Poszczególne etapy obliczeń przedstawiono w Tablicy 9. W Tablicy 8. przedstawiono wyniki oszacowania niepewności z zastosowaniem obliczeń rozstępu.

**Tablica 8:** Względne niepewności rozszerzone (%), współczynnik rozszerzenia  $k=2$ ) procesu analitycznego oraz pobierania próbki podczas walidacji, z zastosowaniem obliczeń rozstępu

Obliczenia rozstępu	Proces analityczny	Pobieranie próbki	Niepewność standardowa	Niepewność rozszerzona
Wskaźnik płaskości	3,0	6,3	6,98	14,0
Zawartość pyłów	19,0	10,8	21,9	43,8

Dodatkowo oszacowano niepewność pomiaru oznaczania wskaźnika płaskości metodą modelowania.

Stwierdzono, że na wynik pomiaru w sposób istotny wpływają następujące składowe:

- Pomniejszanie próbki do próbki analitycznej (niepewność cząstkowa uzyskana w ZBL FERROCARBO wynosi 2,5%);
- Przesiewanie na sitach prętowych (niepewność cząstkowa uzyskana w ZBL FERROCARBO wynosi 0,1%);
- Ważenie poszczególnych frakcji (niepewność cząstkowa uzyskana w ZBL FERROCARBO wynosi 0,95%).

Następnie obliczono złożoną niepewność pomiaru, korzystając z prawa propagacji niepewności GUM, która wyniosła 2,68%.

W opracowaniu oszacowania niepewności oznaczania wskaźnika płaskości oraz zawartości pyłów kierowano się wytycznymi podanymi w Biuletynie Informacyjnym POLLAB nr 1/48/2007 [8] oraz 1/52/2009 [9].

Pobieranie próbek kruszyw zostało znormalizowane (norma PN-EN 932-1:1999), z tego też względu przeprowadzając walidację, ograniczono się jedynie do próby oszacowania niepewności pobierania próbki.

## 5. PODSUMOWANIE

Porównując niepewności otrzymane z zastosowaniem analizy wariancji ANOVA, obliczeń rozstępu oraz metody modelowania można stwierdzić, że uzyskano bardzo zbliżone wyniki pomimo zastosowania różnych metod szacowania niepewności. Metoda modelowania ma niewątpliwie tą zaletę, że budżet niepewności (składowe) wskazuje na te etapy procedury analitycznej, które mają istotny wpływ na niepewność, czego niestety nie można przypisać modelowaniu doświadczalnemu. Z drugiej strony, podejście doświadczalne pozwala na szybkie i stosunkowo proste oszacowanie niepewności pobierania próbek.

Omówione sposoby obliczeniowe szacowania niepewności zostały szerzej opisane w Biuletynie Informacyjnym Klubu POLLAB nr 1/52/2009 i to na ich podstawie w ZBL FERROCARBO oszacowano niepewność pobierania próbki kruszywa. Mamy nadzieję, że przybliżając

**Tablica 9:** Wyniki i obliczenia rozstępu

Próbka		A1	A2	B1	B2	$R_1 =  A1 - A2 $	$S_1 = (A1 + A2)/2$	$r_1 = (R_1/S_1) * 100\%$	$R_2 =  B1 - B2 $	$S_2 = (B1 + B2)/2$	$r_2 = (R_2/S_2) * 100\%$	$S = (S1 + S2)/2$	$r = [( S1 - S2 )/S] * 100\%$
		18	19	18	18	1	18,5	5,4	0	18	0,0	18,25	2,739726
		18	18	15	16	0	18	0,0	1	15,5	6,45	16,75	14,92537
		20	20	21	21	0	20	0,0	0	21	0,0	20,50	4,878049
		20	20	20	21	0	20	0,0	1	20,5	4,88	20,25	0,222222
		19	19	17	16	0	19	0,0	0	16,5	6,06	17,75	14,08451
		19	19	18	16	0	19	0,0	2	17	11,76	18,00	11,111111
		18	18	18	17	0	18	0,0	1	17,5	5,71	17,75	2,816901
		21	20	17	18	1	20,5	4,9	1	17,5	5,71	19,00	15,78947
		18	19	19	18	1	18,5	5,4	1	18,5	5,41	18,50	0,000000
		19	19	18	19	0	19	0,0	1	18,5	5,41	18,75	2,666667
Proces analityczny		$r_A = \frac{\sum R_1 + \sum R_2}{n_{r1} - n_{r2}} = 3,354$						Niepewność: $CV_A = \frac{r_A}{1,128} = 2,973$					
Pobieranie próbki		$r_{S+A} = \frac{\sum R}{n_r} = 6,923$						Niepewność: $CV_S = \sqrt{\left[ \frac{r_{S+A}}{1,128} \right]^2 - \frac{CV_A}{2}} = 6,315$					

doświadczalne sposoby szacowania niepewności, (które na dobrą sprawę nie są skomplikowane, nie wymagają bowiem wyodrębnienia składowych i obliczania krok po kroku, a obliczenia można wykonać używając arkusza kalkulacyjnego), zwrócimy uwagę na potrzebę poszukiwania takich sposobów szacowania niepewności, które najlepiej będą odzwierciedlać rzeczywistość poboru próbek oraz pomiaru.

## 6. LITERATURA

1. Wyrażanie niepewności pomiaru – Przewodnik, GUM, Warszawa 1999
2. Wyrażanie niepewności pomiaru analitycznego, Biuletyn Informacyjny POLLAB nr 2/37/2002
3. Sampling of Particulate Materials – Theory and Practice, Gy P., Amsterdam 1979
4. PN-EN 13043:2004+Ap1:2010 „Kruszywa do mieszanek bitumicznych i powierzchniowych utwaleń stosowanych na drogach, lotniskach i innych powierzchniach przeznaczonych do ruchu”
5. PN-EN 932-1:1999 „Badania podstawowych właściwości kruszyw – Metody pobierania próbek”
6. PN-EN 933-3:2008 „Badania geometrycznych właściwości kruszyw – Oznaczanie kształtu ziarn za pomocą wskaźnika płaskości”
7. PN-EN 933-1:2000+A1:2006 „Badania geometrycznych właściwości kruszyw – Oznaczanie składu ziarnowego – Metoda przesiewania”
8. Niepewność pomiaru raz jeszcze: Różne podejścia do szacowania niepewności, Biuletyn Informacyjny POLLAB nr 1/48/2007
9. Niepewność pomiaru związana z pobieraniem próbek. Przewodnik metodyczny, Biuletyn Informacyjny POLLAB nr 1/52/2007

Mirosław Pytasz  
**Laboratorium Drogowe**  
**Bureau Veritas Polska Sp. z o.o.**  
**Warszawa**

## Wpływ wilgotności optymalnej na wartość CBR

### 1. WSTĘP

Zgodnie z niżej zamieszczoną tabelą wymagań (rys. nr 1) normy PN-S-06102:1997 [7.9] dla podbudowy z kruszywa, określenie wartości CBR jest jedną z podstawowych właściwości kruszywa, która decyduje o przydatności badanego materiału.

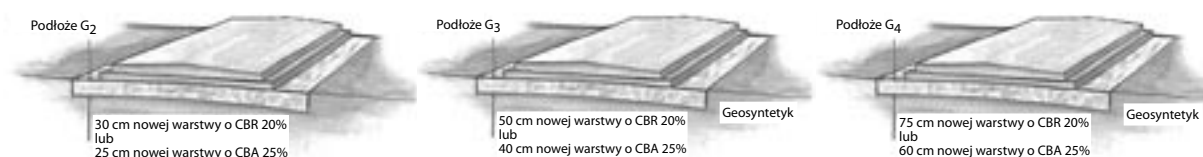
11	Wskaźnik nośności $w_{noś}$ mieszanki kruszywa, nie mniejszy niż:						
	a) przy zagęszczeniu $I_s \geq 1,00$	80	60	80	60	80	60
	b) przy zagęszczeniu $I_s \geq 1,03$	120	–	120	–	120	–

Rys. 1.

Z kolei według wytycznych do projektowania i modernizacji nawierzchni [7.4] wartość CBR jest jednym z parametrów kwalifikujących podłoże gruntowe do odpowiedniej grupy nośności (rys. nr 2), co z kolei ma decydujące znaczenie przy wyborze sposobu wykonania nawierzchni (rys. nr 3).

Grupa nośności podłoża	Wskaźnik nośności CBR
Gi	[%]
G <sub>1</sub>	≥ 10
G <sub>2</sub>	3 - 10
G <sub>3</sub>	3 - 5
G <sub>4</sub>	< 3

Rys. 2.

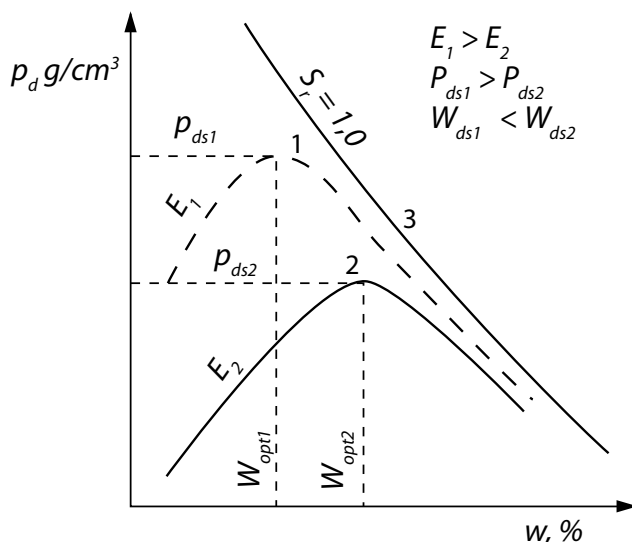


Rys. 3.

## 2. PODSTAWOWE POJĘCIA

### 2.1. Wilgotność optymalna i maksymalna gęstość objętościowa szkieletu gruntowego metodą proctora

Wilgotność optymalna jest to taka wilgotność, przy której w określonych warunkach ubijania można osiągnąć największe zagęszczenie materiału, co jest jednoznaczne z uzyskaniem maksymalnej gęstości objętościowej szkieletu gruntowego ubijanego materiału (rys. nr 4).



Rys. 4.

W laboratorium można przeprowadzić badanie określające wilgotność optymalną i maksymalną gęstość objętościową szkieletu gruntowego: 4 metodami wg PN-B-04481:1988 [7.5], tabela nr 1 i 6 metodami wg PN-EN 13286-2:2007 [7.6], tabela nr 2.

Tabela 1.

Metoda	Cylinder	Ubijak [kg]	Liczba warstw	Liczba uderzeń	Wysokość opadania ubijaka [cm]	Energia ubijania [J/cm <sup>3</sup> ]
I	mały (A)	lekki - 2,5	3	25	32	0,59
II	duży (B)	lekki - 2,5	3	55	32	0,59
III	mały (A)	ciężki-4,5	5	25	48	2,65
IV	duży (B)	ciężki-4,5	5	55	48	2,65

Tabela 2.

Metoda	Cylinder	Ubijak [kg]	Liczba warstw	Liczba uderzeń	Wysokość opadania ubijaka [cm]	Energia ubijania [J/cm <sup>3</sup> ]
I	mały (A)	lekki - 2,5	3	25	30,5	0,6
II	duży (B)	lekki - 2,5	3	56	30,5	0,6
III	mały (A)	ciężki - 4,5	5	25	45,7	2,7
IV	duży (B)	ciężki - 4,5	5	56	45,7	2,7
V	b. duży (C)	b. ciężki-15	3	22	60,0	0,6
VI	b. duży (C)	b. ciężki-15	3	98	60,0	2,7

## 2.2. Kalifornijski wskaźnik nośności CBR

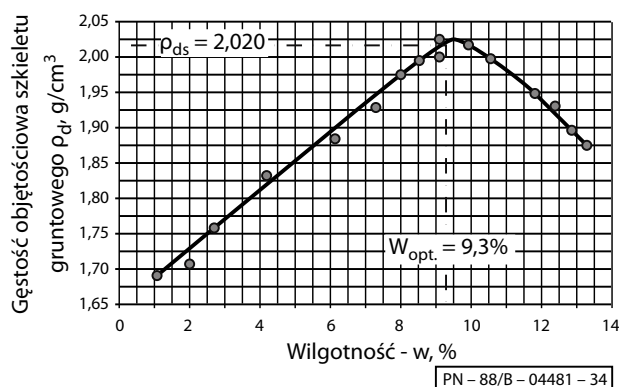
Wskaźnik nośności wyrażony jest procentowym stosunkiem obciążenia jednostkowego  $p$ , które należy zastosować, aby trzcień o kształcie wydłużonego walca o przekroju  $20 \text{ cm}^2$  ( $d = 5,0 \text{ cm}$ ) wcisnąć w odpowiednio przygotowaną próbkę materiału do określonej głębokości  $2,5 \text{ mm}$  lub  $5,0 \text{ mm}$ , ze stałą prędkością, do porównawczego obciążenie jednostkowego  $p_p$ , które jest wartością stałą i odpowiada ciśnieniu jakie było potrzebne, aby taki sam trzcień z taką samą prędkością oraz na taką samą głębokość wcisnąć w materiał wzorcowy, który stanowi tłuź standardowo zagęszczony. Wskaźnik nośności  $w_{noś.}$  (CBR) wyznacza się ze wzoru, w procentach:

$$w_{noś.} (CBR) = \frac{p}{p_p} \times 100$$

Procedura przeprowadzania tego badania w laboratorium opisana jest w kilku normach, które nie są wycofane przez PKN oraz są powszechnie stosowane w specyfikacjach technicznych, są to: normy polskie [Podbudowy z kruszyw 7.9, Roboty ziemne 7.7, Oznaczenie wskaźnika nośności 7.8] i jedna europejska [Oznaczenie kalifornijskiego wskaźnika nośności 7.10].

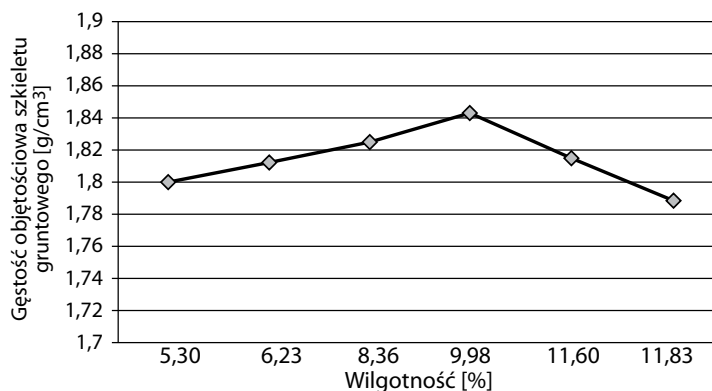
## 3. OZNACZANIE WILGOTNOŚCI OPTYMALNEJ

Wilgotność optymalną wyznacza się z wykresu zależności gęstości objętościowej do wilgotności materiału, które to wartości otrzymuje się podczas badania zagęszczalności jedną z w/w metod Proctora. Wykres ten służy również do określenia maksymalnej gęstości objętościowej szkieletu gruntowego ( $\rho_{ds}$ ) (rys. nr 5).

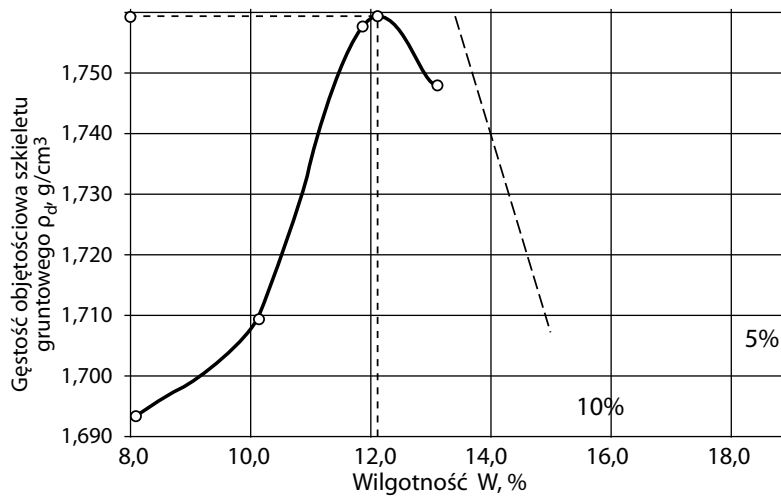


Rys. 5.

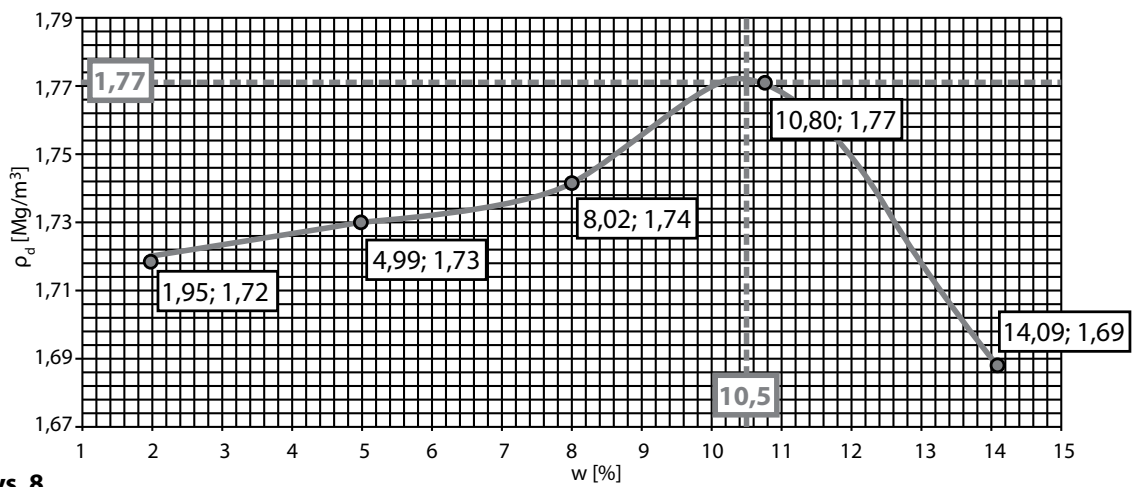
Laboratoria wyznaczają maksimum w różny sposób (rys. nr 6-9),



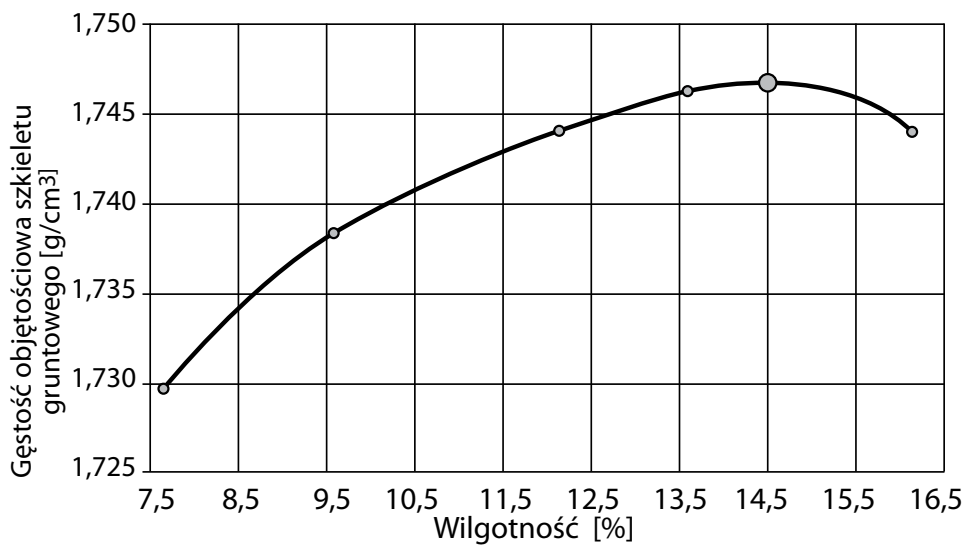
Rys. 6.



Rys. 7.



Rys. 8.



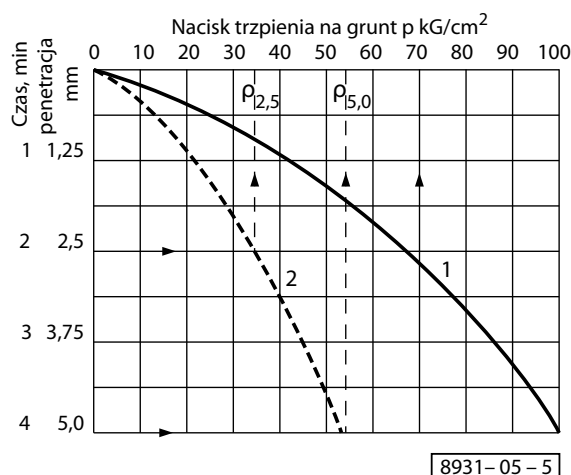
Rys. 9.

Analizując zachowanie się materiałów podczas badania Proctora wydaje się, że maksimum krzywej zagęszczenia należy wyznaczać pomiędzy ostatnim punktem, w którym waga próbki rośnie, a pierwszym punktem w którym waga ta zaczyna spadać.

## 4. OZNACZANIE WARTOŚCI CBR

### 4.1. Normy polskie

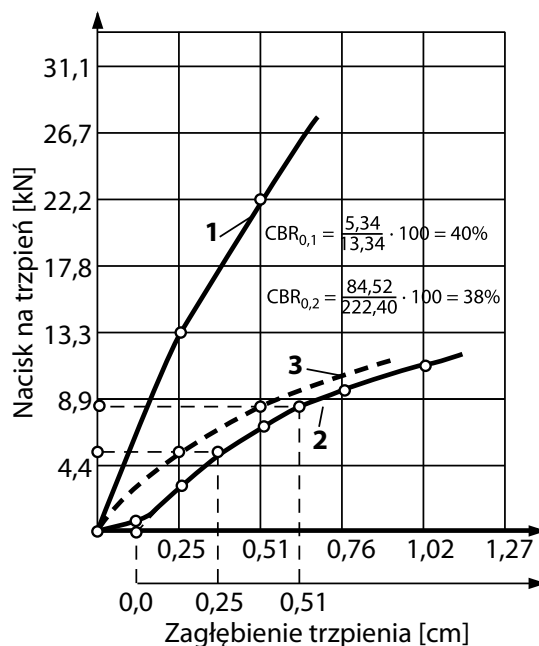
Przepisy krajowe nie wymagają dodatkowych interpretacji oprócz odczytania siły potrzebnej do zagłębienia trzpienia na określoną głębokość w materiale i empirycznym obliczeniu wskaźnika nośności. Wyjątkiem jest norma branżowa [7.8], rzadko stosowana, która wymaga sporządzenia wykresu zależności siły nacisku trzpienia od głębokości zagłębienia. Wprost z wykresu odczytuje się wartość siły nacisku na odpowiedniej głębokości (rys. nr 10).



Rys. 10.

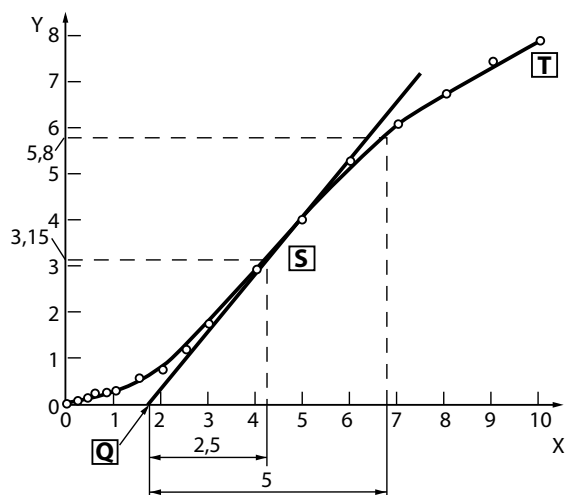
### 4.2. Normy europejskie

Zapisy europejskich przepisów normowych [7.10] wymagają sporządzenia wykresu zależności siły nacisku trzpienia od głębokości zagłębienia (rys. nr 11).



Rys. 11.

Dodatkowo w sytuacjach, kiedy początek krzywej jest wklęsły ku górze (widać to na rys. nr 11), co może być spowodowane nierównością powierzchni próbki, należy dokonać korekty krzywej (rys. nr 12).



Rys.12.

## 5. PRAKTYCZNE PRZYKŁADY ZRÓŻNICOWANIA WSKAŹNIKA CBR

### 5.1. Wilgotność optymalna a CBR

- badania ILC

Tabela 3: Badany materiał: sypki, drobnoziarnisty (piasek)

Wilgotność optymalna [%]	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
10,5	<b>25,0</b>	11,8
10,0	18,9	<b>21,5</b>
12,4	9,8	<b>10,3</b>
12,1	9,8	<b>12,4</b>
14,5	<b>7,6</b>	7,1
średnia = 11,9	-	-

- badania własne

Tabela 4: Badany materiał: kruszywo łamane, fr. 0/31,5

Wilgotność optymalna [%]	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
10,9	20,7	<b>35,4</b>
11,47	17,8	<b>21,3</b>

### 5.2. Wartość CBR a korekta wykresu CBR

Tabela 5: Badany materiał: kruszywo łamane, fr. 0/31,5

Korekta	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
przed	20,7	<b>35,4</b>
po	25,0	<b>38,0</b>

**Tabela 6:** Badany materiał: piasek gliniasty

Korekta	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
przed	1,9	3,0
po	2,6	3,8

**Tabela 7:** Badany materiał: nasypowy grunt sypki

Korekta	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
przed	3,0	5,7
po	7,0	12,2

**Tabela 8:** Badany materiał: piasek średni

Korekta	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
przed	1,6	2,8
po	2,9	4,4

**Tabela 9:** Badany materiał: kruszywo łamane w nasypie

Korekta	Wskaźnik CBR – 2,5 mm [%]	Wskaźnik CBR – 5,0 mm [%]
przed	7,5	15,4
po	16,7	23,0

## 6. WALIDACJA I SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU

**6.1.** Na podstawie przeprowadzonych badań międzylaboratoryjnych oraz podwojonych próbek badawczych w warunkach rzeczywistych można przeprowadzić proces walidacji, a następnie szacowania niepewności pomiaru wykorzystując podane niżej elementy statystyki:

- Błąd systematyczny – *bias*,
- Wskaźnik zmienności – *z*,
- Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjną (precyzja pośrednia) – *Rw*,
- Rozstęp.

**6.2.** Pierwszym etapem jest walidacja metody badawczej, którą można wykonać w następujących krokach:

- określenie względnej precyzji pośredniej, którą przeprowadzono na podstawie analizy statystycznej wyników z podwojonych próbek badawczych (w warunkach rzeczywistych),
- w celu wyeliminowania wyników skrajnych można zastosować jeden z dostępnych testów, np. Q-Dixona czy Grubbsa,
- ostatecznie uzyskuje się wartość względnego odchylenia standardowego odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej *sRw* czyli względnej precyzji pośredniej z wykorzystaniem *rozstępu*,
- określenie względnej dokładności (*biasu* – łącznie dla laboratorium i metody badawczej) oraz bezwzględnej wartości wskaźnika zmienności dla *biasu z* na podstawie porównań międzylaboratoryjnych ILC,
- na podstawie powyższych obliczeń dokonujemy walidacji metody badawczej.

**6.3.** Drugim etapem jest szacowanie niepewności pomiaru, który to proces można przeprowadzić w następujący sposób:

- generalnie stosujemy doświadczalne podejście wewnątrzlaboratoryjne z wykorzystaniem wyników ILC,
- szacujemy względną rozszerzoną niepewność pomiaru jako pierwiastek sumy kwadratów względnego odchylenia standardowego odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej  $s_{RW}$  i względnej dokładności *biasu*, przy ustalonym przedziale ufności i właściwym współczynniku rozszerzenia.

## 7. LITERATURA

- [7.1] S. Pisarczyk, Grunty nasypowe, Właściwości geotechniczne i metody ich badania, OWPW, Warszawa 2004.
- [7.2] Z. Wiłun, Zarys Geotechniki, WKŁ, Warszawa 2003.
- [7.3] E. Myślińska, Laboratoryjne badania gruntów, PWN, Warszawa 1998.
- [7.4] IBDiM, Katalog typowych konstrukcji nawierzchni podatnych i półsztywnych, Warszawa 1997.
- [7.5] PN-B-04481:1988 Grunty budowlane, Badania próbek gruntu.
- [7.6] PN-EN 13286-2:2007 Mieszanki niezwiązane i związane spoiwem hydraulicznym, Metody określania gęstości i zawartości wody, Zagęszczanie metodą Proctora.
- [7.7] PN-S-02205:1998 Drogi samochodowe, Roboty ziemne, Wymagania i badania.
- [7.8] BN-70/8931-05 Drogi samochodowe, Oznaczanie wskaźnika nośności gruntu jako podłoża nawierzchni podatnych.
- [7.9] PN-S-06102:1997 Drogi samochodowe, Podbudowy z kruszyw stabilizowanych mechanicznie.
- [7.10] PN-EN 13286-47:2007 Mieszanki niezwiązane i związane spoiwem hydraulicznym, Metoda badania do określenia kalifornijskiego wskaźnika nośności i pęcznienia liniowego.
- [7.11] Laboratorium Drogowe Bureau Veritas Polska, Sprawozdanie z porównań międzylaboratoryjnych, Grunty 1.2010, Dąbrowa Górnicza 12.2010.
- [7.12] EA-4/16 Wytyczne EA dotyczące wyrażania niepewności w badaniach ilościowych.

Agnieszka Wichłacz  
**Interdyscyplinarny Zespół Badawczy SALUBRIS**  
**Tulce k. Poznania**

## Walidacja metody oznaczania wybranych anionów o kationów w wodzie i ściekach za pomocą chromatografii jonowej

*Omówiono poszczególne etapy walidacji metody jednoczesnego oznaczania jonów: Br, Cl, F, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> w wodach i ściekach. Oznaczenia wykonywane są zgodnie z normami PN-EN ISO 10304-1:2009 oraz PN-EN ISO 14911:2002. W procesie walidacji wykorzystano certyfikowane matrycowe materiały odniesienia, dane uzyskane w procesie sterowania jakością oraz wyniki uzyskane w badaniach biegłości. Na etapie szacowania niepewności uwzględniono etap pobieranie próbek dla wszystkich analizowanych matryc.*

Liczne zalety jakimi charakteryzuje się chromatografia jonowa sprawiły, że jest obecnie najpopularniejszą instrumentalną metodą oznaczania anionów i kationów w wodach i ściekach. Wśród zalet tych można wymienić m.in. możliwość jednoczesnego oznaczania kilkunastu jonów, stosunkowo krótki czas analizy, niewielka ilość próbki potrzebna do wykonania oznaczeń oraz prosty sposób przygotowania próbek, niskie granice wykrywalności i oznaczalności, szeroki zakres roboczy, wysoka selektywność w stosunku do oznaczanych parametrów w próbkach o złożonej matrycy, możliwość pełnej automatyzacji, stosowanie tanich i bezpiecznych eluentów. Metoda chromatografii jonowej ciągle się rozwija, nowoczesna aparatura zwiększa możliwości analityczne, co pociąga za sobą konieczność zmian dokumentów normatywnych. Ostatnie zmiany dotyczyły oznaczania anionów. W 2007 roku ukazała się norma ISO 10304-1:2007, która w 2009 roku została wydana przez PKN [1].

W Laboratorium Interdyscyplinarnego Zespołu Badawczego SALUBRIS od 2007 roku metoda chromatografii jonowej stosowana jest do jednoczesnego oznaczania anionów i kationów w wodach pitnych, powierzchniowych, podziemnych, ściekach oczyszczonych, surowych i odciekach składowiskowych. Do tego celu wykorzystane są dwa chromatografy jonowe Dionex ICS-1000 połączone ze sobą przez automatyczny podajnik próbek. Oznaczanie stężeń anionów i kationów wykonywane jest więc jednocześnie z jednej próbki. Aparatura obsługiwana jest z poziomu oprogramowania Chromeleon®. Oznaczenia Br, Cl, F, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> wykonywane są zgodnie z normą PN-EN ISO 10304-1:2009 [1], natomiast Li<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup> zgodnie z PN-EN ISO 14911:2002 [2]. Analiza chromatograficzna wykonywana jest najszybciej jak to możliwe, gdyż nie można utrwalić próbki, w sposób inny niż schłodzenie.

Przeprowadzenie procesu walidacji metody jednoczesnego oznaczania anionów i kationów było dość szczególne ze względu na różnorodność analizowanych matryc oraz ilość oznaczanych parametrów, wśród których znajdują się jony na różnych poziomach stężeń. Pierwszym krokiem było zdefiniowanie kryteriów walidacji. Jako podstawowe kryteria przyjęto obowiązujące wymagania prawne Ministra Zdrowia [3], Ministra Środowiska [4] oraz wymagania norm PN-EN ISO 10304-1:2009, PN-EN ISO 14911:2002 oraz PN-EN ISO/IEC 17025:2005 [5]. Na podstawie posiadanego doświadczenia oraz danych literaturowych [6, 7] uznano, że kluczowe parametry walidacyjne to: granica wykrywalności (ang. *limit of detection, LOD*) i oznaczalności (ang. *limit of quantification, LOQ*), precyzja w warunkach powtarzalności i odtwarzalności, poprawność (ang. *bias*), zakres pomiarowy, zależność krzywej kalibracyjnej, niepewność pomiaru. W trakcie badań walidacyjnych Laboratorium brało udział w licznych badaniach biegłości (PT) i porównaniach międzylaboratoryjnych (ILC), a uzyskane wyniki były na bieżąco analizowane. Próbkę matrycowe, które zostały po PT/ILC były wykorzystywane w sterowaniu jakością badań. W procesie walidacji największą uwagę skupiono na analizie wyników uzyskanych z analiz matrycowych materiałów odniesienia, czyli próbek najbardziej zbliżonych do próbek badanych w laboratorium. W trakcie badań walidacyjnych laboratorium dysponowało 11 takimi próbkami.

Ustalenie kluczowych parametrów walidacji jest sprawą indywidualną każdego laboratorium. Poniżej przedstawiono sposób w jaki laboratorium Interdyscyplinarnego Zespołu Badawczego SALUBRIS przeprowadziło proces walidacji metody oznaczania anionów i kationów.

## 1. GRANICA WYKRYWALNOŚCI I GRANICA OZNACZALNOŚCI:

Granice wykrywalności  $LOD$  wyznaczono na dwa sposoby kierując się definicjami zawartymi w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia [3] oraz danych literaturowych [6]. W pierwszym przypadku  $LOD$  jest definiowana jako wartość trzykrotnego odchylenia standardowego  $s$  dla serii analiz próbek o niskim stężeniu analitu lub pięciokrotnego odchylenia standardowego wyznaczonego dla serii analiz prób ślepych. W drugim przypadku  $LOD$  obliczona jest jako średnia serii pomiarów próbek ślepych  $x_{sr}$  powiększonej o trzykrotną wartość odchylenia standardowego  $s$ , zgodnie z równaniem:

$$LOD = x_{sr} + 3s \quad (1)$$

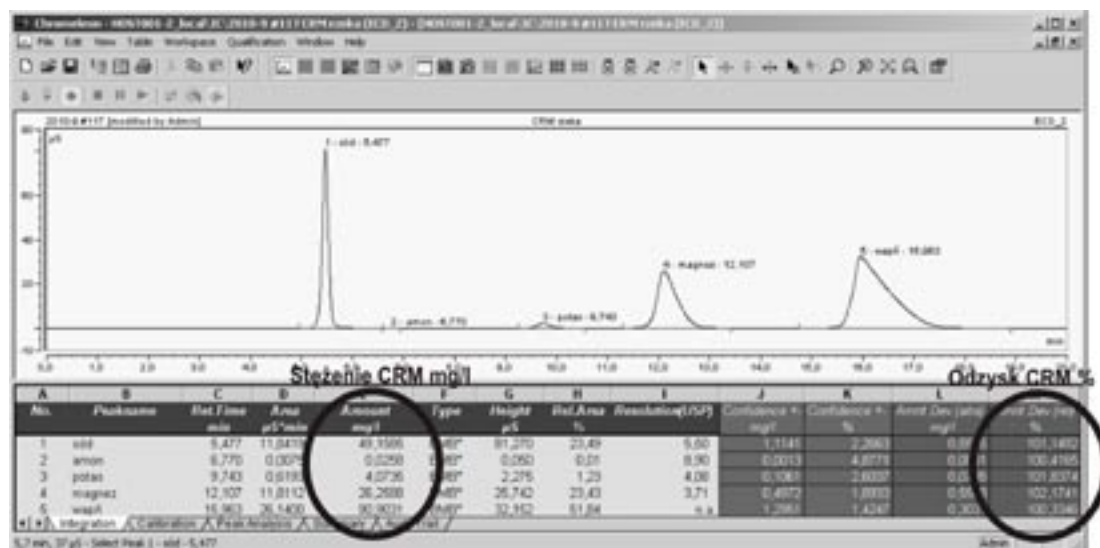
W celu wyznaczenia granicy wykrywalności  $LOD$  oraz oznaczalności  $LOQ$  anionów i kationów metodą IC przeprowadzono analizę kilkunastu niezależnie przygotowanych próbek ślepych (woda dejonizowana) oraz serię analiz próbek zawierających  $Br^-$ ,  $Cl^-$ ,  $F^-$ ,  $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$ ,  $PO_4^{3-}$ ,  $SO_4^{2-}$ ,  $Li^+$ ,  $Na^+$ ,  $NH_4^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  o stężeniach od 0,01 mg/l do 0,1 mg/l. W większości przypadków wyniki obliczonej granicy wykrywalności były zbieżne. Do dalszych obliczeń wybierano zawsze wynik wyższy. Granicę oznaczania ilościowego obliczono następnie jako trzykrotną wartość granicy wykrywalności.

Otrzymane wyniki porównano z założonymi wcześniej kryteriami. Obliczone granice wykrywalności oznaczania anionów i kationów stanowią <10% najwyższych dopuszczalnych stężeń jonów w wodzie do picia [3] oraz są niższe od najwyższych dopuszczalnych stężeń w I klasie wód podziemnych [4].

## 2. ZAKRES ROBOCZY ORAZ CHARAKTERYSTYKA KRZYWEJ KALIBRACYJNEJ

Jak już wyżej wspomniano za pomocą techniki IC można analizować przeróżne matryce m.in. wody do picia, wody powierzchniowe, podziemne, morskie, ścieki oczyszczone i surowe. W wymienionych matrycach jony znajdują się na różnych poziomach stężeń np. azotyny lub jon amonowy w uzdatnionych wodach często znajdują się poniżej granicy oznaczalności, natomiast w ściekach ich stężenie może przekraczać górną granicę oznaczania ilościowego. Rozcieńczanie próbek zawierających wysokie stężenia niektórych anionów lub kationów, wiąże się z kolei z ryzykiem utraty innych analitów. Oczywiście jest również fakt, że zakres roboczy jest determinowany przez możliwości techniczne aparatury.

Stosowany w laboratorium zakres roboczy oznaczania anionów i kationów obejmuje przede wszystkim stężenia jonów spotykane w analizowanych rutynowo próbkach oraz obejmuje najwyższe dopuszczalne stężenia określone w odpowiednich przepisach i rozporządzeniach. Krzywe kalibracyjne przygotowane są w oparciu o wykorzystanie materiałów odniesienia zawierających pojedyncze jony lub ich mieszaniny. Każda krzywa składa się min. z 5 punktów, im zakres roboczy oznaczania danego anionu lub kationu jest większy tym ilość punktów na krzywej wzrasta. Najistotniejsze w wykonaniu kalibracji jest sprawdzenie poprawności wykonanej krzywej. Wykonywane są analizy matrycowych materiałów odniesienia, które zawierają jony na różnych poziomach stężeń. Automatycznie z poziomu oprogramowania Chromeleon® obliczana jest poprawność wykonanego oznaczenia względem wartości certyfikowanej (Rys.1). Wykorzystywane są m.in. próbki wody miękkiej i twardej, wody podziemnej, powierzchniowej, wody wysoko zasolonej, etc. Krzywa kalibracyjna może być wykorzystywana jeżeli wyniki tych sprawdzeń spełniają założone kryteria.



**Rys.1.** Rozdział chromatograficzny kationów w próbce CRM wody powierzchniowej (dane z Chromeleon®)

Aktualnie obowiązujące normy opisujące zarówno metodę chromatografii anionowej [1], jak i kationowej [2] pozwalają na dowolność w wyborze rodzaju krzywej kalibracyjnej. Można stosować krzywe kalibracji pierwszego stopnia lub drugiego stopnia. W warunkach pracy naszego laboratorium, zauważono że stosowanie krzywych drugiego stopnia często pozwala znacznie wydłużyć zakres roboczy, zapewniając jednocześnie poprawność wykonywanych oznaczeń.

### 3. OBLICZANIE PRECYZJI

Precyzję określono na podstawie odchylenia standardowego rozkładu wyników pomiarów matrycowych materiałów odniesienia od średniej i wyrażono w % jako współczynnik zmienności CV (ang. *coefficient of variation*):

$$CV = \frac{s}{\bar{x}_{sr}} * 100\% \quad (2)$$

gdzie:

$s$  - odchylenie standardowe powtarzalności  $s_r$  lub odtwarzalności  $s_R$ ,

$\bar{x}_{sr}$  - średnia pomiarów.

Materiałami odniesienia poddanymi analizie były matrycowe próbki, które pozostały po badaniach biegłości oraz wzbogacona próbka wody podziemnej przygotowana w laboratorium (ang. *house reference material*). Badane materiały zawierały aniony i kationy na różnych poziomach stężeń, spotykanych w próbkach rzeczywistych.

Precyzję w warunkach powtarzalności obliczono na podstawie wyników zbieranych w krótkim okresie czasu, maksymalnie w ciągu 3–4 dni. Istotniejsze informacje jednakże dostarczają wyniki zbierane w długim okresie czasu. Mówimy wtedy o precyzji w warunkach odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej. W tym przypadku wykorzystano wyniki z kilku miesięcy (dane ze sterowania jakością badań). W zależności od badanego materiału było to od 36 do 86 wyników.

Zgodnie z oczekiwaniem współczynniki zmienności CV% wyznaczone na podstawie analiz wykonanych w warunkach powtarzalności są nieco niższe niż wyznaczone w warunkach odtwarzalności. Najwyższe wyniki obliczonej precyzji odtwarzalności dla oznaczanych anionów i kationów w badanych zakresach mieściły się w granicach 2%–8%, w zależności od danego jonu.

Otrzymane wyniki precyzji porównano z wybranymi danymi statystycznymi (współczynnik zmienności powtarzalności  $CV_r\%$  i odtwarzalności  $CV_R\%$ ) zawartymi w normach PN-EN ISO 10304-1:2009 oraz PN-EN ISO 14911:2002. Analizowano dane z porównań międzylaboratoryjnych dotyczących analiz próbek syntetycznych oraz matrycowych (wody pitnej, powierzchniowej, podziemnej, ścieków). Zarówno  $CV_r$  oraz  $CV_R$  obliczone w laboratorium dla próbek na podobnych poziomach stężeń jak zaprezentowano w normie są niższe.

### 4. OBLICZANIE POPRAWNOŚCI I ODZYSKU

Obliczanie poprawności i odzysku oznaczania stężenia anionów i kationów wykonano w oparciu o badania certyfikowanych matrycowych materiałów odniesienia (CRM). Wykorzystanie do tego celu CRM jest najlepszym sposobem aby dowiedzieć się o obciążeniu (ang. bias) metody badawczej, aparatury, wpływie matrycy itp.

Poprawność wyrażono jako błąd względny w % korzystając ze wzoru:

$$\Delta = \frac{x_{sr} - \mu}{\mu} * 100\% \quad (3)$$

gdzie:

$\Delta$  - względna różnica między wartością średnią zmierzoną a wartością odniesienia,  
 $x_{sr}$  - średnia arytmetyczna serii pomiarów,  
 $\mu$  - wartość odniesienia.

Błędy systematyczne metody można łatwo wykryć dzięki badaniom odzysku. W przypadku analiz wykorzystujących CRM można korzystać ze wzoru [8]:

$$R_{CRM} = \frac{x}{\mu} * 100\% \quad (4)$$

gdzie:

$R_{CRM}$  - względny stosunek wartości zmierzonej  $x$  do wartości odniesienia.

W przypadku badania odzysku  $R$  polegającego na dodawaniu określonej ilości analitu do próbki rzeczywistej i porównaniu wartości sygnału dla próbki bez i z dodatkiem analitu, posłużono się wzorem:

$$R = \frac{C_W - C}{C_A} * 100\% \quad (5)$$

gdzie:

$C_W$  - stężenie analitu mierzone w próbce wzbogaconej,  
 $C$  - stężenie analitu mierzone w próbce niewzbogaconej,  
 $C_A$  - stężenie dodanego analitu.

Najwyższy obliczony błąd względny dla oznaczanych anionów i kationów w badanych zakresach nie przekracza 5%,  $R_{CRM}$  mieści się w granicach 98%–101%. Odzysk w próbkach wzbogaconych  $R$  mieści się w granicach 90%–110%.

## 5. WALIDACJA PERSONELU

Analizy z wykorzystaniem chromatografii jonowej w laboratorium wykonują 3 osoby. Wydało się więc konieczne zweryfikowanie czy przygotowanie próbek przez różne osoby ma wpływ na końcowy wynik.

Analizom poddano próbki rzeczywiste pobrane przez personel i były to: 2 wody pitne, 2 wody powierzchniowe, 2 wody podziemne, odciek składowiskowy. Osoby przygotowały niezależnie każdą próbkę w dwóch różnych rozcieńczeniach. Wyniki jakie uzyskała osoba o największym stażu na stanowisku chromatografii jonowej zostały wybrane jako stanowiące wartość odniesienia. Na podstawie obliczonego błędu względnego oceniono czy występują istotne różnice w przygotowaniu próbek przez różne osoby. Błąd względny nie przekroczył 2%, a w większości przypadków stanowił <1%. Wyniki wskazują, że wpływ osoby przygotowującej próbkę do analiz chromatograficznych w laboratorium ma niewielki wpływ na końcowy wynik analizy

## 6. SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI METODY

Szacowanie niepewności wykonano w oparciu o wyniki analiz matrycowych materiałów odniesienia używanych w wewnętrznej kontroli jakości. Zastosowane materiały odniesienia

reprezentują typowe matryce próbek analizowanych w laboratorium. Obliczenia wykonano zgodnie z wytycznymi zawartymi w „Podręczniku obliczania niepewności w laboratoriach środowiskowych” - tłumaczenie NORDTEST TR537, wersja 3, 2008 [9].

Niepewność rozszerzoną obliczono jako pierwiastek kwadratowy sumy kwadratów niepewności standardowych na podstawie wzoru:

$$U = k * \sqrt{U_A^2 + U_B^2} \quad (6)$$

gdzie:

$k$ - współczynnik rozszerzenia  $k=2$ , dla poziomu ufności 95%

$U_A$  - niepewność standardowa związana precyzją,

$U_B$  - niepewność związana z obciążeniem metody (ang. bias).

Niepewność związana z obciążeniem obliczono na podstawie wzoru:

$$U_B = \sqrt{\text{bias}^2 \left(\frac{s_{\text{bias}}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(\text{Cref})^2} \quad (7)$$

gdzie:

$\text{bias}$  - błąd względny serii pomiarów materiału odniesienia

$s_{\text{bias}}$  - odchylenie standardowe odtwarzalności serii pomiarów

$u(\text{Cref})$  - niepewność standardowa wartości certyfikowanej

$$u(\text{Cref}) = \frac{U}{1,96} * \frac{1}{C} * 100\% \quad (8)$$

gdzie:

$n$  - liczba pomiarów,

$C$  - stężenie analitu mg/l

Założono, że niepewność krzywej kalibracji, niepewność szkła miarowego, materiałów odniesienia użytych do kalibracji związane są z niepewnością precyzji i obciążenia metody.

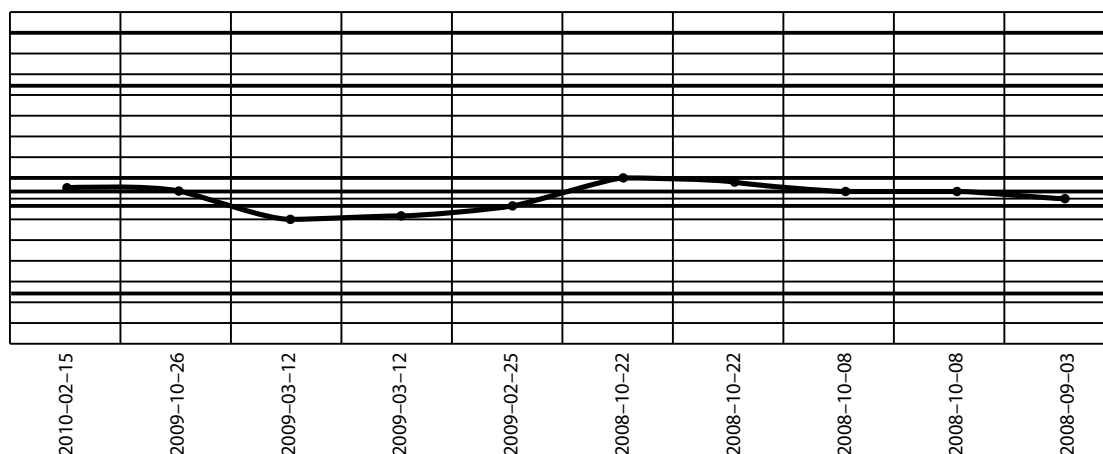
Oszacowana niepewność rozszerzona  $U$  ( $k=2$ , 95%) oznaczania anionów i kationów mieści się w granicach od 10%–17% w zależności od danego jonu. W niektórych przypadkach oszacowana niepewność dotyczy całego zakresu roboczego, w innych przypadkach oszacowane wartości  $U$  w dolnych częściach zakresów roboczych są wyższe. Wartości  $U$  są wyższe również dla wód zanieczyszczonych i ścieków.

Otrzymane wyniki oszacowanej niepewności rozszerzonej  $U$  ( $k=2$ , 95%) porównano z danymi zawartymi w normach PN-EN ISO 10304-1:2009 [1] oraz PN-EN ISO 14911:2002 [2]. Wartość odchylenia standardowego odtwarzalności międzylaboratoryjnej przyjmowana jest jako niepewność standardowa  $u s_R$  i w związku z tym niepewność rozszerzona wynosi:

$$U_{PTILC} = k * u s_R \quad (9)$$

W niektórych przypadkach, w których uznano, że oszacowana niepewność jest zbyt mała przyjęto wartość niepewności rozszerzonej obliczonej na podstawie norm.

Oszacowana niepewność rozszerzona oznaczania anionów i kationów została potwierdzona pozytywnymi wynikami w wielu badaniach biegłości i porównaniach międzylaboratoryjnych. Na poniższym rysunku zaprezentowano przykładowy trend wskaźnika z uzyskanego w PT/ILC.



Rys.2. Trend wskaźnika z - oznaczenie chlorków

## 7. NIEPEWNOŚĆ POBIERANIA PRÓBEK

Na etapie szacowania niepewności uwzględniono również pobieranie próbek dla wszystkich analizowanych matryc. Szacowanie niepewności wykonano zgodnie z podręcznikiem „EURACHEM / CITAC Guide” [10] - podwójne pomiary podwójnych próbek (ang. *split replicate design*), przy zastosowaniu jednoczynnikowej – ważonej analizy wariancji (Robust ANOVA).

Proces walidacji obejmował cztery normy pobierania próbek: wody podziemne PN-ISO 5667-11:2004; wody powierzchniowe PN-ISO 5667-4:2003, PN-ISO 5667-6:2003; ścieki PN-ISO 5667-10:1997; wody pitne PN-ISO 5667-5:2003. Pobrano próbki wody z piezometrów, studni gospodarczych, cieków, rzek, stawów, jezior, wody uzdatnione z kranu oraz ścieki komunalne surowe i oczyszczone, ścieki przemysłowe i odcieki składowiskowe. Oceniono wpływ: poszczególnych próbkobiorców, podziału próbki w terenie, wykonano próby ślepe transportowania i sprzętu. Na potrzeby walidacji pobierania próbek, pobrano łącznie 174 próbki, z których uzyskano łącznie 3132 wyników pojedynczych oznaczeń do dalszej obróbki statystycznej. Analizowano parametry fizyczne, trwałe i nietrwałe parametry nieorganiczne oraz parametry organiczne.

Wiele z wyników uzyskano przy pomocy chromatografii jonowej. Analizowane jony podzielono na dwie grupy: cechujące się dużą zmiennością w czasie np.  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$  oraz pozostałe trwałe jony. Niepewności rozszerzone wyznaczono dla przedziału ufności 95% i współczynnika  $k=2$ . Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że najmniejszą niepewnością jest obarczone pobieranie próbek wody pitnej,  $U$  (95%,  $k=2$ ) wynosi zaledwie 2% dla nietrwałych anionów i kationów oraz 0,2% dla trwałych jonów. W przypadku pozostałych wód i ścieków oszacowana niepewność pobierania wynosi od 8%–22% dla nietrwałych jonów i od 3%–11% dla trwałych.

## 8. PODSUMOWANIE

Metoda jednoczesnego oznaczania anionów i kationów w tej samej próbce ma wiele zalet. W ciągu kilkunastu minut uzyskuje się informacje o składzie próbki – w tym przypadku 13 parametrów:  $\text{Br}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ . Dysponując do-

datkową informacją jaką jest stężenie jonów wodorowęglanowych można w sposób szybki obliczyć bilans jonowy. Jest to przykład idealnej kontroli jakości badań, w której w jednym momencie „sprawdzają się” nawzajem trzy techniki analityczne: chromatografia anionowa, kationowa i metoda miareczkowa.

W procesie walidacji największą wagę przyłożono do analizy wyników uzyskanych przy użyciu matrycowych materiałów odniesienia, przypominających próbki analizowane rutynowo w laboratorium. W czasie trwania badań walidacyjnych laboratorium wzięło udział w licznych krajowych i międzynarodowych PT/ILC. Różnice między wynikami uzyskanymi w laboratorium, a wartościami odniesienia ustalonymi przez organizatorów PT/ILC, mieściły się w granicach oszacowanej niepewności rozszerzonej.

## 9. LITERATURA

- [1] PN-EN ISO 10304-1:2009 Jakość wody - Oznaczanie rozpuszczonych anionów za pomocą chromatografii jonowej - Część 1: Oznaczanie bromków, chlorków, fluorków, azotanów, azotynów, fosforanów i siarczanów,
- [2] PN-EN ISO 14911:2002 Jakość wody - Oznaczanie  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$  i  $\text{Ba}^{2+}$  za pomocą chromatografii jonowej - Metoda dla wód i ścieków,
- [3] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. (Dz. U. z 2007 nr 61 poz. 417) w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi z późniejszymi zmianami,
- [4] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 23 lipca 2008 r. (Dz. U. z 2009 nr 143 poz. 896) w sprawie kryteriów i sposobu oceny stanu wód podziemnych,
- [5] PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących,
- [6] Konieczka P., Namieśnik J.: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007,
- [7] Bulska E.: Metrologia Chemiczna - Sztuka prowadzenia pomiarów. Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2008,
- [8] Wykłady Studium Podyplomowego Metrologii Chemicznej 2009/2010, Uniwersytet Warszawski,
- [9] „Podręcznik obliczania niepewności w laboratoriach środowiskowych” - (tłumaczenie NORDTEST TR537, wersja 3, 2008), Biuletyn Informacyjny Klubu POLLAB 2/51/2008,
- [10] Wytyczne EURACHEM / CITAC Guide „Measurement uncertainty arising from sampling” 2007.

Barbara Sokołowska  
**Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego**  
**Warszawa**  
**PKN, KT nr 3 ds. Mikrobiologii Żywności**

## **Szacowanie niepewności pomiaru w znormalizowanych metodach mikrobiologicznych badania żywności i pasz jako element sprawdzania w warunkach laboratorium**

*Omówiono zasady szacowania niepewności pomiaru w ilościowych metodach mikrobiologicznych wg IS/TS 19036:2006 + Amd.1:2009. Przedstawiono przykłady oszacowania niepewności pomiaru w oznaczaniu liczby drożdży i pleśni wg PN-ISO 21527-1:2009 oraz sposób przedstawiania wyników badań wraz z niepewnościami. Zaprezentowano wyniki uzyskiwane przez laboratorium w PT i sposób ich analizy.*

Badania mikrobiologiczne należą do kategorii, która w zasadzie uniemożliwia stosowanie ścisłego, metrologicznie i statystycznie uzasadnionego wyliczenia niepewności pomiaru. Zgodnie z dokumentem EA-4/10:2002 „Akredytacja laboratoriów mikrobiologicznych” pkt.5 właściwe jest oparcie oszacowania niepewności na samej powtarzalności i odtwarzalności, ale najlepiej włączając obciążenie (bias) z wyników programów badania biegłości. Dokument zaleca określenie poszczególnych składników niepewności, ocenę ich wpływu na zmienność wyników oraz wykazanie, że są one nadzorowane.

Komitety ISO/TC 34 Produkty spożywcze /SC 9 Mikrobiologia i CEN/TC 275 Analiza żywności /WG 6 Zanieczyszczenia mikrobiologiczne, w swoich pracach coraz częściej podejmują tematykę związaną z akredytacją laboratoriów mikrobiologicznych badających żywność i środki żywienia zwierząt. Aktualnie prowadzone są prace związane z opracowaniem bądź nowelizacją norm dotyczących badań biegłości, walidacji metod mikrobiologicznych, w tym także na poziomie laboratorium, zastosowania statystyki w sterowaniu jakością badań mikrobiologicznych, szacowania niepewności metod jakościowych, kontroli jakości pożywek.

W 2006 roku ukazała się długo oczekiwana Specyfikacja Techniczna **ISO/TS 19036 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guide on estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations** a następnie **Amd.1:2009 Measurement uncertainty**

**inty for low counts.** Oba te dokumenty przetłumaczono na język polski jako Specyfikację Techniczną PKN **Mikrobiologia żywności i pasz. Przewodnik do szacowania niepewności pomiaru w metodach ilościowych.**

We wprowadzeniu do tej specyfikacji znajduje się stwierdzenie, że ISO/TC/SC 9 bierze pod uwagę, że w przypadku analiz mikrobiologicznych podejście „krok po kroku” (podejście EURACHEM/CITAC do szacowania niepewności) nie jest zadawalające, ponieważ trudno jest stworzyć uniwersalny model procesu pomiaru. Ponieważ istnieje prawdopodobieństwo przeoczenia znaczącego źródła niepewności, istnieje duże ryzyko zaniżenia prawdziwej niepewności pomiaru (MU). Ponadto w mikrobiologii wydaje się trudnym dokładne określenie udziału każdego z indywidualnych kroków procesu analitycznego, gdzie:

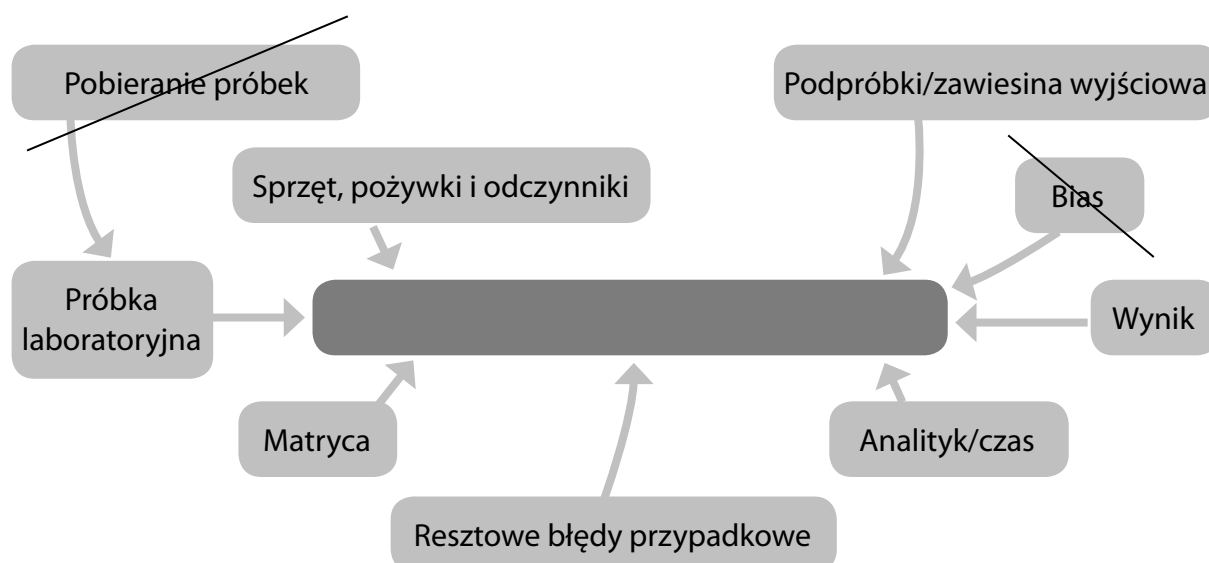
- analitem jest żywy drobnoustroj, którego stan fizjologiczny może być bardzo zmienny,
- docelowy analit zawiera różne szczepy, różne rodzaje i gatunki drobnoustrojów.

Innymi słowy, analizy mikrobiologiczne nie pozwalają na szacowanie niepewności w sposób zgodny z zasadami metrologii i w sposób statystycznie istotny.

Dlatego ISO/TC/SC 9 do szacowania niepewności (MU) wybrało podejście określane jako „góra – dół” lub „całościowe”, które oparte jest na odchyleniu standardowym odtwarzalności wyniku końcowego w procesie pomiaru. Takie podejście bazujące na uzyskanych wynikach z powtórzonych analiz tej samej próbki, w przypadku analiz mikrobiologicznych wydaje się być bardziej właściwe niż podejście „krok po kroku”.

Przedstawiony w przewodniku sposób szacowania niepewności pomiaru może być stosowany w metodzie płytkowej oraz w alternatywnych metodach instrumentalnych w badaniach produktów przeznaczonych do spożycia przez ludzi i w żywieniu zwierząt oraz w badaniach próbek środowiskowych z obszaru produkcji i obrotu żywnością. Nie powinien być natomiast stosowany do metod NPL.

Przewodnik identyfikuje główne składowe niepewności i prezentuje podejście „czarnej skrzynki” (Rys. 1), w której kumulują się wszystkie zmienności dając w efekcie niepewność złożoną.



**Rys. 1.** Główne źródła niepewności pomiaru w analizach mikrobiologicznych - podejście „czarnej skrzynki” oraz elementy wyłączone z doświadczenia w wewnątrzlaboratoryjnym szacowaniu odtwarzalności

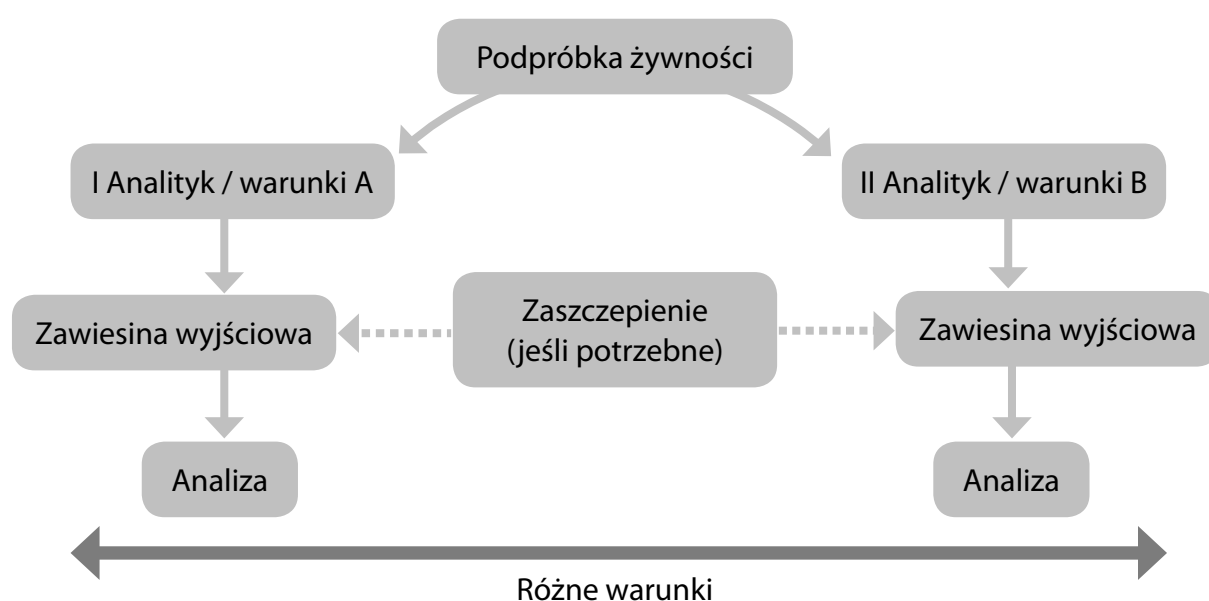
Preferowanym przez autorów sposobem oszacowania niepewności pomiaru w ilościowych metodach mikrobiologicznych jest odchylenie standardowe odtwarzalności oszacowane w laboratorium. Możliwe jest również, przy pewnych ograniczeniach, wykorzystanie odchylenia standardowego uzyskanego w międzylaboratoryjnych badaniach porównawczych lub programach badania biegłości.

Przewodnik podaje ogólne zasady przeprowadzenia doświadczenia, zmierzającego do oszacowania odchylenia standardowego odtwarzalności w laboratorium (Rys. 2).

Dla każdego mikroorganizmu (lub grupy mikroorganizmów) oraz dla określonego typu matrycy, należy zbadać, co najmniej 10 próbek. Liczba typów matryc do badań zależy od zróżnicowania matryc analizowanych rutynowo przez laboratorium. Jeżeli to możliwe powinno się stosować próbki naturalnie zanieczyszczone. Zróżnicowanie warunków można osiągnąć poprzez wykonywanie badań poszczególnych par próbek w różnych porach dnia lub w kolejnym dniu, zróżnicowanie analityków lub zespołów analityków, wykorzystanie innych wag, innych partii rozcieńczalników, innych partii pożywek, różnych pipet, różnego czasu inkubacji (możliwie najkrótszy i możliwie najdłuższy w ramach danej metody), różnej temperatury inkubacji (możliwie najniższa i możliwie najwyższa w ramach danej metody). Dziesięć lub więcej par wyników powinno być zbadanych w rozciągniętym przedziale czasowym, aby uwzględnić jak największą zmienność warunków.

Przewodnik zaleca, aby tam gdzie jest to możliwe, stosować próbki naturalnie zanieczyszczone, ponieważ pozwalają one na bardziej prawdziwe oszacowanie niepewności pomiaru (MU). Jeśli konieczne jest sztuczne zanieczyszczenie zaleca się, aby było zaplanowane w sposób, jak tylko jest to możliwe, imitujący rzeczywiste zanieczyszczenie (np. przez wykorzystanie drobnoustrojów poddanych stresowi łącznie z konkurencyjną mikroflorą tła).

Niezbędny jest stały monitoring szacowania niepewności (MU), aby wykazać, że to szacowanie pozostaje istotne oraz, że wyniki badań znajdują się pod kontrolą. Ponowne oszacowanie niepewności pomiaru (MU) jest wymagane po wprowadzeniu zmian do jakiegokolwiek



**Rys. 2.** Główne źródła niepewności pomiaru w analizach mikrobiologicznych - podejście „czarnej skrzynki” oraz elementy wyłączone z doświadczenia w wewnątrzlaboratoryjnym szacowaniu odtwarzalności

czynnika krytycznego związanego z metodą lub z laboratorium. Przykładami takich krytycznych czynników są pochodzenie i rodzaj pożywki i innych odczynników (np. stosowanych do potwierdzeń), techniki liczenia (ręczne lub zautomatyzowane), operator lub grupa operatorów.

W Załączniku A do przewodnika ISO/TS 19036:2006 +Amd.1:2009 przedstawiono następujące typy matryc:

1. Produkty płynne i sypkie (mleko, mleko kokosowe, mleko w proszku itp.)
2. Dobrze rozdrobnione produkty stałe (mięso mielone, mięso oddzielane mechanicznie, lody, mleko sojowe, bita śmietana itp.)
3. Drobnie lub bardzo drobne cząstki produktów stałych (suszona pietruszka, suszone pieczarki, starta marchewka/seler, sałatki, krewetki, zboża, pasze, siekane orzechy itp.)
4. Inne produkty stałe (kawałki mięsa, sery, ciasta itp.).

Większość produktów reprezentujących matryce typu 3. i 4. może być rozdrobniona i rozpatrywana jako matryca 2. typu.

Odchylenie standardowe obliczamy po przekształceniu wyników w postać logarytmiczną, co stabilizuje zmienność odtwarzalności w całym zakresie poziomów zanieczyszczenia, zakładając, że wyniki stanowiące małe liczby nie są brane do obliczeń.

Do obliczeń nie należy brać wyników opartych o mniej niż 10 wyrosłych kolonii. Wyniki uzyskane z 10-30 kolonii można włączyć do obliczeń tylko wtedy, gdy spodziewamy się że odchylenie standardowe odtwarzalności będzie większe niż 0,2 w log (jtk/ml lub jtk/g).

Generalnie niepewność obliczamy z poniższego wzoru:

$$U = 2 \sqrt{s_R^2 + \frac{0,18862}{\Sigma C}} \quad (1)$$

Gdzie wyrażenie:

0,18862 /  $\Sigma C$  - jest składową wariancji wynikającą z rozkładu Poissona,

$\Sigma C$  - jest sumą koloni wyrosłych na płytkach wybranych do liczenia,

$s_R$  - jest odchyleniem standardowym odtwarzalności.

Dla dużych liczb, kiedy  $\Sigma C > C_{lim}$ , drugi człon równania pod pierwiastkiem może być pominięty i równanie (1) upraszcza się do:

$$U = 2 s_R \quad (2)$$

Wartości  $C_{lim}$ , dla różnych wartości  $s_R$ , są podane w tabelach stanowiących załączniki do przewodnika.

## 1. PRZEDSTAWIANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU W SPRAWOZDANIACH Z BADAŃ

Wynik badania może być przedstawiony jako jedna z następujących możliwości:

- przedział dla wyniku wyrażonego jako log:

$$y \pm U [\log_{10} (\text{jtk/g})]$$

- wynik wyrażony jako log z oszacowanymi granicami:

$$y [\log_{10} (\text{jtk/g})] \quad [y - U, y + U]$$

- wynik w liczbach bezwzględnych z oszacowanymi granicami:

$$x \text{ jtk/g} \quad [10^{y-U}, 10^{y+U}]$$

- wynik z oszacowanymi granicami względnymi:

$$x \text{ jtk/g} \quad [-(1 - 10^{-U}) \times 100 \%, +(-1 + 10^U) \times 100 \%]$$

## 2. PRZYKŁADOWE OSZACOWANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU W METODZIE WG PN-ISO 21527-1: 2009

Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda oznaczania liczby drożdży i pleśni. Metoda liczenia kolonii w produktach o aktywności wody wyższej niż 0,95.

Odchylenie standardowe odtwarzalności dla matrycy typu 1 oszacowano z wyników badań próbek niepasteryzowanych soków owocowych i warzywnych (zakupionych w obrocie) zawierających drobnoustroje docelowe i mikroflorę konkurencyjną. Próbkę były badane, w warunkach odtwarzalności przez 2 lub 4 analityków, pomiędzy lutym a czerwcem 2009 r. a uzyskane wyniki przedstawiono w poniższych tabelach.

Szacowanie niepewności w oznaczaniu liczby drożdży w produktach płynnych o $a_w > 0,95$ wg PN-ISO 21527-1:2009					
wynik I	wynik II	log wyniku I	log wyniku II	różnica logarytmów	S <sup>2</sup>
4200	3700	3,623	3,568	0,055	0,00125
11000	10000	4,041	4,000	0,041	0,00086
80000	80000	4,903	4903	0,000	0,00000
80000	70000	4,903	4,845	0,058	0,00168
80000	70000	4,903	4,845	0,058	0,00156
61000	88000	4,785	4,944	-0,159	0,01266
61000	65000	4,785	4,813	-0,028	0,00038
88000	65000	4,944	4,813	0,132	0,00866
3000	3100	3,477	3,49	-0,014	0,00010
3600	3300	3,556	3,519	0,038	0,00071
23000	34000	4,362	4,531	-0,172	0,01441
19000	35000	4,279	4,544	-0,265	0,03520
<b>SUMA</b>					<b>0,07785</b>
<b>ŚREDNICA</b>					<b>0,00649</b>
<b>S<sub>R</sub></b>					<b>0,081</b>
<b>U = 2 x S<sub>R</sub></b>					<b>0,161</b>

<b>Szacowanie niepewności w oznaczaniu liczby pleśni w produktach płynnych o <math>a_w &gt; 0,95</math> wg PN-ISO 21527-1:2009</b>					
wynik I	wynik II	log wyniku I	log wyniku II	różnica logarytmów	S <sup>2</sup>
8000	7500	3,903	3,875	0,028	0,00039
3550	3600	3,550	3,556	-0,006	0,00002
3550	5700	3,550	3,756	-0,206	0,0215
3600	5700	3,556	3,756	-0,200	0,01991
2400	6100	3,380	3,785	-0,405	0,08206
2400	6000	3,380	3,778	-0,398	0,07918
6100	6000	3,785	3,778	0,007	0,00003
3600	6200	3,556	3,792	-0,236	0,02787
4100	6700	3,613	3,826	-0,213	0,02275
2900	2200	3,462	3,342	0,120	0,00720
1900	1400	3,279	3,146	0,133	0,00879
<b>SUMA</b>					0,26934
<b>ŚREDNICA</b>					0,02449
<b>S<sub>R</sub></b>					<b>0,156</b>
<b>U = 2 x S<sub>R</sub></b>					<b>0,313</b>

W laboratorium, w ramach kontroli jakości, prowadzony jest monitoring rozstępu wyników uzyskiwanych w analizach wykonywanych równolegle przez dwóch analityków. Wykorzystując te wyniki aktualizuje się oszacowanie niepewności na koniec danego roku. Aktualizację oszacowania w 2010 r. przedstawia poniższa tabela.

<b>Aktualizacja 2010 szacowania niepewności w oznaczaniu liczby drożdży w produktach płynnych o <math>a_w &gt; 0,95</math> wg PN-ISO 21527-1:200</b>					
wynik I	wynik II	log wyniku I	log wyniku II	różnica logarytmów	S <sup>2</sup>
8200	6200	3,914	3,792	0,121	0,00737
5400	7400	3,732	3,869	-0,137	0,00936
4900	4100	3,690	3,613	0,077	0,00300
3300	4000	3,519	3,602	-0,084	0,00349
190000	20000	5,279	5,301	-0,022	0,00025
20000	21000	5,301	5,322	-0,021	0,00022
29000	22000	5,462	5,342	0,120	0,00720
29000	20000	5,462	5,301	0,161	0,01302
<b>SUMA</b>					0,04391
<b>ŚREDNICA</b>					0,00549
<b>S<sub>R</sub></b>					<b>0,074</b>
<b>U = 2 x S<sub>R</sub></b>					<b>0,148</b>

### 3. PRZEDSTAWIANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU W SPRAWOZDANIACH Z BADAŃ

Z posiewów próbki soku buraczkowo-jabłkowego w kierunku oznaczania liczby drożdży uzyskano następujące wyniki:

$$\begin{aligned} 10^{-2} \text{ ml} &- 50, 52 \text{ jtk} \\ 10^{-3} \text{ ml} &- 3, 4 \text{ jtk} \\ \Sigma C &= 109 \text{ jtk} \end{aligned}$$

$C_{lim}$  dla  $s_R = 0,074$  odczytane z tablic wynosi 356 jtk, a więc do obliczenia niepewności stosujemy wzór (1)

#### Wynik:

$$\begin{aligned} &3,7 \pm 0,1 [\log (\text{jtk/ml})] \\ &\text{lub } 3,7 [\log (\text{jtk/ml})] [3,5; 3,8] \\ &\text{lub } 5,0 \times 10^3 \text{ jtk/ml} [3,5 \times 10^3; 6,9 \times 10^3] \\ &\text{lub } 5,0 \times 10^3 \text{ jtk/ml} [-29\%; +41\%] \end{aligned}$$

Z posiewów próbki soku buraczkowo-jabłkowego w kierunku oznaczania liczby pleśni uzyskano następujące wyniki:

$$\begin{aligned} 10^{-2} \text{ ml} &- 28, 24 \text{ jtk} \\ 10^{-3} \text{ ml} &- 4, 9 \text{ jtk} \\ \Sigma C &= 65 \text{ jtk} \end{aligned}$$

$C_{lim}$  dla  $s_R = 0,156$  odczytane z tablic wynosi 68 jtk, a więc do obliczenia niepewności stosujemy wzór (1).

#### Wynik:

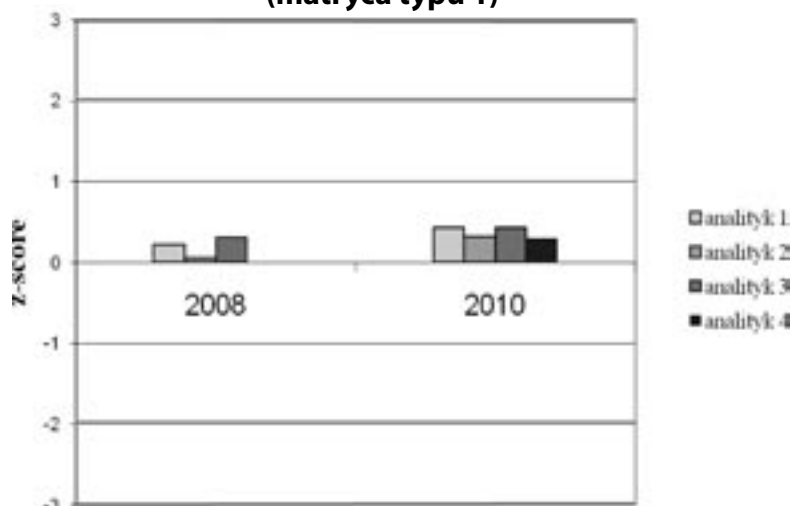
$$\begin{aligned} &3,5 \pm 0,3 [\log (\text{jtk/ml})] \\ &\text{lub } 3,5 [\log (\text{jtk/ml})] [3,2; 3,8] \\ &\text{lub } 3,0 \times 10^3 \text{ jtk/ml} [1,4 \times 10^3; 6,1 \times 10^3] \\ &\text{lub } 3,0 \times 10^3 \text{ jtk/ml} [-51\%; +104\%] \end{aligned}$$

### 4. SZACOWANIE OBCIĄŻENIA - RÓŻNICY POMIĘDZY WARTOŚCIĄ OCZEKIWANĄ WYNIKÓW BADAŃ PRZYJĘTĄ WARTOŚCIĄ ODNIESIENIA Z PT

Laboratorium uczestniczy systematycznie, od roku 2004, w badaniach biegłości organizowanych przez LGC Promochem (UKAS 0001), dawniej Quality Management (UKAS 0008). Poniżej przedstawiono wartości z-score uzyskane przez laboratorium w oznaczaniu liczby pleśni w sokach metodą zgodną z PN-ISO 21527-1:2009.

Dane otrzymane z PT mogą stanowić podstawę do wiarygodnego oszacowania obciążenia, jeżeli spełnione są następujące warunki: badane obiekty powinny reprezentować rutynowe obiekty badań (np. rodzaj materiału i zakres wielkości mierzonej), wartości przypisane mają odpowiednie niepewności, laboratorium dysponuje wynikami z co najmniej sześciu rund badań [2].

### Liczba pleśni wg PN-ISO 21527-1:2009 w skokach (matryca typu 1)



Aby upewnić się czy rzeczywiście występuje błąd systematyczny i ma istotne znaczenie, czy też można go zaniedbać, należy przeprowadzić testowanie dwóch serii pomiarowych [3]. Jedną z tych serii to wartości uzyskiwane przez laboratorium a drugą to wartość przypisaną wyznaczoną w danym programie badania biegłości.

lp	mediana	wynik	bias (log)	$(d-d_{sr})^2$
1	140	167	0,07659	0,00064
2	140	147	0,02119	0,00651
3	140	180	0,10914	0,00005
4	517	730	0,14983	0,00230
5	517	670	0,11258	0,00011
6	517	660	0,10605	0,00002
7	517	710	0,12777	0,00129

$$\text{bias } \bar{s}_r = 0,1019$$

$$\Sigma(d-d_{sr})^2 = 0,0109$$

$$s_d = 0,0427$$

$$t = 6,3175 > t_{kr} = 2,45$$

## 5. LITERATURA

- [1] prPKN-ISO/TS 19036 Mikrobiologia żywności i pasz. Przewodnik do szacowania niepewności pomiaru w metodach ilościowych.
- [2] Niepewność pomiaru raz jeszcze: Różne podejścia do szacowania niepewności. Raport Techniczny EUROLAB 2007 (Biuletyn Informacyjny Klubu POLLAB 1/148/2007).
- [3] Zapewnienie jakości analiz chemicznych, pod redakcją M. Dobeckiego. IMP Łódź 1997.

## Walidacja techniki PCR

### 1. PODSTAWY TECHNIKI PCR

Reakcja łańcuchowa polimerazy, PCR (ang. Polymerase Chain Reaction). Typowym zastosowaniem PCR jest powielanie fragmentu DNA, zawierającego gen występujący w jednym egzemplarzu na genom, bez konieczności jego klonowania w warunkach laboratoryjnych. Technika została wynaleziona w 1985 roku przez Kary'ego Mullisa i współpracowników z kalifornijskiej firmy Cetus. Za pracę w tej dziedzinie Kary Mullis otrzymał Nagrodę Nobla w 1993 r.

#### **Do przeprowadzenia reakcji PCR niezbędne są następujące czynniki:**

- matryca DNA, zawierająca powielaną sekwencję;
- przynajmniej para tzw. starterów (ang. primer) (zdefiniowane sekwencje DNA (oligonukleotydy), komplementarne do końców powielanego fragmentu);
- trifosforany deoksynucleozydów dNTP jako substraty reakcji polimeryzacji (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
- termostabilna polimeraza DNA (np. *Taq* wyizolowana z *Thermus aquaticus* lub inne);
- bufor (10 x *Taq* bufor+KCl bez  $MgCl_2$ , 10 x *Taq* bufor+ $(NH_4)_2SO_4$  bez  $MgCl_2$ );
- $MgCl_2$ ;
- termocykler, tzn. wyspecjalizowany reaktor z termostatem.

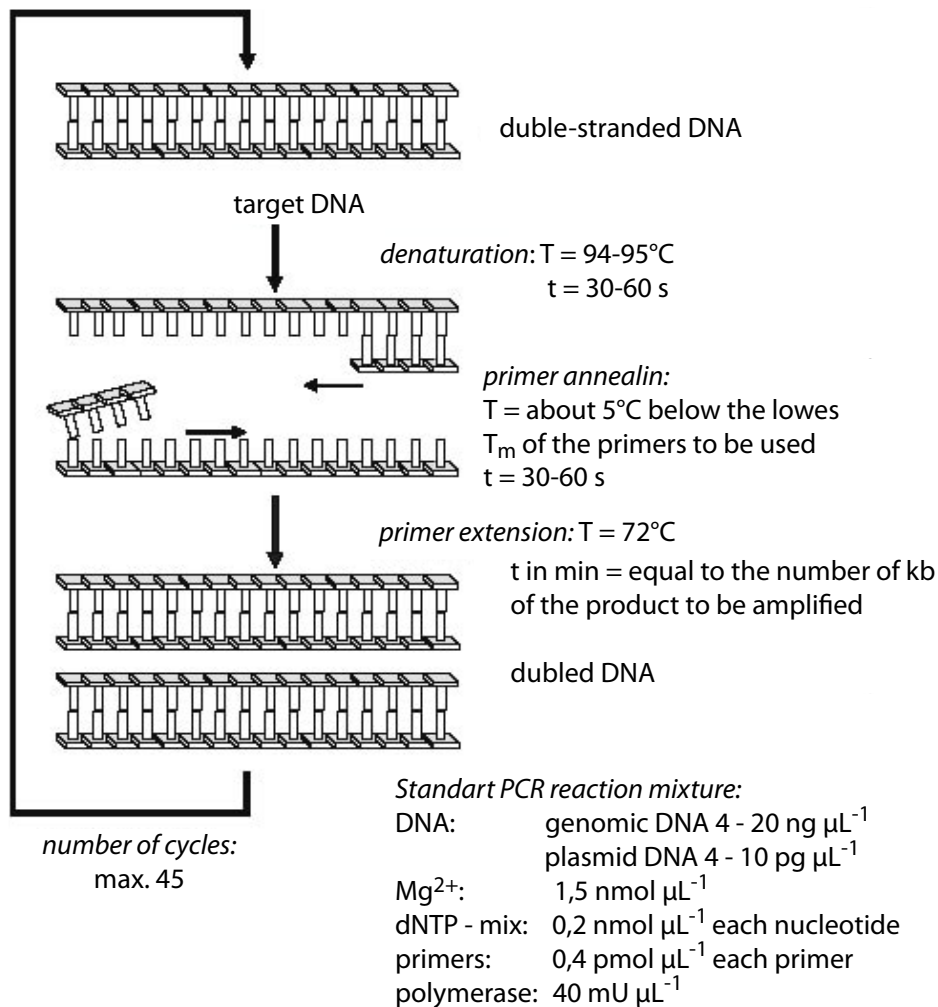
Jednoniciową matrycę DNA otrzymuje się przez denaturację termiczną (topnienie) podwójnoniciowego DNA.

#### **Reakcja PCR wymaga trzech etapów:**

- denaturacji dupleksu DNA w temp. 92-96°C;
- dołączania primerów do miejsca komplementarnej matrycy w temp. 37-72°C (ang. annealing);
- wydłużanie primera od końca 3'-OH przez sukcesywne dosyntetyzowanie dNTP w temp. 72°C, proces ten katalizowany jest przez polimerazę DNA.

Te trzy etapy reakcji, trwające przez określony czas nazywa się cyklem. Powtórzenie takich cykli prowadzi w efekcie do amplifikacji DNA.

Jeśli dwa primery – każdy selektywnie wiążący się do jednej z komplementarnych nici – są wydłużane w cyklu amplifikacji, to nowo syntetyzowana nić DNA będzie zawierać miejsce wiązania dla następnego primera. W ten sposób, każda nowa nić DNA staje się matrycą w następnym cyklu amplifikacji i teoretycznie prowadzi do wzrostu ilości odpowiednich fragmentów DNA w postępie wykładniczym.



## 2. WYBÓR METODY

Nie ma uniwersalnej metody na oznaczanie poszczególnych patogenów. Metodę, którą chcemy zastosować dla określonych patogenów np. *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *E. coli* O157:H7 czy *Yersinia enterocolitica* musimy zaadaptować do naszych warunków na podstawie publikacji lub innych dostępnych materiałów. Należy pamiętać, że w publikacjach poszczególne odczynniki podane są w stężeniach i trzeba przeliczyć je na  $\mu\text{l}$ .

## 3. EKSTRAKCJA DNA I WYKONANIE PCR

### **Listeria monocytogenes:**

- Jedną kolonię (klon) wyrosłą na podłożu selektywnym, przenieść do 5 ml bulionu BHI i inkubować w temperaturze  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  od 18 do 24 godz. Po inkubacji pobrać 1 ml hodowli i przenieść do probówki Eppendorf o poj. 1,5 ml.
- Wypłukać z płytki z selektywnym podłożem wyrosłe charakterystyczne kolonie przy pomocy 1,5 ml 0,01M Trizma<sup>®</sup> - HCl i przenieść do probówki Eppendorf o poj. 1,5 ml.
- Wykonać ekstrakcję DNA – 1 ml hodowli bulionowej lub 1 ml popłuczyn odwirować w wirowce z chłodzeniem przez 5 min. przy 7000 obr/min (4000 x g). Po wirowaniu zlać ostrożnie płyn z nad powstałego osadu. Do osadu dodać 100  $\mu\text{l}$  0,01M Trizma<sup>®</sup> - HCl i 400  $\mu\text{l}$  2,5% Che-

lex® 100. Rozpuścić osad przez vortexowanie. Probówki przenieść do termostatu i ogrzewać w temperaturze 99°C przez 10 min. Następnie odwirować w wirówce z chłodzeniem przez 10 sek. przy 13000 obr/min (15 000 x g). Ostrożnie pobrać 100 µl supernatantu, który jest chromosomalnym DNA i przenieść do sterylnych probówek Eppendorf o poj. 0,5 ml. Przechowywać w zamrażarce w -20°C.

Primery zastosowane w reakcji multiplex PCR dla oznaczenia genu *iap* (invasion association protein) *L. monocytogenes*:

Oligonukleotyd Lis1B (5' TTA TAC GCG ACC GAA GCC AAC 3')

Oligonukleotyd Siwi2 (5' TAA CTG AGG TAG CGA GCG AA 3')

Oligonukleotyd Ino2 (5' ACT AGC ACT CCA GTT GTT AAA C 3')

Oligonukleotyd MonoA (5' CAA ACT GCT AAC ACA GCT ACT 3')

Oligonukleotyd Murgal (5' CCA GCA GTT TCT AAA CCT GCT 3')

**Tabela 1:** Przykład przygotowania próbki do reakcji multiplex PCR dla *L. monocytogenes* (25 µl/probówkę)

Odczynniki i kolejność dodawania	Roztwór podstawowy	Końcowe stężenie	Ilość odczynnika w µl
H <sub>2</sub> O	-	-	3,7 µl
Bufor reakcyjny	10 x stężony	1 x stężony	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1,5 mM	1,5 µl
dNTP mix	1 mM	200 µM	5,0 µl
Primer Lis1B	10 µM	0,8 µM	2,0 µl
Primer Siwi2	10 µM	0,8 µM	2,0 µl
Primer Ino2	10 µM	0,8 µM	2,0 µl
Primer Mono	10 µM	0,8 µM	2,0 µl
Primer Murgal	10 µM	0,8 µM	2,0 µl
DNA polimeraza Taq	5 U/ µl	1,5 U/ µl	0,3 µl
Mastermix	-	-	23,0 µl
DNA	-	-	2,0 µl
Razem	-	-	25,0 µl

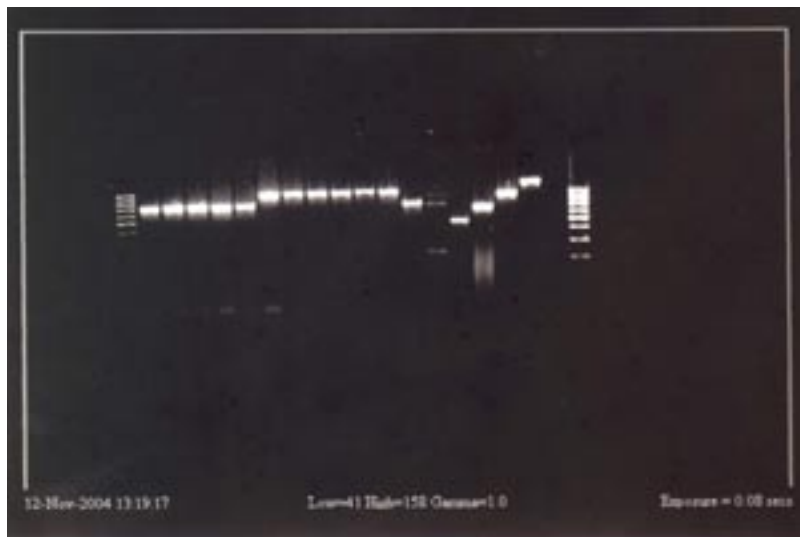
Wstępna denaturacja	94°C / 2 min	} 30 cykli
Denaturacja	94°C / 30 sek	
Przyłączanie oligonukleotydów (annealing)	56°C / 30sek	
Wydłużanie	72°C / 30 sek	
Końcowe wydłużanie	72°C / 5 min	

Próbki po reakcji w termocyklerze można przechowywać w temperaturze 4°C w nieskończoność.

- Przygotować żel agarozowy 1,5%, osadzając w nim grzebień. Po zestaleniu grzebień usunąć, a żel umieścić w komorze do elektroforezy zawierającej ok. 1,5 L buforu 1x TBE.
- Nanieść do pierwszego i ostatniego dołka 10 µl markera wielkości, a do pozostałych dołków 10 lub 20 µl (w zależności od wielkości dołka) próbki po reakcji PCR, uprzednio dodając 5 µl buforu obciążającego.

Wyniki badania przedstawiane są w postaci zdjęcia żelu na którym uzyskane produkty PCR porównuje się do produktu PCR DNA pochodzącego ze szczepów wzorcowych w odniesieniu do markera wielkości. Produkt PCR dla:

L. seeligeri / ivanovii / welshimeri 1,2 kpz, L. innocua 870 pz, L. monocytogenes 660 pz, L. grayi 480 pz



**Ścieżka 1:** marker wielkości 100-pz, 2: L.m. , 3: L.m., 4: L.m., 5: L.m., 6: L.m., 7: L.in., 8: L.in., 9: L.in., 10: L.in., 11: L.in., 12: L.in., 13: L.m., 14: L.m. (zanieczyszczona), 15: L.grayi wzorzec, 16: L.monocytogenes wzorzec, 17: L.innocua wzorzec, 18: L.ivanovii wzorzec, 19: kontrola negatywna, 20: marker wielkości 100-pz.

### **Salmonella spp.**

1 ml hodowli na WP odwirować przy 10.000 obr/min przez 5 min. Usunąć płyn znad osadu. Osad rozpuścić w 300 µl 6% roztworu Chelex100 – wymieszać (Vortex). Inkubować w temp. 56°C przez 15-20 min., następnie inkubować przez 8 min w 100°C (termoblok). Wmieszać przez vortexowanie i schłodzić w lodzie. Odwirować przy 14,000 obr/min przez 5 min. Supernatant (100 µl) przenieść do nowej probówki. Używać 5 µl supernatantu (DNA) do reakcji PCR.

**Tabela 2:** Przykład przygotowania próbki do reakcji pojedynczego PCR dla *Salmonella* spp. (25 µl/probówkę)

Odczynniki i kolejność dodawania	Roztwór podstawowy	Końcowe stężenie	Ilość odczynnika w µl
H <sub>2</sub> O	-	-	8,85 µl
Bufor reakcyjny –	10 x stężony	1 x stężony	2,5 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1,5 mM	1,5 µl
dNTP mix	1 mM	200 µM	5,0 µl
Primer 139	10 µM	0,4 µM	1,0 µl
Primer 141	10 µM	0,4 µM	1,0 µl
DNA polimeraza Taq	5 U/ µl	0,75 U/ µl	0,15 µl
Mastermix	-	-	20,0 µl
DNA	-	-	5,0 µl
Razem	-	-	25,0 µl

### Reakcja PCR

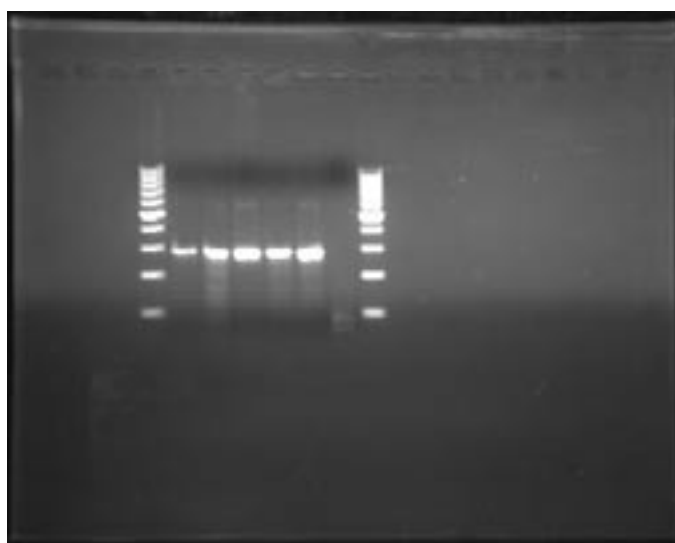
Denaturacja wstępna	95°C – 1 min	}	38 cykli
Denaturacja	95°C – 30 s		
Przyłączanie	64°C – 30 s		
Wydłużanie	72°C – 30 s		
Końcowe wydłużanie	72°C – 4 min		

Elektroforeza – 1,8% żel agarozowy, napięcie 5V/cm

Produkt PCR – 284 pz

Primer 139 5'GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA 3'

Primer 141 5'TCATCGCACCGTCAAAGGAACC 3'



**Ścieżka 2:** marker wielkości 100-pz, 2: S. Seftenberg, 3: S. Dublin, 4: S. Typhimurium, 5: S. Agona, 6: S. Braenderup H9812, 7: Kontrola negatywna, 8: marker wielkości 100-pz.

## 4. WALIDACJA TECHNIKI PCR

Walidację (sprawdzenie) przeprowadzić zgodnie z **PN-EN ISO 16140:2004 Mikrobiologia żywności i pasz. Protokół walidacji metod alternatywnych.**

Badanie należy wykonać zarówno na próbkach rzeczywistych, jak i kontaminowanych. Kontaminacja powinna być na trzech poziomach: próba ślepa, niskim (5 do 10 jtk) i wysokim (50 do 100 jtk). Równolegle prowadzimy badania metodą referencyjną, dla danego patogenu docelowego. Na każdym poziomie powinno być zbadanych minimum 30 próbek, najlepiej 50 próbek. Następnie oceniamy zebrane wyniki obliczając zgodnie z Tabelą 3:

**Tabela 3.**

Reakcje	Metoda referencyjna - pozytywna	Metoda referencyjna - negatywna
<b>Metoda alternatywna - pozytywna</b>	+/+ pozytywna zgodność (PA)	-/+ pozytywne odchylenie (PD)
<b>Metoda alternatywna - negatywna</b>	+/- negatywne odchylenie (ND)	-/- negatywna zgodność (NA)

**Względna dokładność:**

$$AC = \frac{(PA + NA)}{N} \times 100\% \quad (1)$$

**Względna specyficzność:**

$$SP = \frac{NA}{N-} \times 100\% \quad (2)$$

**Względna czułość:**

$$SE = \frac{PA}{N+} \times 100\% \quad (3)$$

**Powtarzalność, w %**, - (zgodność wyników badania tej samej próbki w warunkach powtarzalności)

**Odtwarzalność, w %** - wewnątrz laboratoryjna (zgodność wyników badania tej samej próbki w warunkach odtwarzalności)

**Precyzja metody**

**Powtarzalność i odtwarzalność w %**, wyliczona ze stosunku par wyników zgodnych / do liczby wszystkich podwójnie wykonanych badań (zgodnych i niezgodnych) x 100%.

## 5. WEWNĘTRZNE STEROWANIE JAKOŚCIĄ BADAŃ

Na program sterowania składa się:

- Kontrola pozytywna procesu: negatywna próbka zanieczyszczona patogenem docelowym. Próbka przetwarzana jest przez cały proces.
- Kontrola negatywna procesu: negatywna próbka zanieczyszczona organizmem niedocelowym. Próbka jest przetwarzana przez cały proces.
- Kontrola negatywna PCR: wszystkie odczynniki PCR, ale nie kwasy nukleinowe poza prime-rami.
- Kontrola pozytywna PCR: wszystkie odczynniki PCR i dodatkowo wyizolowane DNA patogenu docelowego.

## 6. LITERATURA

[1] Bubert, A. i wsp. Detection and Differentiation of *Listeria* spp. by Single Reaction Based on Multiplex PCR, 1999. Applied and Environmental Microbiology, 65: 4688 – 4692

[2] Malorny, B. i wsp. Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of Salmonella PCR towards an International Standard, 2003. Applied and Environmental Microbiology, 69 (1): 290 – 296

[3] PN-EN ISO 16140:2004 Mikrobiologia żywności i pasz. Protokół walidacji metod alternatywnych.

Andrzej Hantz  
**RADWAG WAGI ELEKTRONICZNE, Radom**  
**Laboratorium Pomiarowe**

## Kwalifikacja wyposażenia pomiarowego w laboratorium jako element walidacji procesu badawczego

*W referacie przedstawiono rolę, jaką odgrywa kwalifikacja wyposażenia pomiarowego w laboratorium na wiarygodność otrzymywanych wyników badań. Nawiązano do wymagań normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących, w zakresie wymagań dotyczących wyposażenia pomiarowego. Odniesiono się również do wymagań prawnych i procedur w zakresie kwalifikacji wyposażenia pomiarowego obowiązujących producentów farmaceutycznych, który to przykład można odnieść do doskonalenia procedur wdrażania wyposażenia pomiarowego przez laboratoria.*

*Podkreślono również istotę wzorcowania w procesie kwalifikacji jako element potwierdzający zachowanie spójności pomiarowej.*

### 1. WPROWADZENIE

Procesy badawcze w laboratoriach, procesy kontroli wyrobów w przedsiębiorstwach jak i również wszelkie inne pomiary, wykonywane nawet w warunkach domowych, związane są z wykorzystaniem odpowiedniego wyposażenia pomiarowego. Mówiąc odpowiedniego mamy na myśli takiego, które spełnia określone wymagania metrologiczne, bezpośrednio związane z wykonywaną procedurą badawczą lub pomiarową.

Wyposażenie pomiarowe znajdujące się w jakimkolwiek kompetentnym (co nie musi wcale oznaczać akredytowanym, jednak akredytacja jest najlepszym dowodem posiadania kompetencji) laboratorium, podlega na różnym poziomie odpowiedniemu nadzorowi. Nadzór nad wyposażeniem pomiarowym obejmuje zarówno przyrządy będące w użytkowaniu, ale również te, które aktualnie są wyłączone z eksploatacji. Nadzorowi podlegają też przygotowywane specyfikacje zamówień wyposażenia pomiarowego, które będą dopiero zamówione i dostarczane do laboratorium.

Jedną z pierwszych czynności związaną z projektowaniem nowego stanowiska badawczego lub pomiarowego jest wybór odpowiedniego przyrządu, który spełni oczekiwane wymagania. Wymagania są w niektórych przypadkach określone w odpowiednich dokumentach normatywnych opisujących daną procedurę badawczą lub pomiarową. W wielu jednak przypadkach wybór odpowiedniego wyposażenia pomiarowego spoczywa na osobie projektującej stanowisko badawcze lub pomiarowe.

Po dostarczeniu wyposażenia niezbędnym jest sprawdzenie, czy dany przyrząd, układ pomiarowy jest zgodny z zamówieniem, czy spełnia nasze oczekiwania i działa poprawnie. Proces ten nazwany jest często kwalifikacją wyposażenia pomiarowego. Dopiero po odpowiednio przeprowadzonym procesie *kwalifikacji możliwe jest włączenie wyposażenia pomiarowego do realizacji określonej procedury badawczej lub pomiarowej.*



**Rysunek 1:** Postępowanie z wyposażeniem pomiarowym przed rozpoczęciem użytkowania (opr. własne)

## 2. PRZYGOTOWANIE SPECYFIKACJI WYPOSAŻENIA POMIAROWEGO I WYBÓR DOSTAWCY

Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005, na której opierają swoją działalność kompetentne laboratoria, poświęca punkt 5.5 bezpośrednio wyposażeniu pomiarowemu. Norma wymaga, aby laboratorium było wyposażone w odpowiednie wyposażenie pomiarowe niezbędne do prawidłowego wykonywania badań lub wzorcowań. Norma podkreśla, że wyposażenie i jego oprogramowanie powinno zapewniać wymaganą dokładność oraz spełniać odpowiednie specyfikacje dotyczące badań lub wzorcowań.

Aby przygotować odpowiednią specyfikację zamówienia przyrządu pomiarowego należy przede wszystkim uwzględnić następujące czynniki:

- odzaj wykonywanych pomiarów, czyli co i jak będziemy mierzyć;
- warunki eksploatacji, czyli jakie są potrzebne warunki bezpośrednio na stanowisku badawczym lub pomiarowym oraz jakie są warunki eksploatacji przyrządu;
- charakterystyki metrologiczne, czyli informacje od producenta w zakresie podstawowych parametrów metrologicznych danego przyrządu pomiarowego w zależności od naszych potrzeb (może będzie potrzeba określić dodatkowe parametry, których standardowo producent nie dostarcza);
- dokumentacja producenta, czyli sprawdzenie, czy dokumentacja dostarczana przez producenta jest dla nas wystarczająca – instrukcje obsługi, dokumentacja sprawdzenia przyrządu, świadectwa wzorcowania itp.;
- dostępność i czas reakcji serwisu w przypadku awarii lub rutynowych przeglądów;
- zgodność z wymaganiami prawnymi (jeśli istotne), czyli czy przyrząd posiada stosowane zatwierdzenie typu oraz odpowiednie oznaczenia, potwierdzające spełnienie wymagań stosownych Dyrektyw Unii Europejskiej lub krajowych przepisów prawnych;
- inne czynniki (referencje, cena itp.).

Bardzo istotnym elementem związanym z wyposażeniem pomiarowym są warunki środowiskowe w jakich wyposażenie będzie eksploatowane. Należy pamiętać o tym, aby przyrządy pomiarowe, które zostały zamówione były eksploatowane w warunkach określonych przez

dostawcę. Jest to niezmiernie ważny element, ponieważ producent danego urządzenia gwarantuje jego poprawne działanie, czyli spełnienie deklarowanych charakterystyk metrologicznych w określonych warunkach środowiskowych.

Najczęściej podawany jest zakres temperatur w jakich producent deklaruje poprawność działania przyrządów, czasami zakres wilgotności.

Bardzo często popełniany jest błąd na etapie projektowania stanowiska polegający na braku zapisu dotyczącego warunków środowiskowych dotyczących wyposażenia w odniesieniu do procedur badawczych. Audytorzy dopatrują się niezgodności, kiedy producent deklaruje warunki eksploatacji, a procedury badawcze wymagają innych zakresów. Przykładem może być sytuacja, kiedy specyfikacja producenta na przyrząd pomiarowy określa zakres pracy temperatur od 18°C do 25°C, natomiast procedura badawcza określa temperaturę, w jakim ma być przechowywana próbka na 15°C ± 0,5°C. W tym przypadku przyrząd pomiarowy nie został dobrany prawidłowo. Można oczywiście wywzorcować dany przyrząd pomiarowy w tych warunkach i przyjmować w obliczeniach odpowiednie poprawki, ale w takim przypadku należałoby bardzo dokładnie monitorować wskazania przyrządu opracowując specjalny harmonogram sprawdzeń. Należałoby również zwrócić się do dostawcy o opinie lub wyniki testów w innych zakresach temperatury lub poprosić o wyniki takich badań przeprowadzonych przez producenta.

Po przygotowaniu specyfikacji zamówienia i przeprowadzeniu przeglądu ofert dokonujemy wyboru dostawcy wyposażenia pomiarowego. Kompetentne laboratoria muszą pamiętać, aby zgodnie z wymaganiami punktu 4.6 normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 proces wyboru dostawcy został przeprowadzony zgodnie z obowiązującą w laboratorium procedurą, z uwzględnieniem zapisów normy o zapewnieniu, że nabywane dostawy, które wpływają na jakość badań lub wzorcowań, nie będą użyte zanim nie zostaną sprawdzone lub w inny sposób zweryfikowane na zgodność ze specyfikacją podaną w normie, lub wymaganiami określonymi w metodach dotyczących odnośnych badań lub wzorcowań.

Wybór dostawcy powinien odbyć się po jego wcześniejszej ocenie i umieszczeniu na liście zatwierdzonych dostawców.

### 3. KWALIFIKACJA WYPOSAŻENIA POMIAROWEGO

Problem kwalifikacji wyposażenia pomiarowego dotyczy wielu dziedzin z obszaru badań, pomiarów czy produkcji. Związany jest on z procesem walidacji procedur badawczych, pomiarowych czy kontrolnych.

Analizując dokumenty normatywne czy prawne możemy spotkać kilka definicji walidacji. Międzynarodowy słownik metrologii; Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (PKN-ISO/IEC Guide 99:2010) w punkcie 2.45 definiuje nam, że walidacja jest to *weryfikacja, gdzie określone wymagania są adekwatne do zamierzonego zastosowania*. Weryfikacja natomiast jest to *zapewnienie obiektywnego dowodu, że dany przedmiot spełnia określone wymagania*.

W punkcie 5.4.5.1 normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 możemy się dowiedzieć, że *walidacja jest potwierdzeniem, przez zbadanie i przedstawienie obiektywnego dowodu, że zostały spełnione szczególne wymagania dotyczące konkretnie zamierzonego zastosowania*.

Z kolei w punkcie 3.8.5 normy PN-EN ISO 9000:2006 „Systemy zarządzania jakością Podstawy i terminologia” możemy przeczytać, że walidacja jest to *potwierdzenie przez przedstawienie*

dowodu obiektywnego, że zostały spełnione wymagania dotyczące konkretnego zamierzonego użycia lub zastosowania. Norma dopowiada nam również, że proces walidacji możemy przeprowadzić w warunkach rzeczywistych lub symulowanych.

Analizując tylko te trzy definicje możemy stwierdzić, że każda z nich sprowadza się do tego samego czyli potwierdzenia i dostarczenia dowodu, że zastosowana procedura badawcza, pomiarowa lub kontrolna w określonych warunkach (środowisko, personel, wyposażenie pomiarowe) spełnia określone wymagania.

Jak już podkreślano, wyposażenie pomiarowe ma bardzo duży wpływ na poprawność pomiarów, dlatego też tak ważnym elementem procedury walidacji w laboratorium jest kwalifikacja wyposażenia pomiarowego.

Pojęcie kwalifikacji nie jest zdefiniowane w dokumentach normatywnych czy słownikach metrologicznych. Kiedy jednak dokonamy analizy aktów prawnych dotyczących przemysłu farmaceutycznego możemy znaleźć definicję jak i konieczność przeprowadzenia procesu kwalifikacji wyposażenia pomiarowego i instalacji jakie obowiązują w firmach farmaceutycznych. Obowiązujące Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 1 października 2008 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania definiuje nam walidację jako udokumentowany program dający wysoki stopień pewności, że określony proces, metoda lub system będzie w sposób powtarzalny prowadzić do otrzymania wyników spełniających określone kryteria akceptacji. Rozporządzenie również definiuje i dokonuje podziału kwalifikacji.

**Kwalifikacja** – zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 1 października 2008 r. w sprawie wymagań Dobrej Praktyki Wytwarzania jest to działanie mające na celu wykazanie i udokumentowanie, że urządzenia lub instalacje pomocnicze są odpowiednio zainstalowane, pracują właściwie, a ich działanie rzeczywiście prowadzi do uzyskania oczekiwanych wyników. Rozporządzenie dodaje również, że kwalifikacja jest częścią walidacji, lecz poszczególne, pojedyncze etapy kwalifikacji nie stanowią procesu walidacji.

W przemyśle farmaceutycznym obowiązują trzy rodzaje kwalifikacji: kwalifikacja instalacyjna, operacyjna i procesowa.

**Kwalifikacja instalacyjna** – oznacza udokumentowaną weryfikację stwierdzającą, że obiekty, systemy i urządzenia, zainstalowane lub zmodyfikowane, są zgodne z zatwierdzonym projektem i zaleceniami producenta.

Kwalifikacja instalacyjna (IQ) jest pierwszą w kolejności postępowania. W przypadku wyposażenia pomiarowego obejmuje ona takie czynności instalacyjne jak:

- rozpakowanie urządzenia – zgodnie z zaleceniami dostawcy;
- sprawdzenie urządzenia za zgodność z zamówieniem (typ, model, nr fabryczny itp.);
- dokumentacja producenta (instrukcje, certyfikaty itp.);
- sprawdzenie warunków środowiskowych na stanowisku badawczym;
- instalacja urządzenia na stanowisku.

Kwalifikacja instalacyjna kończy się sporządzeniem odpowiedniego protokołu.

**Kwalifikacja operacyjna** – oznacza udokumentowaną weryfikację stwierdzającą, że obiekty, systemy i urządzenia, zainstalowane lub zmodyfikowane, funkcjonują tak, jak zamierzono w przewidywanych zakresach operacyjnych.

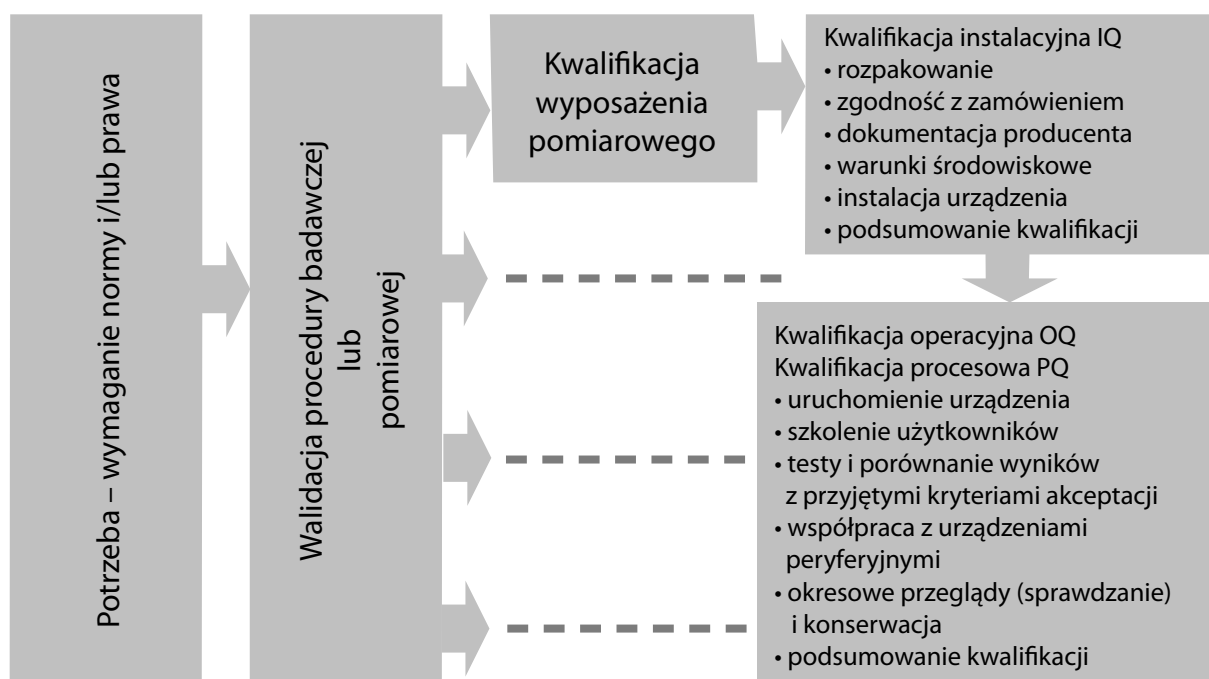
Kwalifikacja operacyjna (OQ) jest drugim etapem postępowania. Ze względu na możliwość prawną i względami praktycznymi, kwalifikacja operacyjna zazwyczaj jest połączona z kwalifikacją procesową.

**Kwalifikacja procesowa** – oznacza udokumentowaną weryfikację stwierdzającą, że obiekty, systemy i urządzenia, jako całość, działają skutecznie i w sposób powtarzalny w odniesieniu do zatwierzonego procesu i specyfikacji produktu.

Kwalifikacja procesowa (PQ) jest ostatnim etapem postępowania kwalifikacyjnego w odniesieniu do wyposażenia pomiarowego. W połączeniu z kwalifikacją operacyjną obejmuje takie czynności jak:

- uruchomienie urządzenia;
- przeszkolenie użytkowników;
- testy i porównanie wyników z przyjętymi kryteriami akceptacji;
- współpraca z urządzeniami peryferyjnymi (np. komputer, drukarka, czytnik kodów kreskowych itp.);
- wzorcowanie przyrządu pomiarowego w celu zachowania spójności pomiarowej;
- okresowe przeglądy (sprawdzanie) i konserwacja.

Postępowanie kwalifikacyjne kończy się sporządzeniem odpowiedniego protokołu.



**Rysunek 2:** Kwalifikacja wyposażenia pomiarowego w procesie walidacji procedury badawczej (opr. własne)

Jak już wspomniano wcześniej, przedstawiony sposób postępowania jest obligatoryjny w przemyśle farmaceutycznym. Należy jednak pamiętać, że cytowana już wcześniej norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 w punkcie 4.6 wymaga aby nabyte wyposażenie pomiarowe, które wpływa na jakość badań lub wzorcowań, nie będzie użyte zanim nie zostanie sprawdzone lub w inny sposób zweryfikowane na zgodność ze specyfikacją podaną w normie, lub wymaganiami określonymi w metodach dotyczących odnośnych badań lub wzorcowań.

Analizując punkt 4.10 przytoczonej wyżej normy, implementowanie dobrych praktyk obowiązujących w innych dziedzinach (w tym przypadku farmacja) jest klasycznym przykładem doskonalenia własnego systemu kwalifikacji wyposażenia obowiązującego w laboratorium.

Dopełnieniem dokumentacji procesu kwalifikacji jest zapewnienie spójności pomiarowej poprzez wzorcowanie wyposażenia pomiarowego.

#### 4. DOKUMENTACJA PROCESU KWALIFIKACJI

Kwalifikacja wyposażenia pomiarowego jest potwierdzona protokołem z kwalifikacji, który może, a w zasadzie powinien być integralną częścią protokołu walidacji procedury badawczej lub pomiarowej.

Pierwszym elementem przed rozpoczęciem procesu jest jednak sporządzenie planu kwalifikacji określonego przyrządu pomiarowego który powinien zawierać:

1. Cel i zakres kwalifikacji;
2. Wykaz osób wykonujących kwalifikację;
3. Sposób postępowania (szczegółowy opis czynności oraz ustalenie kryteriów akceptacji);
  - 3.1 Kwalifikacja instalacyjna;
  - 3.2 Kwalifikacja operacyjna i procesowa;
4. Wzorcowanie.

Po zakończeniu prac w ramach kwalifikacji i zakończeniu ewentualnych działań wyjaśniających, należy przeprowadzić końcowy i kompletny przegląd dokumentacji w celu skontrolowania czy zostały zrealizowane wszystkie założenia planu i czy przebieg kwalifikacji przebiegał bez zakłóceń. Po zakończonej weryfikacji wyników, przygotowuje się podsumowanie kwalifikacji (streszczenie) oraz wnioski końcowe o pozytywnym lub negatywnym zakończeniu kwalifikacji. Dodatkowym dokumentem jest świadectwo wzorcowania wyposażenia pomiarowego. W niektórych przypadkach elementem weryfikacji metrologicznej może być świadectwo wzorcowania, na podstawie którego można przeprowadzić ocenę spełnienia kryteriów akceptacji. Należy jednak pamiętać, że nie zawsze laboratorium wzorcujące może określić wszystkie charakterystyki metrologiczne danego przyrządu pomiarowego. Wówczas laboratorium wzorcujące określi podstawowe błędy wskazań wraz z niepewnością pomiaru tym samym zapewniając spójność pomiarową urządzenia.

- Na zakończenie całego procesu kwalifikacji i przeprowadzeniu wzorcowania przyrządu pomiarowego, służby metrologiczne w organizacji (zazwyczaj w laboratorium kierownik techniczny) zgodnie z wymaganiami punktu 5.5 normy PN-EN ISO/IEC 17025:2005 dokonuje identyfikacji wyposażenia w organizacji oraz przygotowuje Kartę przyrządu (jakkolwiek nazwana).

logo LABORATORIUM		Nazwa organizacji				
<b>KARTA PRZYRZĄDU</b>						
Numer w Rejestrze:		Nazwa przyrządu:	Typ:	Rok produkcji:	Kod:	
			Miejsce przechowywania:	Nr fabryczny seryjny:	Wyposażenie dodatkowe:	
LP.	DATA WYKONANIA CZYNNOŚCI METROLOGICZNEJ	RODZAJ CZYNNOŚCI METROLOGICZNEJ		WYKONUJĄCY	TERMIN KOLEJNEJ CZYNNOŚCI METROLOGICZNEJ*)	UWAGI (uszkodzenia, naprawy, włączanie do użytkowania itp.)
1		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
2		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
3		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
4		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
5		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
6		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
...		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	
16		WZORCOWANIE			WZORCOWANIE	
		SPRAWDZENIE			SPRAWDZENIE	

\*) Zgodnie z harmonogramem czynności opracowanym przez Kierownika ds. Technicznych

Formularz nr .....

wydanie ..... z dnia .....

załącznik do .....

**Rysunek 3:** Przykład Karty przyrządu (opr. własne)

Karta przyrzędu powinna zawierać co najmniej:

- identyfikację obiektu wyposażenia i jego oprogramowania;
- nazwę producenta, oznaczenie typu oraz numer seryjny lub inne indywidualne oznaczenie;
- sprawdzenia wskazujące, czy wyposażenie jest zgodne ze specyfikacją;
- aktualną lokalizację, jeżeli jest to właściwe;
- instrukcje producenta, jeżeli są dostępne, lub informację o miejscu ich przechowywania;
- daty, wyniki i kopie sprawozdań oraz świadectw wszystkich wzorcowań, regulacje, kryteria przyjęcia oraz stosowną datę kolejnego wzorcowania;
- plan konserwacji, gdy jest to właściwe, oraz konserwacje wykonane dotychczas, każde uszkodzenie, wadliwe działanie, modyfikacje lub naprawy wyposażenia.

Dodatkowo, jeśli to możliwe, wyposażenie pomiarowe nadzorowane przez laboratorium oraz wymagające wzorcowania powinno być opatrzone etykietami, oznaczeniem kodowym albo w inny sposób zidentyfikowane w celu wskazania statusu wzorcowania obejmującego datę ostatniego wzorcowania oraz datę lub kryteria ponownego wzorcowania, gdy jest ono przewidziane w planie wzorcowania.

## 5. ZESPÓŁ KWALIFIKACYJNY

Znając metody postępowania przy procesie kwalifikacji należy się zastanowić jak sprawnie i poprawnie przeprowadzić cały proces kwalifikacji określonego wyposażenia pomiarowego. Praktyka podpowiada, że najbardziej odpowiednią formą przeprowadzenia kompleksowej kwalifikacji jest powołanie tzw. zespołu kwalifikacyjnego w skład którego powinien wejść przedstawiciel właściciela danego procesu (użytkownika) oraz przedstawiciel producenta danego wyposażenia pomiarowego. Dodatkowym członkiem zespołu powinien być upoważniony przedstawiciel (akredytowany pracownik) akredytowanego laboratorium wzorcującego.



Rysunek 4: Zespół kwalifikacyjny (opr. własne)

Przedstawiciel właściciela procesu posiada niezbędną wiedzę teoretyczną i praktyczną z zakresu:

- konkretnych wymagań danej branży;
- procedur badań, pomiarów, produkcji lub kontroli;
- procedur analizy ryzyka związanych z danym procesem badawczym, pomiarowym czy produkcyjnym.

Przedstawiciel producenta posiada niezbędną wiedzę teoretyczną i praktyczną z zakresu:

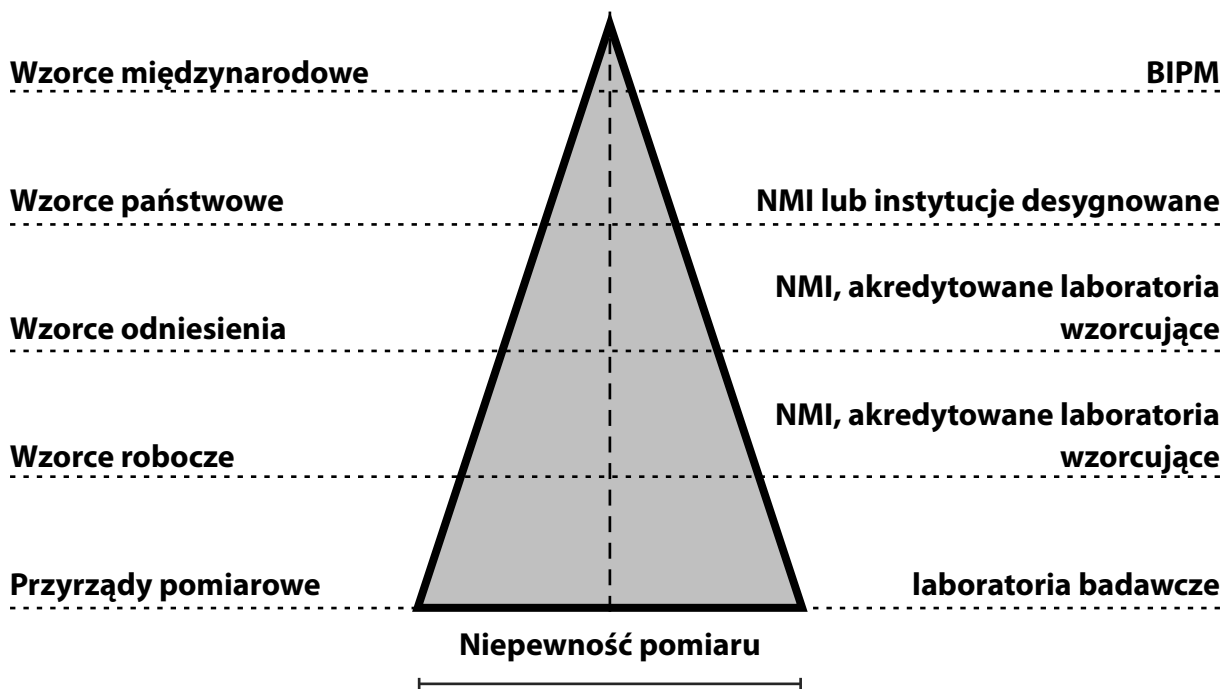
- charakterystyki pracy danego przyrządu pomiarowego;
- doboru optymalnych parametrów pracy urządzenia w odniesieniu do specyfiki wykonywanych pomiarów;
- warunków środowiskowych, które wpływają na proces pomiarowy i możliwość kompensacji ewentualnych błędów lub możliwość sugestii w celu optymalizacji warunków środowiskowych.

Akredytowane laboratorium wzorcujące posiada potwierdzone kompetencje do przeprowadzenia procedury wzorcowania wyposażenia pomiarowego w celu zachowania spójności pomiarowej.

Połączenie wiedzy obu przedstawicieli oraz laboratorium wzorcującego jaką daje powołany zespół kwalifikacyjny gwarantuje sprawne i poprawne przeprowadzenie procesu kwalifikacji wyposażenia pomiarowego.

## 6. KWALIFIKACJA WYPOSAŻENIA, A SPÓJNOŚĆ POMIAROWA

Użytkownicy przyrządów pomiarowych w laboratoriach zobowiązani są do zachowania spójności pomiarowej. Według Przewodnika PKN-ISO/IEC Guide 99:2010, który stanowi Międzynarodowy słownik metrologii, spójność pomiarowa jest to właściwość wyniku pomiaru,

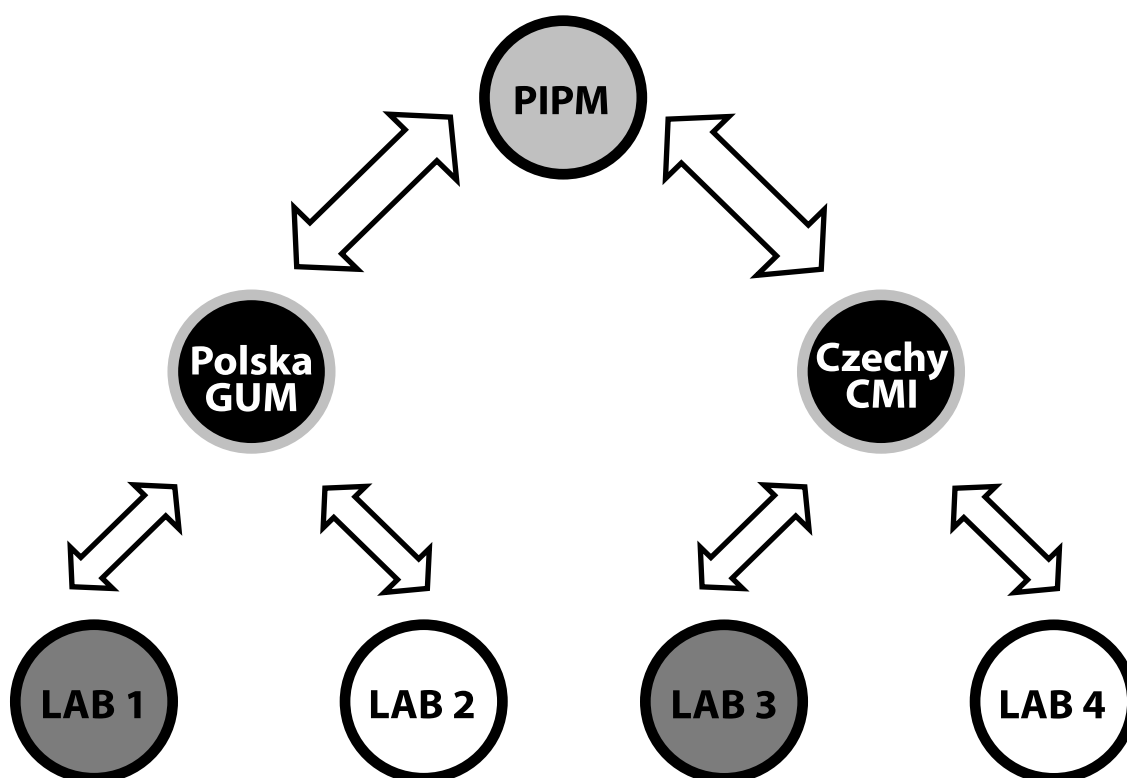


Rysunek 5: Ogólny schemat spójności pomiarowej [1]

przy której wynik może być związany z odniesieniem poprzez udokumentowany, nieprzerwany łańcuch wzorcowań, z których każde wnosi swój udział do niepewności pomiaru. Wyniki pomiarów tych samych wielkości lub parametrów wyrażonych w tych samych jednostkach otrzymywanych w różnych laboratoriach przy zachowanej spójności pomiarowej są ze sobą porównywalne. Dzięki spójności pomiarowej wynik pomiaru tej samej wielkości w laboratorium 1 będzie porównywany (w zakresie niepewności pomiaru) z wynikiem otrzymanym w laboratoriach 2, 3 i 4 (przykład rysunek 6).

Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 wymaga, aby całe wyposażenie używane do badań i/lub wzorcowań, w tym wyposażenie do pomiarów pomocniczych (np. warunków środowiskowych), które ma znaczący wpływ na dokładność lub miarodajność wyników badania, wzorcowania lub pobierania próbki, powinno być wzorcowane przed oddaniem do użytkownika.

Dlatego też wskazane jest, aby proces kwalifikacji wyposażenia pomiarowego przed włączeniem do eksploatacji zakończył się wzorcowaniem.



**Rysunek 6:** Spójność pomiarowa a porównywalność wyników [1]

## 7. PODSUMOWANIE

Rozwój przemysłu pociąga za sobą konieczność wykonywania coraz dokładniejszych pomiarów, a przyrządy pomiarowe muszą spełniać określone wymagania metrologiczne. Zgodnie z powszechnie obowiązującymi wymaganiami dotyczącymi systemów jakości, ale przede wszystkim zdrowym rozsądkiem, przyrządy pomiarowe muszą również zapewniać odniesienie do międzynarodowego układu jednostek SI – zachować spójność pomiarową, poprzez narodowe wzorce miar (w Polsce najczęściej przez wzorce utrzymywane przez Główny Urząd Miar).

Podstawowym celem wykonywania pomiarów jest uzyskiwanie wiarygodnych wyników. Podczas wykonywania badań potwierdzeniem, że opracowana i przyjęta do stosowania w laboratorium określona procedura badawcza cechuje wiarygodność, jest walidacja procedury badawczej. Przeprowadzona walidacja utwierdza nas, że cały proces pomiarowy przebiega zgodnie z zamierzeniami, a uzyskane wyniki są rzetelne i precyzyjne.

Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 wymaga przeprowadzenia walidacji w odniesieniu do procedur:

- własnych, nieznormalizowanych;
- opisanych w literaturze naukowej, ale nieznormalizowanych;
- znormalizowanych ale poddanych modyfikacji przez użytkownika;
- znormalizowanych ale stosowanych poza zakresem.

W przypadku realizacji przez laboratorium procedur znormalizowanych przytoczona wyżej norma nie wymaga procesu walidacji, jednak powszechnie obowiązuje w takim przypadku przeprowadzenie tzw. potwierdzenia, że metoda w laboratorium została poprawnie wdrożona i została oszacowana niepewność pomiaru metody, która spełnia określone kryteria.

W obu tych przypadkach konieczne jest przeprowadzenie kwalifikacji wyposażenia pomiarowego przed wdrożeniem do użytkowania danej procedury badawczej, pomiarowej, produkcyjnej lub kontrolnej.

## 8. LITERATURA

1. Bulska E.: Metrologia chemiczna, MALAMUT, Warszawa 2008
2. Konieczka P., Namieśnik J. praca zbiorowa: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, WNT, Warszawa 2007
3. The United States Pharmacopeia (USP) and the National Formulary (NF) Farmakopea Amerykańska USP 33-NF 28 wydanie 2010
4. PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 Międzynarodowy słownik metrologii. Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM)
5. PN-EN ISO /IEC 17025:2005 Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących
6. PN-EN ISO 9000:2006 Systemy zarządzania jakością. Podstawy i terminologia
7. PN-EN ISO 10012-1:1998 Wymagania dotyczące zapewnienia jakości wyposażenia pomiarowego System potwierdzania metrologicznego wyposażenia pomiarowego
8. Hantz A.: Kurs metrologii laboratoryjnej Cz. 2 Wyposażenie pomiarowe w laboratorium, ELAMED, Laboratorium nr 3-2008
9. Ustawy i rozporządzenia – [www.sejm.gov.pl](http://www.sejm.gov.pl)

Beata Witkowska  
**Instytut Włókiennictwa**  
**Łódź**

# Problematyka szacowania niepewności pomiaru i subiektywne metody oceny na przykładzie badań wyrobów włókienniczych

*Szacowanie niepewności pomiaru dla wielkości włókienniczych z uwagi na ich specyficzne cechy oraz liczne występowanie metod subiektywnej oceny z zastosowaniem wzorców wymaga indywidualnego podejścia. W referacie zaprezentowano dokumenty stosowane przez akredytowane laboratoria badawcze w zakresie szacowania niepewności pomiaru. Ponadto scharakteryzowano właściwości obiektów włókienniczych, które odróżniają je od innych obiektów badań, a także przedstawiono najczęściej występujące problemy związane z szacowaniem niepewności pomiaru typu A i typu B, w pomiarach wielkości włókienniczych oraz podawaniem tej niepewności. W ostatniej części referatu zaprezentowano sposób wdrożenia wymagań normy PN-EN ISO/IEC 17025 i innych omawianych dokumentów w zakresie szacowania niepewności pomiaru na przykładzie Laboratorium Badań Surowców i Wyrobów Włókienniczych Instytutu Włókiennictwa w Łodzi.*

## 1. WPROWADZENIE

Wszystkie pomiary, jakkolwiek staranne i naukowe są narażone na występowanie różnych niepewności. Rachunek błędów polega na badaniu i określaniu tych niepewności, a jego podstawowe zadanie to uświadomienie eksperymentatorowi, jak duże są niepewności i wskazanie sposobu ich zmniejszania, gdy jest to niezbędne. Stwierdzenie to znajdujące się na początku rozdziału pierwszego książki J.R Taylora pt. Wstęp do analizy błędów pomiarowego i może stanowić pewnego rodzaju motto dla wszystkich, którzy zajmują się przeprowadzaniem pomiarów i opracowywaniem wyników pomiarów [1].

Pierwsze próby wdrażania problematyki związanej z wyznaczaniem niepewności pomiaru rozpoczęły się wraz z opublikowaniem Przewodnika *Wyrażanie Niepewności Pomiaru (ang. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, GUM, ISO, 1993; popr. 1995, zwanym dalej Przewodnikiem GUM)* [2], który jest podstawowym dokumentem dotyczącym szacowania (wyznaczania) niepewności pomiaru. Zgodnie z GUM wymaga się, tam gdzie jest to możliwe, aby akredytowane laboratoria badawcze szacowały i przedstawiały niepewność związaną z wynikami ilościowymi. Podstawowym wymaganiem GUM jest stosowanie modelu dotyczącego wyznaczania niepewności. Model ten powinien obejmować wszystkie składowe, które mogą wpływać na niepewność związaną z wynikiem badania. Kolejnym

krokiem było zobligowanie akredytowanych laboratoriów badawczych do wdrażania problematyki niepewności wraz z wejściem do stosowania normy ISO/IEC 17025:1999 *General Requirements for the Competence of Testing and Calibration Laboratories* (aktualnie w Polsce PN-EN ISO/IEC 17025:2005 wraz z poprawką Ap1:2007) [3]. Dokument ILAC-G17:2002 [4] opisywał postępowanie dotyczące wdrażania pojęcia niepewności pomiaru z uwzględnieniem ówczesnego stanu wiedzy w tym zakresie.

Norma PN-EN ISO/IEC 17025 w punkcie 5.4.6 Szacowanie niepewności pomiaru dopuszcza różne podejścia do szacowania niepewności pomiaru w badaniach [4]:

- laboratoria powinny stosować odpowiednie metody szacowania,
- powinny być brane pod uwagę wszystkie składniki, które mogą wpływać na niepewności pomiaru,
- należy dokonywać racjonalnego oszacowania opartego na aktualnej wiedzy dotyczącej metody,
- nie wymaga się specjalnych działań ze strony laboratorium w sytuacjach, kiedy wykonuje się badania według dobrze znanej metody, w której określono graniczne wartości głównych źródeł niepewności,
- zgromadzone doświadczenie dotyczące metody i zakresu pomiaru może służyć jako podstawa do szacowania niepewności,
- nie jest konieczne wykorzystywanie metrologicznie ścisłych i statystycznie uzasadnionych obliczeń.

Omawiana norma sankcjonuje w punkcie 5.10.3 Sprawozdanie z badań zasady podawania niepewności pomiaru. Punkt 5.10.3c podaje co następuje: „*stwierdzenie, gdy ma to zastosowanie, dotyczące oszacowanej niepewności pomiaru; informacja dotycząca niepewności jest niezbędna w sprawozdaniach z badań, wówczas gdy ma to znaczenie dla miarodajności wyników badania lub ich zastosowania, gdy takie wymaganie jest w wytycznych klienta lub gdy niepewność ma znaczenie dla zgodności z wyspecyfikowanymi wartościami granicznymi.*”

Zapis ma istotne znaczenie, z uwagi na to, że w akredytowanych laboratoriach badawczych o profilu włókienniczym odnoszenie wyników badań do wymagań specyfikacji występuje w większości przypadków. W tym miejscu należy jednak podkreślić, że zainteresowanie klientów wyznaczaniem i podawaniem niepewności pomiaru kształtuje się na zróżnicowanym poziomie. W większości przypadków związane jest to z niepełną wiedzą w tym zakresie, ale częściej z faktem, że podanie niepewności pomiaru na sprawozdaniu z badań może skutkować nie spełnieniem wymagań specyfikacji.

W grudniu 2003 roku ukazało się tłumaczenie polskie dokumentu EA-04/16 [5], a celem jego wprowadzenia było ujednoczenie postępowania przy wyznaczaniu niepewności pomiarów i wyników badań w ramach EA (*ang. European co-operation for Accreditation*). Zamieszczono w nim wskazówki oraz zalecenia odnośnie wyznaczania niepewności pomiarów i wyników badań. Dokument EA-04/16 odwołuje się do Przewodnika GUM oraz normy ISO/IEC 17025. Opisuje między innymi wykorzystanie danych z walidacji i parametrów metody do wyznaczania niepewności związanej z wynikami. Informacje dotyczące parametrów metody badawczej można uzyskać na podstawie:

- danych gromadzonych podczas walidacji i weryfikacji metod badawczych przed wdrożeniem ich do stosowania w laboratorium,
- porównań międzylaboratoryjnych zgodnie z normą ISO 5725 [6],
- danych gromadzonych podczas sterowania jakością badań,
- programów badania biegłości jak opisano w EA-3/04 [7].

## 2. SZACOWANIE NIEPEWNOŚCI POMIARU

### 2.1. Definicje

Omówienie modelu szacowania niepewności pomiaru wymaga przypomnienia kilku definicji. Definicje te zaczerpnięto z PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 [8] oraz z Przewodnika GUM.

**2.1.1.** Pomiar (2.1 [8]) – proces doświadczalnego wyznaczania jednej lub więcej wartości wielkości, które w zasadny sposób mogą być przyporządkowane wielkości.

**2.1.2.** Menzurand (2.3 [8]) – wielkość, która ma być zmierzona.

**2.1.3.** Wynik pomiaru (2.9 [8]) – zbiór wartości wielkości przyporządkowany menzurandowi wraz z każdą dostępną informacją mogącą mieć znaczenie.

**2.1.4.** Niepewność pomiaru (2.26 [8]) – nieujemny parametr charakteryzujący rozproszenie wartości wielkości przyporządkowany do menzurandu, obliczony na podstawie uzyskanej informacji.

**2.1.5.** Niepewność standardowa (Przewodnik GUM, 2.3.1) – niepewność wyniku pomiaru wyrażona w formie odchylenia standardowego.

**2.1.6.** Obliczanie niepewności – metoda typu A (Przewodnik GUM 2.3.2) – metoda obliczania niepewności drogą analizy statystycznej serii pojedynczych obserwacji.

Niepewność standardowa typu A może być obliczana jako odchylenie standardowe wartości średniej liczonej z serii pomiarów, wykonanych w warunkach powtarzalności, dla każdej wielkości wejściowej  $x_i$  i określonej liczby stopni swobody, a zatem  $u_A(x_i) = s(x_i)$  dla  $n_i - 1$  określono wzorem:

$$u_A(x_i) = s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^m (x_{ik} - \bar{x}_i)^2}{n_i(n_i - 1)}} \quad (1)$$

Niepewność standardowa typu A może być również obliczana jako stosunek odchylenia standardowego wartości średniej i pierwiastka z liczby pomiarów:

$$u_A(x_i) = \frac{s(x_i)}{\sqrt{n}} \quad (2)$$

**2.1.7.** Obliczanie niepewności – metoda typu B (Przewodnik GUM 2.3.3) – metoda obliczania niepewności sposobami innymi niż analiza serii obserwacji.

Wartość określana na drodze analizy naukowej opartej na podstawie wszystkich dostępnych informacji, tj. poprzednich danych naukowych, posiadanego doświadczenia wraz z ogólną znajomością zjawisk i właściwości odpowiednich materiałów odniesienia i przyrządów, specyfikacji wzorców, danych uzyskanych z wzorcowania i certyfikacji, niepewności przypisanej danym odniesienia zaczerpniętym z podręczników (Przewodnik GUM 4.3.1).

$$u_B(x_i) = s(x_i) \quad (3)$$

**2.1.8.** Złożona niepewność standardowa (Przewodnik GUM 2.3.4) – niepewność standardowa wyniku pomiaru określana, gdy wynik ten jest otrzymywany z wartości pewnej liczby

innych wielkości, równa pierwiastkowi kwadratowemu z sumy wyrazów, będących wariacjami lub kowariancjami innych wielkości z wagami zależnymi od tego jak wynik pomiaru zmienia się wraz ze zmianami tych wielkości.

Niepewność standardowa złożona pomiaru Y (wielkości wejściowe nieskorelowane) wyrażona jest wzorem:

$$u_z(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 u^2(x_i)} \quad (4)$$

gdzie wyrażenie:

$$\frac{\partial f}{\partial x_i} = \frac{\partial f(x_1, \dots, x_i, \dots, x_N)}{\partial x_i} \quad (5)$$

oznacza współczynnik wrażliwości wielkości  $X_i$ , oznaczany przez  $c_i$ , a wyrażenie:

$$u^2(x_i) \quad (6)$$

oznacza standardowe niepewności typu A i / lub B.

Niepewność standardowa złożona pomiaru Y wyznaczana z uwzględnieniem niepewności typu A i typu B obliczana jest ze wzoru:

$$u_z(y) = \sqrt{u_A^2 + u_B^2} \quad (7)$$

**2.1.9. Niepewność rozszerzona** (Przewodnik GUM 2.3.5) – wielkość określająca przedział wokół wyniku pomiaru, od którego to przedziału oczekuje się, że obejmuje dużą część rozkładu wartości, które w uzasadniony sposób można przypisać wielkości mierzonej.

**2.1.10. Współczynnik rozszerzenia** (Przewodnik GUM 2.3.6) – współczynnik liczbowy zastosowany jako mnożnik złożonej niepewności standardowej w celu otrzymania niepewności rozszerzonej.

Niepewność standardowa rozszerzona pomiaru Y opisana jest wzorem:

$$U = k u_z(y) \quad (8)$$

gdzie:

k - współczynnik rozszerzenia; k = 2 na poziomie ufności 0,95, k = 3 na poziomie ufności 0,99.

W pomiarach włókienniczych, podobnie jak w każdym innym, wynik pomiaru może być określony zbiorem liczb rzeczywistych, którego elementami są: estymata wartości prawdziwej mezurandu oraz miara niedokładności jej wyznaczenia. W przedziałowej interpretacji wyniku pomiaru miarą niedokładności jest długość przedziału obejmującego, z określonym prawdopodobieństwem, wartość prawdziwą. Przyjmując, że przedział jest symetryczny względem estymaty, zbiór ten ma dwa elementy: estymatę i połowę długości przedziału [2, 9]. Wynik pomiaru wielkości Y można wtedy zapisać jako:

$$Y = y \pm U \quad (9)$$

gdzie:

$Y$  – wielkość mierzona,  $y$  – estymata wielkości mierzonej,  $U$  – niepewność rozszerzona.

Wytyczne dotyczące podawania pełnego wyniku pomiaru zaprezentowano w rozdziale 7 Przewodnika GUM pt. *Podawanie niepewności*, natomiast punkt 4 dokumentu EA-16/04 [5] pt. *Krótkie streszczenie Przewodnika GUM* zawiera zwięzłą interpretację podstawowych koncepcji Przewodnika GUM.

Podsumowując celem wyznaczenia niepewności związanej z wielkością mierzoną  $Y$  konieczna jest znajomość:

- równania modelowego,  $Y = F(X_1, \dots, X_N)$ ,
- najlepszego oszacowania  $x_i$  dla wszystkich wartości wejściowych  $X_i$ ,
- niepewności  $u(x_i)$  związanych z  $x_i$ .

### 3. SPECYFIKA POMIARÓW WIELKOŚCI WŁÓKIENNICZYCH. METODY OCENY SUBIEKTYWNEJ

Problemy laboratoriów badawczych, które zajmują się wyznaczaniem właściwości charakterystycznych dla wyrobów włókienniczych związane z szacowaniem i podawaniem niepewności pomiaru przede wszystkim związane są z ogromną różnorodnością obiektów włókienniczych, a także ze specyficznymi cechami tych obiektów nie obserwowanymi w innych dziedzinach. Obiekty włókiennicze można podzielić na trzy podstawowe grupy [9]:

- surowce i produkty:
  - włókna: naturalne, sztuczne, półprodukty, wyroby: liniowe, płaskie, wielowarstwowe, przestrzenne, specjalne konstrukcje odzieżowe,
- maszyny i urządzenia:
  - maszyny technologiczne, przędzalnicze, tkackie, dziewiarskie, włókninowe, wykończalnice, pomocnicze przyrządy pomiarowe,
- procesy:
  - projektowe, przygotowawcze, przetwórcze, wykończalnice, sterownicze, pomiarowe, zarządzania, marketingowe, handlowe.

Do specyficznych właściwości wyrobów włókienniczych można zaliczyć przede wszystkim [9]:

- „reologiczność”, tj. sprężystość lepkość, plastyczność i związane z tym zjawiska pełzania, relaksacji oraz odkształceń natychmiastowych,
- dużą czułość na wpływy klimatyczne oraz oddziaływania mechaniczne chemiczne i inne,
- duże rozrzuty parametrów, liniowe, powierzchniowe, przestrzenne,
- zmienność czasową, starzenie dojrzewanie,
- znaczącą zależność wyniku pomiaru od sposobu przygotowania próbek,
- istotną zmienność parametrów w procesie użytkowania,
- istotny wpływ procesów pomiarowych na wartości parametrów,
- specyficzne właściwości wzorców i przyrządów pomiarowych.

Należy również wziąć pod uwagę różnorodność parametrów i właściwości, którymi może charakteryzować się wyrób włókienniczy. Szczególnie dotyczy to płaskich wyrobów włókienniczych tj. np.: tkanin, dzianin, wyrobów powlekanych, wyrobów skonfekcjonowanych, włókienniczych pokryć podłogowych itp. Można tu wymienić parametry techniczno-tech-

nologiczne (masa powierzchniowa, długość, szerokość, grubość, parametry przędz składowych), wytrzymałościowe (wytrzymałość na rozciąganie, rozdzieranie, wypychanie, wytrzymałość szwu), użytkowe (odporność na ścieranie, przesuwalność nitek w szwie, odporności wybarwień, zmiana wymiarów po procesach prania i konserwacji, stabilność wymiarów po działaniu wysokiej temp.), komfortu fizjologicznego (przepuszczalność powietrza, opór pary wodnej, opór cieplny), estetyczne (skłonność do mechacenia i pillingu, odporność na mięcie, zmiana struktury i barwy po symulowanym użytkowaniu pokryć podłogowych). Są to tylko przykłady wyznaczeń, którymi na co dzień zajmują się laboratoria badawcze o profilu włókienniczym. Każde badanie ma swoją specyfikę i wymaga zaangażowania innych przyrządów pomiarowych. Wyznaczenie wielu parametrów wymaga stosowania w jednym badaniu wielu przyrządów np.: pomiarowych (wytrzymałość na rozciąganie, rozdzieranie itp.), pomiarowych i pomocniczych (zmiana wymiarów po procesach prania i suszenia), wzorców lub materiałów odniesienia (odporności wybarwień), czynników chemicznych np. sztuczne-go potu czy śliny (odporność wybarwień na pot alkaliczny i kwaśny). Istotnym elementem badań jest czynnik ludzki, jakim jest zespół oceniający niezbędny w przypadku ocen subiektywnych właściwości estetycznych (odporność wybarwień, skłonność do mechacenia i pillingu, odporność na mięcie, ocena zmiany wyglądu po procesach prania i suszenia itp.). Biorąc to pod uwagę wyznaczenie składowych niepewności typu B w wielu przypadkach staje się skomplikowane, a czasami niemożliwe.

Inna sprawa to dokładność podawania wyników pomiarów. Zdecydowana większość parametrów wyznaczana jest w oparciu o znormalizowane metody badawcze, które najczęściej podają sposób i dokładność podawania wyniku pomiaru. Biorąc pod uwagę zasadę, że dokładność podawania niepewności pomiaru jest taka sama jak dokładność podawania wyniku pomiaru [1] w wielu sytuacjach okazuje się, że przeprowadzenie całego procesu wyznaczania niepewności typu B doprowadza do wniosku, że wartość tej niepewności jest pomijana przy podawaniu wyniku pomiaru. Jest to najczęściej związane z tym, że aktualnie laboratoria badawcze stosują przyrządy pomiarowe o wysokiej, z punktu widzenia użytkownika, klasie dokładności natomiast wynik pomiaru należy podać w wartościach całkowitych lub z dokładnością do jednego miejsca po przecinku. W wielu przypadkach np. badań wytrzymałościowych dokładność podawania wyniku pomiaru, a co za tym idzie niepewności wyniku pomiaru zmienia się wraz z wyznaczanymi wartościami badanej cechy. Przykładem tego jest wyznaczanie wytrzymałości na rozciąganie [10] lub wytrzymałości szwu [11], gdzie zasada podawania dokładności wyniku pomiaru siły jest następująca:

- wartości siły  $< 100$  N, dokładność do 1 N,
- wartości siły  $\leq 100$  N do  $< 1000$  N, dokładność 10N,
- wartości siły  $\leq 1000$ N, dokładność 100 N.

W prezentowanym przypadku, a nie jest on odosobniony, jeżeli laboratorium, na podstawie świadectwa wzorcowania maszyny wytrzymałościowej, wyznaczy niepewność typu B i otrzyma wartości na poziomie np. zakres siły 10N  $\Rightarrow$  niedokładność wskazań 0,001N, zakres siły 100N  $\Rightarrow$  niedokładność wskazań 0,052N, zakres siły 1200N  $\Rightarrow$  niedokładność wskazań 0,413N niepewność ta mimo, że prawidłowo wyznaczona nie zostanie uwzględniona przy podawaniu wyniku pomiaru.

Oczywiście niepewność typu A dla metod, w których wyznaczane są właściwości wytrzymałościowe jest obliczana i podawana zgodnie z zasadami podawania dokładności wyniku pomiaru. Nie rzadkie są jednak przypadki, że niepewność ta osiąga wartości, które są pomijane przy podawaniu wyniku pomiaru.

Jak wcześniej zostało wspomniane wiele właściwości wyrobów włókienniczych jest wyznaczana z zastosowaniem wzorców. Wzorce te można podzielić na [9]:

- wzorce graficzne:

- postaciowe, tj. arkusze fotograficzne lub drukowane zawierające obrazy postaci rzeczywistych obiektów, których cechy wskazują przejawy uznane za wzorcowe, np. wzorce do oceny stopnia pillingu i zmechacenia tkanin i dzianin, wzorce odporności na mięcie czy zaciąganie nitek,
- szare skale to zestawy wzorców wykonanych w postaci papierowych pasków zawierających pola o różnych stopniach szarości. Za pomocą szarych skal ocenia się odporność wyrobów włókienniczych np. na pot, pranie, tarcie, światło, wodę, czyszczenie chemiczne. Pewną odmianą szarej skali jest szara skala do oceny stopnia zabrudzenia bieli. Zbudowana jest z papierowych par pasków białych i o różnych stopniach szarości.

- próbki wzorcowe stanowiące materiały odniesienia. Przykładem może być osiem niebieskich wzorców do oceny odporności wybarwień na światło sztuczne, których producentem jest np. *James H. Heal Co. Ltd. Anglia*. Próbki wzorcowe wykonane są z tkanin wełnianych o odpowiednich parametrach struktury i barwy, ponumerowanych od 1 do 8. Zmiany barwy na próbce roboczej powstałe w wyniku badania przeprowadzanego w znormalizowanych warunkach porównywane są ze zmianą barwy na odpowiednim wzorcu i w taki sposób jest dokonywana ocena stopnia zmiany barwy próbki roboczej.

- wzorce paskowe to specjalnie skonstruowane paski folii, służą one do wzorcowania elektrycznych przyrządów do pomiaru długości włókien, np. Almeter, Uster.

Różnorodność wzorców stosowanych w ocenie właściwości wyrobów włókienniczych stwarza trudności w przyjęciu wspólnej zasady co do wyznaczenia niepewności typu B w metodach badań, w których wzorce mają zastosowanie. W przypadku wzorców graficznych stosowanych do oceny stopnia skłonności do mechacenia i pillingu lub szarych skal można przyjąć, że niepewność każdej z ocen wynosi 0,5 stopnia. Warto jednak podkreślić, że zgodnie ze znormalizowaną metodyką badań [12] oceny dokonuje się korzystając z opisu słownego, który charakteryzuje zmiany występujące na próbce w odniesieniu do stopnia: 1, 2, 3, 4, 5, przy czym stopień 5 oznacza brak zmian odporności na pilling i mechacenie. Natomiast ocena przeprowadzana z użyciem wzorców dokonywana jest po uzgodnieniu z zainteresowanymi stronami, i jest oceną dodatkową. Wzorce fotograficzne pillingu reprezentują stopnie pośrednie ocen, tj. stopień 1-2, 2-3, 3-4, 4-5. W przypadku metod wykorzystujących szare skale mamy do dyspozycji 9 wzorców reprezentujących stopnie: 1, 1-2, 2, 2-3, 3, 3-4, 4, 4-5, przy czym stopień 5 oznacza brak zmian odporności wybarwień/zabrudzenia bieli. W zaprezentowanych przykładach trudno byłoby podać wynik oceny np. stopień  $5 \pm 0,5$  lub stopień  $1 \pm 0,5$ . Po pierwsze nie odpowiada to zasadzie, że dokładność podawania niepewności pomiaru jest taka sama jak dokładność podawania wyniku pomiaru, a po drugie jeżeli stopień 5 oznacza brak zmian trudno wyobrazić sobie co oznacza stopień 5,5 i analogicznie jeżeli stopień 1 oznacza największe z możliwych zmiany na próbce to trudno stwierdzić co oznacza stopień 0,5. Ponadto należy dodać, że wartość 0,5 stopnia jest najmniejszą wartością, jaką może przyjąć różnica pomiędzy pomiarami, tak więc próg czułości metody oceny pillingu jest osadzony bardzo wysoko, gdyż wynosi pół podziałki skali oceny.

Podsumowując należy stwierdzić, że najczęściej laboratoria badawcze, które stosują subiektywne metody oceny właściwości wyrobów włókienniczych pomijają wyznaczanie niepewności typu B dla tych metod.

Jeżeli chodzi o niepewność typu A metod subiektywnych jej wyznaczenie też nie zawsze jest możliwe. Warto w tym miejscu krótko opisać jak najczęściej przebiega ocena dokonywana z użyciem wzorców. Metodyka każdego z badań szczegółowo opisuje, w jakich warunkach ocena ma być dokonywana, dotyczy to zarówno stanowiska oceny (odpowiednie stanowisko oceny i oświetlenie, odległość od wzroku oceniającego itp.), rodzaju zastosowanych wzorców jak również zespołu oceniającego – zespół powinien składać się z co najmniej trzech osób. Dobór zespołu oceniającego powinien uwzględniać zasady opisane w serii norm o wspólnym tytule *Analiza sensoryczna*. Są to np. PN-ISO 5492:2009 *Analiza sensoryczna. Terminologia*, PN-ISO 8586:1996 Część 1 *Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Wybrani oceniający* czy Część 2 z 2008 *Analiza sensoryczna. Ogólne wytyczne wyboru, szkolenia i monitorowania oceniających. Eksperti oceny sensorycznej*. W tej ostatniej normie określono m.in. kryteria doboru ludzi o szczególnych zdolnościach sensorycznych spośród wytypowanych oceniających. Ponadto podano zasady i procedury pogłębiania ich wiedzy i zdolności do poziomu wymaganego dla oceniających ekspertów.

W praktyce zespół oceniający wyłaniany jest spośród pracowników laboratorium, którzy posiadają doświadczenie w wymaganym zakresie, znają metody badawcze, potrafią zmiany zaobserwowane na próbkach roboczych przyporządkować do stosowanych wzorców lub innych skal np. opisowych. Oceniający nie powinni być podatni na wpływy zewnętrzne to znaczy nie sugerować się ocenami innych osób w zespole lub ewentualną wiedzą odnośnie oczekiwań co do wyniku oceny. Ten pierwszy warunek można spełnić, gdy każdy oceniający podaje swoją ocenę niezależnie np. zapisuje na kartce, a wszystkie wyniki oceny są podawane po zakończeniu pracy zespołu. Wieloletnie doświadczenie laboratoryjne autorki wskazuje, że najczęściej wyniki oceny zespołu nie różnią się od siebie i np. uzyskuje się dziewięć wyników stopień 3 odporności na pilling (trzy próbki robocze oceniane przez trzy osoby). Znormalizowana metodyka oceny dopuszcza, aby różnica między najniższym i najwyższym stopniem oceny była 0,5 stopnia (wyjątkiem są metody, w których nie ma tzw. stopni półkowych, wtedy różnica może wynieść 1 stopień). Jeżeli różnica jest większa należy ponownie przeprowadzić ocenę zwiększając skład zespołu oceniającego.

Dla zaprezentowanego powyżej przykładu, w którym mamy dziewięć jednakowych wyników oceny niepewność typu A wynosi zero. Nawet jeżeli zgodnie z ww. zasadą, oceny są zróżnicowane to obliczona niepewność typu  $A = s / \sqrt{n}$ , kształtuje się na poziomie 0,08 do 0,09 stopnia, a niepewność rozszerzona dla  $k=2$  wynosi 0,16 do 0,19 stopnia. Biorąc pod uwagę, że zgodnie ze znormalizowaną metodyką dokładność podawania wyniku dla ocen dokonywanych przy wykorzystaniu tzw. skal ze stopniami półkowymi wynosi 0,5 stopnia niepewność typu A w tym przypadku też (podobnie jak niepewność typu B) jest pomijana.

#### **4. REALIZACJA WYTYCZNYCH NORMY PN-EN ISO/IEC 17025 I INNYCH DOKUMENTÓW W ZAKRESIE WYZNACZANIA NIEPEWNOŚCI POMIARU W LABORATORIACH BADAWCZYCH O PROFILU WŁÓKIENNICZYM**

Przykłady problemów związanych z szacowaniem niepewności pomiaru dla wielkości włókienniczych można mnożyć. Nie jest jednak celem tego referatu stwierdzenie, że wyznaczanie niepewności zarówno typu A i typu B rodzi dla laboratorium tylko same trudności. Wręcz przeciwnie, szacowanie niepewności pomiaru niezależnie od tego, że jest wymagane

w akredytowanych laboratoriach badawczych jest przede wszystkim jednym ze źródeł wiedzy w procesie doskonalenia pracowników laboratorium i pozwala podnieść jego kompetencje techniczne.

Laboratoria o profilu włókienniczym mają w swoich zakresach akredytacji bardzo wiele zróżnicowanych metod badawczych np. Laboratorium Badań Surowców i Wyrobów Włókienniczych Instytutu Włókiennictwa (IW) ok. 160 akredytowanych metod obejmujących badania: surowców włókienniczych, przędzy, nici, tkanin, tkanin powlekanych, dzianin, włókien, wyrobów o przeznaczeniu meblowym, wyrobów pończosznicy, wyrobów medycznych, zabawek i materiałów przeznaczonych do ich wytwarzania, pokryć podłogowych, wyrobów konfekcjonowanych. Laboratoria te realizują wymagania normy PN-EN ISO/IEC 17025 w zakresie szacowania niepewności pomiaru.

Omówienie sposobu wdrażania wymagań normy w przedmiotowym zakresie zostanie dokonane na przykładzie wyżej wymienionego Laboratorium IW, w którym autorka referatu pracuje. Laboratorium posiada w dokumentacji systemu zarządzania Procedurę *Wyrażanie niepewności pomiaru*, która ustala metody szacowania niepewności pomiaru stosowane w Laboratorium. Procedura odnosi się do Przewodnika GUM, normy PN-EN ISO 17025 oraz dokumentu EA-04/16 i przywołuje niezbędne definicje. Laboratorium stosuje Procedurę *Przedstawianie wyników badań*, która ustala zasady podawania niepewności pomiaru. Każde Sprawozdanie z badań na pierwszej stronie zawiera następującą adnotację: *Niepewność pomiaru, jeśli jest określona, została wyznaczona zgodnie z zaleceniami zawartymi w dokumencie EA-4/16. Podane wartości niepewności stanowią niepewność rozszerzoną przy poziomie ufności 95% i współczynnika rozszerzenia  $k=2$ .*

Istotnym elementem systemu wdrażania szacowania niepewności pomiaru w laboratorium oraz adaptacji tego systemu do codziennej pracy pracowników laboratorium jest tabelaryczne zestawienie metod badań wymienionych w zakresie akredytacji oraz przedstawienie dla każdej z nich: istotnych cech metody (liczba próbek, liczba pomiarów, dokładność pomiaru, dokładność podawania wyniku pomiaru: sposobu obliczania niepewności (przyczyna, wartość poprawki w przypadku niepewności typu B, odpowiednie wzory do wyznaczenia niepewności typu A, złożonej i rozszerzonej w przypadku obliczania niepewności typu A. W Tabeli 1 przedstawiono wybrane fragmenty zestawienia.

gdzie:

s - odchylenie standardowe obliczone ze wzoru (1),

n - liczba pomiarów,

k - współczynnik rozszerzenia równy 2.

Celem ułatwienia pracy, dla pracowników laboratorium, przygotowano tabelę, zawierającą informacje niezbędne do wyznaczenia niepewności typu B. Informacje te są aktualizowane na podstawie świadectw wzorcowania przyrządów. W Tabeli 2 przedstawiono przykład podania wartości niepewności typu B dla wagi elektronicznej i maszyny wytrzymałościowej.

**Tabela 2:** Wartości niepewności typu B wyznaczone na podstawie świadectw wzorcowania przyrządów

Przyrząd	Niepewność typu B - $u_B$
Waga elektroniczna WPS 1200	$u_B = 12 \text{ mg}$
Maszyna wytrzymałościowa ZWICK	
Głowica 2 kN	ściskanie $u_B = 6,4 \text{ N}$ , rozciąganie $u_B = 6,0 \text{ N}$
Głowica 10 N	ściskanie $u_B = 0,26 \text{ N}$ , rozciąganie $u_B = 0,26 \text{ N}$

**Tabela 1:** Metody badań wymienione w zakresie akredytacji. Zasady wyznaczania niepewności

Ip.	Metoda badania/ Wskaźnik	Liczba badanych próbek	Liczba pomiarów	Dokładność pomiaru	Dokładność podawania wyniku badania	Niepewność typu B - $u_B$		Niepewność typu A $u_A$	Niepewność rozszerzona	Dokładność podawania niepewności
						Przyczyna niepewności systematycznej	Poprawka w wyniku			
Wskaźniki masy										
1.	PN - ISO 3801:1993, tkaniny, met 5, masa powierzchniowa	5	5	0,001 g	1 g/m <sup>2</sup>	przymiar liniowy waga (poprawka ze świad. wzorcowania)	pomijana uwzględniana w wyniku, $u_B$ - w zależności od zastosowanej wagi	$s/\sqrt{n}$	$k\sqrt{u_A + u_B}$	$\pm 1$ g/m <sup>2</sup>
Wskaźniki grubości										
2.	PN - EN ISO 5084:1999, tekstylna, grubość	5	5	0,01 nm	0,01 nm	grubościomierz cyfrowy	uwzględniana w wyniku, $u_B = 0,01$ nm	$s/\sqrt{n}$	$k\sqrt{u_A + u_B}$	$\pm 0,01$ g/m <sup>2</sup>
Wskaźnik wytrzymałości										
3.	PN-ENISO13934:2002, Część1,Część2,tekstylna, wytrzymałość na rozciąganie met. paskowa met. grab	5	5	zgodnie z normą w zależności od zakresu	zgodnie z normą w zależności od zakresu	przymiar liniowy maszyna wytrzyma- (poprawka odczytana ze świadectwa wzorcowania	pomijana uwzględniana w wyniku, $u_B$ - w zależności od zastosowa- nej maszyny wytrzyma. (tylko dla siły)	$s/\sqrt{n}$	$k\sqrt{u_A + u_B}$	zgodnie z normą w zależności od zakresu
Wskaźnik oceny substancji										
4.	PN - EN ISO 12947, 2:2000+AC:2006, tekstylna, odporność na ścieranie	nie mniej niż 3	nie mniej niż 9	1 suw	najmniejszy przedział 1000 suwów	przyrząd Martindale'a subiektywna ocena wg kryterium zniszczenia	pomijana	$s/\sqrt{n}$	$k\sqrt{u_A}$	$\pm 1/2$ przedziału
5.	PN-ENISO12945:2000, Część 1, Część 2, tekstylna, skłonność do mechacenia i pillingu	3	9	0,5 stop	0,5 stop	przyrząd Martindale'a przebieg skrynkowy subiektywna ocena wg wzorca	pomijana	$s/\sqrt{n}$	$k\sqrt{u_A}$	max $\pm 0,5$ stopnia

Kolejnym elementem było opracowanie dla wszystkich metod badawczych stosowanych w laboratorium (z zakresu akredytacji i z po za niego) arkuszy pomiarowych, które zawierają niezbędne informacje dotyczące metody badania, parametrów badania oraz sposobu wyznaczenia niepewności pomiaru. Arkusze bardzo ułatwiają pracę pracowników laboratorium, ponadto w dużym stopniu gwarantują prawidłowość dokonanych obliczeń.

Zaprezentowane powyżej procedury szacowania niepewności pomiaru funkcjonują z powodzeniem w laboratorium od kilku lat. Trzeba jednak podkreślić, że jak każdy system wymagają ciągłego nadzoru i doskonalenia. Związane to jest przede wszystkim z wprowadzaniem do zakresu akredytacji nowych metod badawczych, nadzorem nad wyposażeniem - co skutkuje aktualizowaniem, na podstawie świadectw wzorcowania, zapisów co do wartości niepewności typu B, a także ciągłym szkoleniem pracowników laboratorium z zakresie metod szacowania niepewności pomiaru i sposobu funkcjonowania procedur w laboratorium.

## 5. PODSUMOWANIE

**5.1.** Szacowanie niepewności pomiaru jest jednym z elementów funkcjonowania systemu zarządzania laboratorium. Wdrożenie procedur szacowania niepewności jest wymagane w świetle obligatoryjnych dokumentów określonych do stosowania przez Polskie Centrum Akredytacji i normę PN-EN ISO 17025.

**5.2.** Specyficzne cechy obiektów włókienniczych i różnorodna metodyka badawcza obejmująca metody subiektywnej oceny organoleptycznej wymaga zastosowania niestandardowego podejścia do problematyki szacowania niepewności pomiaru. Z uwagi na to proces szacowania niepewności oparty jest w wielu przypadkach na wiedzy i doświadczeniu pracowników laboratorium i nie zawsze jest on ściśle powiązany z zastosowaniem metod statystycznych.

**5.3.** Szacowanie niepewności pomiaru stanowi dla laboratorium cenne źródło wiedzy zarówno o cechach metod pomiarowych, jak i przyrządów. Stanowi również inspirację do ciągłego doskonalenia kompetencji technicznych pracowników laboratorium.

**5.4.** Procedury szacowania niepewności pomiaru w laboratorium muszą być opracowane zgodnie z obowiązującymi dokumentami, powinny one jednak uwzględniać specyfikę danego obszaru technicznego.

## 6. LITERATURA

[1] Taylor J.R.: *Wstęp do analizy błędu pomiarowego* Wydawnictwo Naukowe PWN; Warszawa 1999r.

[2] Przewodnik. *Wyrażanie niepewności pomiaru*, Główny Urząd Miar, Wydanie polskie pod redakcją prof. dr hab. inż. Janusza M. Jaworskiego, 1999r (*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, GUM, ISO, 1993; popr. 1995*).

[3] Norma PN-EN ISO/IEC 17025:2005 +Ap1:2007 *Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących*.

[4] Dokument ILAC-G17:2002 *Wprowadzenie problematyki niepewności pomiaru w badaniach*

w związku z wejściem do stosowania normy ISO/IEC 17025 (tłumaczenie polskie).

[5] Dokument EA-04/16 *Wytyczne EA dotyczące wyrażania niepewności w badaniach ilościowych* (tłumaczenie polskie, grudzień 2003).

[6] Seria norm PN-ISO 5725:2002 *Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych i wyników pomiarów*.

[7] Dokument EA-3/04 *Use of Proficiency Testing as a Tool for Accreditation in Testing*.

[8] PKN-ISO/IEC Guide 99:2010 *Międzynarodowy słownik metrologii. Pojęcia podstawowe i ogólne oraz terminy z nimi związane (VIM)*.

[9] Gniotek K.: *Metodyka identyfikacji pewnych właściwości obiektów włókienniczych*, Polska Akademia Nauk, Oddział w Łodzi, Komisja Włókiennictwa, Łódź, 2004.

[10] Norma PN-EN ISO 13934-1:2002 *Tekstylija. Właściwości płaskich wyrobów przy rozciąganiu. Część 1: Wyznaczanie maksymalnej siły i wydłużenia względnego przy maksymalnej sile metodą paska*.

[11] Norma PN-EN ISO 13935-2:2002 *Tekstylija. Właściwości wytrzymałościowe szwów wykonanych na płaskich wyrobach włókienniczych i w gotowych wyrobach tekstylnych. Część 2: Wyznaczanie maksymalnej siły zrywającej szew z zastosowaniem metody grab*.

[12] Norma PN-EN ISO 12945:2002 *Tekstylija. Wyznaczanie skłonności powierzchni płaskiego wyrobu do mechacenia i pillingu. Część 1: Skrzynkowa metoda badania pillingu. Część 2: Zmodyfikowana metoda Martindale'a*.

Krystyna Klembalska  
**Przemysłowy Instytut Maszyn Rolniczych**  
**Poznań**

# Wpływ usytuowania mikrofonu na wyniki pomiarów w badaniach poziomu ciśnienia akustycznego

*Badania poziomu ciśnienia akustycznego realizowane są przez laboratoria badawcze najczęściej metodami znormalizowanymi. Stosowane normy określają szczegółowe wymagania, dotyczące m.in. warunków środowiskowych badań, wyposażenia, sposobu wykonania pomiarów, w tym również pozycji mikrofonu. Ze względu na własne możliwości techniczne i doświadczenia, laboratoria stosują różne techniki zapewnienia właściwego usytuowania mikrofonu. Przedstawiono wyniki badań, które starają się odpowiedzieć na pytania:*

- jaki wpływ na wyniki pomiarów i ich niepewność powoduje niespełnienie wymagań metody znormalizowanej, dotyczących usytuowania mikrofonu lub niestabilność jego pozycji,*
- jakie techniki wykonania pomiarów są akceptowalne w powyższym kontekście,*
- kiedy niezbędna jest walidacja metody.*

## 1. WPROWADZENIE

Wiele laboratoriów badawczych posiada w swoim zakresie akredytacji badania akustyczne, w tym hałasu w środowisku pracy lub hałasu na stanowisku pracy emitowanego przez maszyny i urządzenia. Są też laboratoria, które przygotowują się do uzyskania akredytacji w tym zakresie. Badania takie najczęściej wykonywane są metodami znormalizowanymi, jest to bowiem dziedzina badań, w której funkcjonują wyjątkowo liczne normy. Niektóre laboratoria stosują dodatkowo własne procedury badawcze, wspomagające metodę znormalizowaną. Rzadko spotyka się laboratoria, które stosują w pełni nieznormalizowaną metodę badawczą.

Normy określające metody badań hałasu, formułują wymagania dotyczące wykonywania pomiarów tak, aby były spełnione warunki zapewnienia wiarygodności, precyzji i porównywalności wyników badań, ze względu na sposób wykorzystywania tych wyników. Wyniki badań hałasu najczęściej wykorzystywane są w obszarach regulowanych prawem, tj. w ocenie środowiska pracy [3, 5] lub w działaniach związanych z systemem oceny zgodności w odniesieniu do maszyn i urządzeń [6]. Służą np. do:

- porównania wyników badań z określonymi specyfikacjami odniesienia [1, 2, 4],
- porównania wykonania różnych egzemplarzy z danej rodziny maszyn lub urządzeń,
- zaspokojenia potrzeb klientów – pracodawców, do oceny ryzyka na stanowiskach pracy, w tym monitorowania hałasu i jego ograniczania,

- zaspokojenia potrzeb klientów – producentów maszyn, w celu oceny skuteczności stosowanych konstrukcyjnych środków ograniczania emisji hałasu przez maszynę lub do deklarowania emisji hałasu,
- zaspokojenia potrzeb klientów – organów nadzoru i kontroli rynku, w celu weryfikacji poziomu hałasu emitowanego przez maszyny i urządzenia.

W związku z tym wymagane jest, aby badania były wykonane w określonych warunkach środowiska badawczego, w określonym miejscu, określoną aparaturą pomiarową, przy określonych warunkach pracy źródeł emisji. Jednym z czynników, które wpływają na wynik pomiaru lub jego niepewność, może być usytuowanie mikrofonu w trakcie pomiaru.

Znormalizowane metody badań hałasu określają m.in. pozycje mikrofonu, traktując ten czynnik jako istotny dla zapewnienia odtwarzalności wyników. Nie podają jednak informacji o wielkości tego wpływu, ani o sposobie (technice) zapewnienia określonej pozycji mikrofonu. Wykonano zatem skrócone badania, które w założeniach miały określić wpływ usytuowania mikrofonu na wyniki pomiarów i ich niepewność. W badaniach tych wykorzystano własne doświadczenia Laboratorium Badawczego Maszyn Rolniczych PIMR (AB 190) oraz wyniki obserwacji praktyki innych laboratoriów. Ograniczono się do pomiarów poziomu ciśnienia akustycznego skorygowanego charakterystyką częstotliwościową A, realizowanych metodami opisanymi w normach PN-N-01307:1994 i PN-EN ISO 11201:2010, dla stanowiska pracy operatora pracującego w pozycji stojącej. Rozważania skupiono głównie na praktycznych aspektach badań.

## 2. BUDŻET NIEPEWNOŚCI POMIARÓW W BADANIACH CIŚNIENIA AKUSTYCZNEGO

Budżet niepewności pomiarów hałasu obejmuje wiele składowych. Norma PN-N-01307:1994 stosowana w badaniach hałasu w środowisku pracy (w tym na stanowiskach pracy) nie podaje w ogóle żadnych informacji ani wymagań w zakresie niepewności pomiarów. Natomiast norma PN-EN ISO 11201:2010 (wydanie z grudnia 2010), stosowana w badaniach poziomu ciśnienia akustycznego na stanowiskach pracy metodą dokładną (stopień dokładności 1) lub techniczną/inżynierską (stopień dokładności 2), zwraca uwagę, że:

- niepewność pomiaru poziomu ciśnienia akustycznego zależy od całkowitego odchylenia standardowego  $\sigma_{tot}$  i wymaganego poziomu ufności,
- na całkowite odchylenie standardowe  $\sigma_{tot}$  składają się: odchylenie standardowe odtwarzalności metody  $\sigma_{RO}$  oraz odchylenie standardowe  $\sigma_{omc}$  wynikające z niestabilności pracy i warunków instalacji źródła hałasu,
- czynniki wpływające na wartość odchylenia standardowego odtwarzalności metody  $\sigma_{RO}$  związane są np. z warunkami środowiskowymi, niepewnością aparatury pomiarowej i techniką wykonywania pomiaru,
- czynniki wpływające na wartość odchylenia standardowego  $\sigma_{omc}$  związane są z rodzajem, charakterystyką i sposobem instalacji źródła hałasu.

Jednocześnie norma ta (w odróżnieniu od poprzednich wersji PN-EN ISO 11201:1999 i PN-EN ISO 11201:2010 (wydanie z lutego 2010) przedstawia dokładnie budżet i procedurę szacowania niepewności pomiaru, w tym wyznaczania wartości odchyleń standardowych, o których mowa wyżej. Np. dla metody technicznej, której odchylenie standardowe odtwarzalności  $\sigma_{RO}$  wynosi 1,5 dB, odchylenie standardowe  $\sigma_{omc}$  może wynieść od 0,5 dB do 4,0 dB. Biorąc zatem pod uwagę te szacunki, niepewność pomiaru poziomu ciśnienia akustycznego metodą techniczną wyniesie od 1,6 dB dla źródła hałasu o stabilnej pracy i warunkach in-

stalacji, do 4,3 dB dla źródła hałasu o bardzo niestabilnej pracy i warunkach instalacji. Niepewność rozszerzona zależna będzie od przyjętego poziomu ufności. Dla poziomu ufności 95% przyjmuje się współczynnik rozszerzenia  $k=2$  (rozkład normalny). Przy jednostronnym przedziale ufności 95% dla rozkładu normalnego przyjmując można współczynnik rozszerzenia  $k=1,6$ .

Zastrzec należy, że wartość odchylenia standardowego odtwarzalności metody  $\sigma_{RO}$  podaną w normie, można przyjąć jedynie w przypadkach, gdy badania realizowane są w warunkach pełnej zgodności z wymaganiami danej metody. W przeciwnym przypadku wartość ta będzie większa. Jednym z czynników wpływających na zwiększenie wartości odchylenia standardowego odtwarzalności metody  $\sigma_{RO}$  może być np. niespełnienie wymagań normy/metody, dotyczących pozycji mikrofonu lub niestabilność jego pozycji.

Ze względu na to, że pomiary zgodnie z normą PN-EN ISO 11201:2010 wykonywane są w kontrolowanych warunkach środowiskowych, metody w niej opisane zapewniają wyższe stopnie dokładności (stopień dokładności 1 – metoda dokładna i stopień dokładności 2 – metoda techniczna), niż np. metoda pomiarów w warunkach in situ, podana w normie PN-EN ISO 11202:2010.

### 3. POZYCJE MIKROFONU WG WYMAGAŃ NORM I W PRAKTYCE

Wymagania zastosowanych w niniejszych badaniach norm, dotyczące pozycji mikrofonu dla operatora pracującego w pozycji stojącej, przedstawiono w tablicy 1. Zaznaczyć należy, że oczywista jest różnica w zastosowaniu PN-N-01307:1994 i PN-EN ISO 11201:2010 oraz wynikające z tego różnice w metodach, jednak warto je porównać, gdyż niejednokrotnie ich wymagania odnoszą się do takiego samego stanowiska pracy. Informacyjnie podano również odpowiednie wymagania normy PN-EN ISO 4254-1:2009+AC:2010, modyfikujące i uzupełniające w pewnym zakresie wymagania normy PN-EN ISO 11201:2010, stosowane w badaniach maszyn rolniczych samobieżnych i ciągnikowych.

Jak wynika z powyższych danych, wymagania norm PN-EN ISO 11201:2010 i PN-N-01307:1994 dotyczące pozycji mikrofonu, różnią się przede wszystkim precyzją wymagań. Wynika to m.in. z rozwoju doświadczeń normalizacyjnych w okresie, który oddziela lata wydań obu norm, ale również (przynajmniej częściowo) z różnicy zastosowań obu metod. Laboratorium realizujące badania hałasu metodą wg normy PN-N-01307:1994 i rozumiejące sens tych pomiarów, zdaje sobie sprawę z niezbędnych uwarunkowań, których nie podano w normie, np. że mikrofon powinien być ukierunkowany zgodnie z kierunkiem padania dźwięku.

Jeśli chodzi o miejsce mikrofonu w stosunku do źródła hałasu (np. położenie i odległość w stosunku do obsługiwanej maszyny), normy ze względu na zróżnicowanie stanowisk pracy dysponują tylko, że mikrofon ma być w miejscu, gdzie zwykle znajduje się głowa pracownika, lub gdzie zwykle znajduje się operator. Ścisłe wyznaczenie tego miejsca pozostawiono kompetencjom badającego. O ile norma PN-EN ISO 11201:2010 wyjątkowo precyzyjnie podaje wysokość mikrofonu w przypadku pomiarów wykonywanych podczas nieobecności pracownika, uwzględniając wzrost przeciętnego człowieka, o tyle norma PN-N-01307:1994 wskazuje wysokość nad podłogą  $\geq 1,2\text{m}$ , dodając że chodzi o miejsce, w którym zwykle znajduje się głowa pracownika. Jednocześnie norma PN-EN ISO 11201:2010 wymaga, aby sto-

**Tabela 1:** Pozycje mikrofonu przy pomiarach poziomu ciśnienia akustycznego na stanowisku pracy dla operatora pracującego w pozycji stojącej

<b>Obecność pracownika/ operatora podczas pomiarów</b>	<b>PN-N-01307:1994</b>	<b>PN-EN ISO 11201:2010</b>	<b>PN-EN ISO 4254- 1:2009+AC:2010</b>
Pomiary wykonywane podczas nieobecności pracownika	<p>Mikrofon w miejscu, gdzie zwykle znajduje się głowa pracownika</p> <p>Wysokość nad podłogą <math>\geq 1,2\text{m}</math></p>	<p>Mikrofon ustawiony tak, aby kierunek padania dźwięku pokrywał się z kierunkiem odniesienia mikrofonu, podanym przez wytwórcę. Jeśli to możliwe, mikrofon zwrócony w kierunku dominującego źródła dźwięku</p> <p>Wysokość nad podłogą <math>1,550\text{m} \pm 0,075\text{m}</math> (nad punktem odniesienia, wyznaczonym przez rzut środka głowy operatora na podłogę)</p>	<p>Mikrofon w miejscu, gdzie zwykle znajduje się operator. Pozostałe – jak PN-EN ISO 11201:2010</p> <p>Wysokość nad podłogą <math>1,60\text{m} \pm 0,05\text{m}</math></p>
Pomiary wykonywane w obecności pracownika	Odległość od ucha bardziej narażonego $0,1\text{m}$	<p>Odległość od środkowej płaszczyzny głowy operatora <math>0,20\text{m} \pm 0,02\text{m}</math>, w linii oczu, z kierunkiem odniesienia mikrofonu równoległym do linii widzenia operatora, po stronie większego narażenia</p> <p>Mikrofon ustawiony tak, aby kierunek padania dźwięku pokrywał się z kierunkiem odniesienia mikrofonu, podanym przez wytwórcę. Jeśli to możliwe, mikrofon zwrócony w kierunku dominującego źródła dźwięku</p>	<p>Mikrofon zamocowany na głowie w odległości <math>0,20\text{m} \pm 0,02\text{m}</math> od płaszczyzny symetrii głowy, w linii oczu, po stronie źródła hałasu</p> <p>Wzrost operatora <math>1,75\text{m} \pm 0,05\text{m}</math> łącznie z butami</p> <p>Jak PN-EN ISO 11201:2010</p>

sować dodatkowe ustalenia wynikające z norm przedmiotowych, dotyczących konkretnego typu maszyn lub urządzeń, jeśli takie normy istnieją. Np. dla maszyn rolniczych samobieżnych i ciągnikowych, zacytowana w tabl.1 norma PN-EN ISO 4254-1:2009+AC:2010 określa dokładnie wzrost pracownika, z którego wynika wysokość pozycji mikrofonu (w przypadku, gdy pomiary wykonywane są w obecności pracownika).

Normy nie narzucają także techniki utrzymania stabilnej pozycji mikrofonu w trakcie pomiarów, z wyjątkiem zacytowanej normy PN-EN ISO 4254-1:2009+AC:2010, która wskazuje, że w przypadku pomiarów wykonywanych w obecności pracownika, mikrofon powinien być zamocowany na głowie.

W praktyce laboratoria badawcze stosują różne techniki ustalenia i utrzymania pozycji mikrofonu w trakcie pomiarów.

W badaniach wykonywanych w obecności pracownika mikrofon:

- zamocowany jest na głowie pracownika/operatora, np. na kasku (rys. 1), lub
- utrzymywany jest przez badającego ręcznie przy uchu pracownika/operatora (zwłaszcza gdy laboratorium posiada mikrofon zintegrowany z miernikiem), przy czym zdarzają się często sytuacje, że odległość od ucha ustalana jest bez wykonania jej pomiaru.

W badaniach wykonywanych przy nieobecności pracownika mikrofon:

- zamocowany jest na statywie, lub
- utrzymywany jest przez badającego ręcznie, przy czym zdarzają się często sytuacje, że wysokość nad podłożem ustalana jest bez wykonania jej pomiaru.



**Rysunek 1:** Przykład mikrofonu zamocowanego na kasku, z możliwością regulacji położenia i ukierunkowania

## **4. BADANIA WPŁYWU POZYCJI MIKROFONU NA WYNIKI POMIARÓW I ICH NIEPEWNOŚĆ**

### **4.1. Metoda i warunki badań**

Pomiary wykonano zgodnie z normami PN-EN ISO 11201:2010 (metodą techniczną, klasa dokładności 2) i PN-N-01307:1994, z niżej opisanymi ograniczeniami, wynikającymi z celu badań. Przeprowadzono bezpośrednie pomiary ciśnienia akustycznego skorygowanego charakterystyką częstotliwościową A, stosując różne pozycje mikrofonu.

Pomiary wykonano w określonym miejscu – na stanowisku pracy zlokalizowanym w pobliżu maszyny, w obecności operatora maszyny, pracującego w pozycji stojącej. W odniesieniu do porównywanych pomiarów zawsze zachowywano te same warunki środowiskowe, to samo miejsce badania i usytuowanie źródła hałasu (dlatego nie uwzględniano poprawki hałasu tła ani poprawki środowiskowej), a także to samo źródło hałasu i warunki jego pracy.

Obsługiwana przez operatora maszyną był kompresor typ E. C. ATTACK 25/195 23050 OT-TENS o mocy 1,1 kW, zasilany napięciem 230V. Wymiary gabarytowe: wysokość 600mm, szerokość 250mm, długość 560mm. Miejsce operatora: po stronie urządzeń sterowniczych maszyny, twarzą do maszyny (miejsce, jakie zajmuje najczęściej).

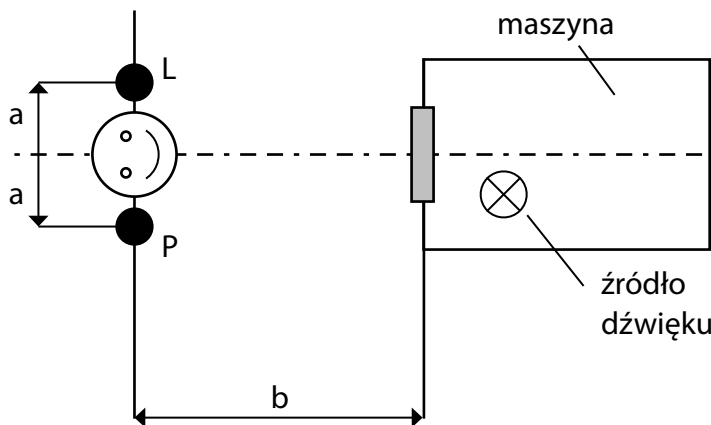
Miejsce badania: w warunkach zbliżonych do pola swobodnego, na przestrzeni otwartej, nad płaszczyzną odbijającą dźwięk (o powierzchni betonowej).

Podstawowa aparatura pomiarowa:

analizator hałasu i drgań całkująco-uśredniający SVAN 912E, kalibrator akustyczny SV03A, mikrofon SV02/C4, kask do mocowania mikrofonu.

Pozycje mikrofonu: wybrane parametry zmienne (patrz pkt.4.2).

a) widok z góry



**L** – mikrofon przy uchu lewym

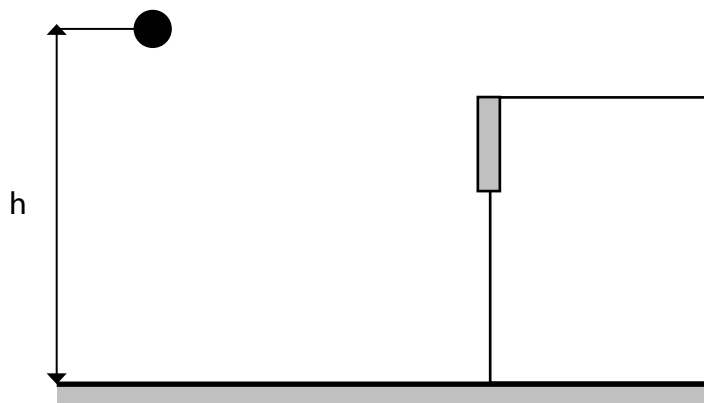
**P** – mikrofon przy uchu prawym

**a** – odległość mikrofonu od płaszczyzny symetrii głowy

**b** – odległość mikrofonu (operatora) od maszyny

**h** – wysokość mikrofonu nad podłożem

a) widok z góry



**Rysunek 2:** Szkic sytuacyjny do badań

## 4.2. Wyniki badań

Wykonano pomiary poziomu ciśnienia akustycznego przy kolejno zmienianych parametrach pozycji mikrofonu:

- odległości mikrofonu od płaszczyzny symetrii głowy (od ucha),
- ukierunkowania mikrofonu względem kierunku padania dźwięku,
- wysokości mikrofonu nad podłożem,
- odległości mikrofonu od maszyny/źródła dźwięku, zachowując w każdym przypadku stałe, pozostałe z wymienionych parametrów.

Przyjęto, że te stałe parametry mają wartości spełniające wymaganiom jednocześnie obu norm (PN-N-01307:1994 i PN-EN ISO 11201:2010), tj.:

- odległość mikrofonu od płaszczyzny symetrii głowy  $a = 185\text{mm}$  (przy założeniu, że odległość od płaszczyzny symetrii głowy do ucha wynosi 80-90mm, średnio 85mm),
- wysokości mikrofonu nad podłożem  $h = 1475\text{-}1625\text{mm}$ ,

oraz że:

- poprawne jest ukierunkowanie mikrofonu w obu płaszczyznach zgodne z kierunkiem padania dźwięku,
- odległość mikrofonu od maszyny/źródła dźwięku dla badanego stanowiska pracy powinna wynosić  $b = 700\text{mm}$  (praca operatora polega na obsłudze urządzeń sterowniczych maszyny i odległość ta jest wystarczająca ze względu na zasięg ramienia do przodu).

Każdy pomiar powtórzono trzykrotnie. Jako wynik badań przyjęto średnią arytmetyczną ze zmierzonych wartości.

Poniżej w tabl. 2 – 5 przedstawiono wyniki pomiarów uzyskane dla zmiennych parametrów pozycji mikrofonu.

**Tabela 2:** Wpływ odległości mikrofonu od płaszczyzny symetrii głowy

Pozycja mikrofonu		Poziom ciśnienia akustycznego [dB(A)]	
$a$ [mm]	parametry stałe	przy uchu lewym	przy uchu prawym
130 <sup>1</sup>	$b = 700\text{mm}$ $h = 1625\text{mm}$ mikrofon ukierunkowany zgodnie z kierunkiem padania dźwięku	80,9	81,1
185 <sup>2</sup>		80,8	80,9
200 <sup>3</sup>		80,7	80,8
250 <sup>1</sup>		80,6	80,7

<sup>1</sup>  $a = 130\text{mm}$  nie spełnia wymagań PN-N-01307:1994, ani PN-EN ISO 11201:2010;

<sup>2</sup>  $a = 185\text{mm}$  spełnia wymagania zarówno PN-N-01307:1994, jak i PN-EN ISO 11201:2010;

<sup>3</sup>  $a = 200\text{mm}$  spełnia wymagania PN-EN ISO 11201:2010, nie spełnia wymagań PN-N-01307:1994.

Stwierdzono niewielki wpływ odległości mikrofonu od płaszczyzny symetrii głowy (od ucha) operatora na wyniki badań. Różnice w uzyskanych wartościach poziomu ciśnienia akustycznego nie powinny też w sposób istotny wpłynąć na szacowaną wartość niepewności pomiarów (patrz pkt.2).

**Tabela 3:** Wpływ ukierunkowania mikrofonu

Pozycja mikrofonu		Poziom ciśnienia akustycznego [dB(A)]	
ukierunkowanie mikrofonu	parametry stałe	przy uchu lewym	przy uchu prawym
Zgodnie z kierunkiem padania dźwięku (w obu płaszczyznach) <sup>1</sup>	a = 185mm b = 700mm h = 1625mm	80,8	80,9
Poziomo i równoległe do płaszczyzny symetrii głowy		80,4	80,6

<sup>1</sup> ukierunkowanie poprawne w świetle wymagań PN-EN ISO 11201:2010.

Stwierdzono widoczny wpływ ukierunkowania mikrofonu na wyniki pomiarów, jednak jego wielkość będzie różna dla różnych stanowisk pracy. Znaczenie ma np. rozmiar i typ maszyny, występowanie dominującego źródła hałasu, liczba źródeł hałasu na konkretnym stanowisku pracy, czy miejsce jakie zajmuje pracownik/operator w konkretnym środowisku pracy.

**Tabela 4:** Wpływ wysokości mikrofonu nad podłożem

Pozycja mikrofonu		Poziom ciśnienia akustycznego [dB(A)]	
h [mm]	parametry stałe	przy uchu lewym	przy uchu prawym
1200 <sup>1</sup>	a = 185mm; b = 700mm	82,2	81,1
1475 <sup>2</sup>	mikrofon ukierunkowany zgodnie z kierunkiem padania dźwięku	81,7	81,8
1625 <sup>2</sup>		80,8	80,9

<sup>1</sup> h = 1200mm spełnia wymagania PN-N-01307:1994, nie spełnia wymagań PN-EN ISO 11201:2010;

<sup>2</sup> h = 1475-1625mm spełniają wymagania PN-N-01307:1994 i PN-EN ISO 11201:2010.

Stwierdzono, że wpływ wysokości mikrofonu nad podłożem na wyniki pomiarów jest zdecydowanie widoczny. Może też istotnie wpłynąć na szacowaną wartość niepewności pomiarów (patrz pkt.2). Podobnie jak w poprzednim przypadku wpływ ten będzie różny dla różnych stanowisk pracy.

**Tabela 5:** Wpływ odległości mikrofonu od maszyny/źródła dźwięku

Pozycja mikrofonu		Poziom ciśnienia akustycznego [dB(A)]	
b [mm]	parametry stałe	przy uchu lewym	przy uchu prawym
500	a = 185mm; h = 1625mm	83,3	83,7
700 <sup>1</sup>	mikrofon ukierunkowany zgodnie z kierunkiem padania dźwięku	80,8	80,9
1000		77,5	77,8

<sup>1</sup> b = 700mm poprawna dla danego stanowiska pracy.

Stwierdzono duży wpływ odległości mikrofonu od maszyny/źródła dźwięku na wyniki pomiarów. Może też istotnie wpłynąć na szacowaną wartość niepewności pomiarów (patrz pkt.2). Wpływ ten będzie miał znaczenie zwłaszcza dla badań hałasu na określonych stanowiskach operatora konkretnej maszyny, a głównie maszyny stacjonarnej.

## 5. WNIOSKI

Pozycja mikrofonu wpływa na wyniki pomiarów poziomego ciśnienia akustycznego oraz na niepewność pomiarów. Przy badaniach wykonywanych dla stanowiska operatora pracującego w pozycji stojącej, największy wpływ ma odległość mikrofonu od maszyny/źródła dźwięku oraz wysokość mikrofonu nad podłożem.

Każde badane stanowisko pracy czy środowisko pracy należy przeanalizować indywidualnie. Niezależnie od metody badania ważne jest, aby dla danego stanowiska pracy ustalić w miarę precyzyjnie i w uzasadniony sposób dominującą pozycję pracownika oraz miejsce, w którym on się znajduje na stanowisku (np. w stosunku do obsługiwanej maszyny i jego odległość od maszyny).

Ręczne utrzymywanie mikrofonu w czasie pomiaru nie gwarantuje zapewnienia stabilnej jego pozycji, co jest szczególnie istotne zwłaszcza dla badań realizowanych metodą wg normy PN-EN ISO 11201:2010.

Uzasadnione jest, aby laboratoria realizujące badania hałasu na stanowiskach pracy metodą wg normy PN-N-01307:1994, przyjęły do swojej praktyki profesjonalnej, właściwe ustalenia dotyczące pozycji mikrofonu (np. ukierunkowanie, wysokość nad podłożem odpowiadająca przeciętnemu wzrostowi pracownika, odległość od źródła hałasu) oraz stosowały technikę pomiaru, zapewniającą, tam gdzie to możliwe, właściwe utrzymanie stabilności pozycji mikrofonu. Nic nie stoi na przeszkodzie, aby przy tym wykorzystać niektóre ustalenia np. normy PN-EN ISO 11201:2010, w zakresie w jakim nie naruszają wymagań PN-N-01307:1994.

Prezentując wyniki badań poziomego ciśnienia akustycznego na stanowisku pracy, konieczne jest dokładne podanie pozycji mikrofonu.

Walidacja metody jest niezbędna w sytuacjach oczywistych, gdy laboratorium stosuje metodę nieznormalizowaną lub zmodyfikowało metodę znormalizowaną, ale również wówczas, gdy laboratorium stosuje w swojej praktyce technikę wykonania pomiarów, która może budzić wątpliwości, co do pełnej zgodności z wymaganiami metody znormalizowanej lub własnych racjonalnych ustaleń.

## 6. LITERATURA

1. Dyrektywa 2006/42/WE Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 17 maja 2006 r. w sprawie maszyn, zmieniająca dyrektywę 95/16/WE (Dz. Urz. UE L 157 z 09.06.2006, s. 24)
2. Rozporządzenie Ministra Gospodarki z dnia 21 października 2008 r. w sprawie zasadniczych wymagań dla maszyn (Dz. U. z 2008 r. nr 199, poz.1228)
3. Rozporządzenie Ministra Gospodarki i Pracy z dnia 5 sierpnia 2005 r. w sprawie bezpieczeństwa i higieny pracy przy pracach związanych z narażeniem na hałas lub drgania mechaniczne (Dz. U. z 2005 r. nr 157, poz.1318)
4. Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Społecznej z dnia 29 listopada 2002 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Dz. U. z 2002 r. nr 217, poz.1833 z późn. zm.)

5. Ustawa z dnia 26 czerwca 1974 r. – Kodeks pracy (tekst jednolity Dz. U. z 1998 r. nr 21, poz. 94 z późn. zm.)
6. Ustawa z dnia 30 sierpnia 2002 r. o systemie oceny zgodności (tekst jednolity Dz. U. z 2010 r. nr 138, poz. 935)
7. PN-EN ISO 4254-1:2009+AC:2010 Maszyny rolnicze – Bezpieczeństwo – Część 1: Wymagania ogólne
8. PN-EN ISO 11201:2010 Akustyka – Hałas emitowany przez maszyny i urządzenia – Pomiar poziomów ciśnienia akustycznego emisji na stanowisku pracy i w innych określonych miejscach w warunkach zbliżonych do pola swobodnego nad płaszczyzną odbijającą dźwięk, z pomijalnymi poprawkami środowiskowymi (wyd. grudzień 2010)
9. PN-EN ISO 11202:2010 Akustyka – Hałas emitowany przez maszyny i urządzenia – Pomiar poziomów ciśnienia akustycznego emisji na stanowisku pracy i w innych określonych miejscach z zastosowaniem przybliżonych poprawek środowiskowych
10. PN-N-01307:1994 Hałas – Dopuszczalne wartości hałasu w środowisku pracy – Wymagania dotyczące wykonywania pomiarów

Ryszard Dobrowolski<sup>1</sup>, Waldemar Korol<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Uniwersytet Marii Skłodowskiej-Curie w Lublinie,  
Wydział Chemii

<sup>2</sup>Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy  
Krajowe Laboratorium Pasz w Lublinie

## Odporność – ważna cecha metody badawczej

*Scharakteryzowano odporność metody (robustness, ruggedness) jako jej cechę, która powinna być uwzględniona w badaniach walidacyjnych. Odporność określa wpływ niewielkich zmian warunków postępowania analitycznego (parametrów metody) na wynik końcowy badania. Miarą odporności metody jest do pewnego stopnia jej odtwarzalność, którą możemy określić w badaniach międzylaboratoryjnych i ocenić stosując doświadczalne równania Horwitz'a. W przypadku walidacji metody w laboratorium (in house) zaleca się badanie odporności wg schematu Youdena, przyjętego przez AOAC. Przedstawiono plan badania odporności metody i sposób statystycznego opracowania wyników. Podano przykłady badania odporności oznaczania kadmu w glebie metodą GFAAS i oznaczania chlorków w paszach metodą miareczkową z amperometryczną detekcją punktu końcowego. Badanie odporności jest szczególnie zalecane przy wdrażaniu elastycznego zakresu metody.*

### 1. WPROWADZENIE

Odporność metody badawczej (ang. *robustness, ruggedness*) jest cechą metody, którą możemy określić badając wpływ niewielkich zmian warunków postępowania analitycznego (parametrów postępowania analitycznego) na końcowy wynik oznaczania. Rzeczywisty tok postępowania może się różnić od zapisanego w procedurze. Zmiany te są zwykle niewielkie i niezamierzone i dotyczą np. takich parametrów metody jak temperatura mineralizacji lub spalania, czas mineralizacji, zmiany pH, czas tworzenia barwy w metodach kolorymetrycznych itp.

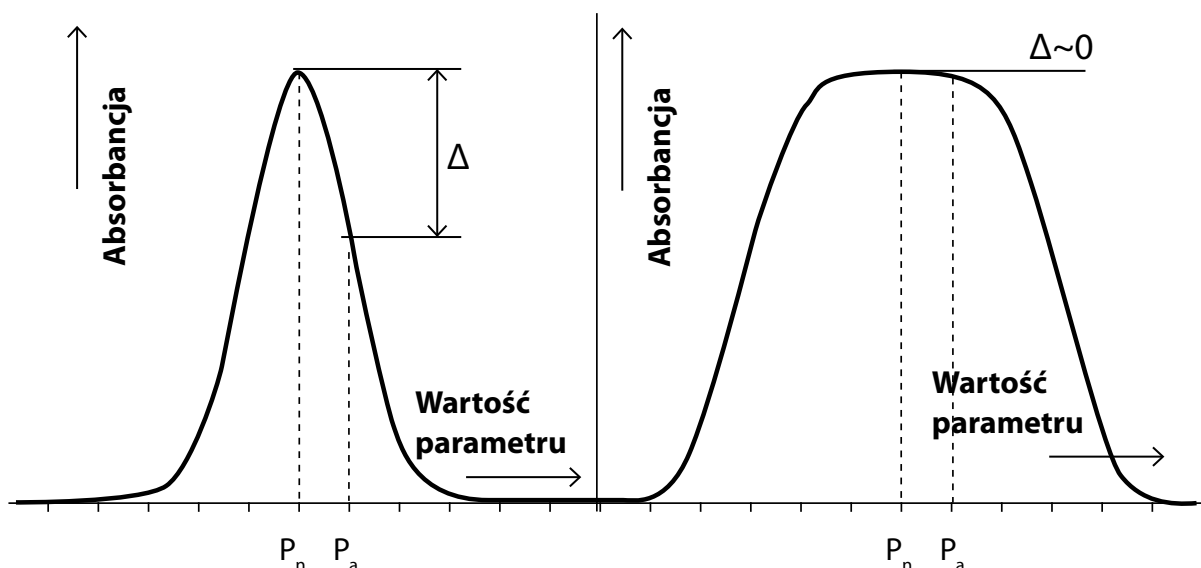
Metodę uważa się za odporną jeżeli niewielkie zmiany warunków postępowania analitycznego nie wpływają na końcowy wynik badania. Z drugiej strony, jeżeli niewielkie zmiany warunków oznaczania wpływają na końcowy wynik, metodę uznaje się za nieodporną. W rzeczywistości to warunki (czynniki) metody analitycznej są mniej lub bardziej odporne na niewielkie zmiany w aspekcie wpływu na końcowy wynik oznaczania. Poznanie wpływu zmian tych parametrów podczas walidacji metody na wynik badania pozwala lepiej poznać metodę i określić jej parametry krytyczne.

Graficzny obraz odporności metody podano na rys. 1. W przypadku nieodpornego parametru niewielkie jego zmiany ( $P_n - P_a$ ) powodują znaczące obniżenie absorbancji ( $\Delta$ ). Gdy parametr jest odporny, zmiany ( $P_n - P_a$ ) pozostają bez wpływu na wartość absorbancji ( $\Delta$ ). Jest wskazane aby użytkownik metody (laborant) znał granice zmienności (tolerancji) danego parametru postępowania analitycznego w przedziale których metodę można uznać za odporną.

Odporność metody powinna być sprawdzana podczas badania charakterystyki metody, zwłaszcza w przypadku metod opracowanych i walidowanych w laboratorium (in house). Podczas badania odporności należy określić te parametry metody badawczej, które powinny być w sposób ścisły przestrzegane (parametry nieodporne) ale także parametry w przypadku których niewielkie ich zmiany nie wpływają w sposób istotny na wynik oznaczenia (parametry odporne).

Zgodnie z definicją, ocena odporności metody polega na sprawdzeniu wpływu niewielkich zmian wybranych czynników (parametrów) na wynik pomiaru. Schemat takiego postępowania przedstawiał Youden. To postępowanie zostało przyjęte przez AOAC i jest zalecane do badania odporności [1]. W ostatnich latach ukazało się wiele publikacji prezentujących różne podejścia do oceny statystycznej badania odporności metody w zależności od rodzaju metod badawczych. Przewodnik oceny odporności metod badawczych stosowanych w biochemii i farmacji podczas ich walidacji opracował Heyden i wsp. [4]. Przewodnik podaje algorytm Donga, stosowany m.in. podczas walidacji metody badania zanieczyszczeń nierozpuszczalnych w tłuszczach [11]. Przegląd badania odporności metod chromatograficznych opracowali Dejaegher i Heyden [2]. Schemat walidacji metody uwzględniający badanie jej odporności w dziedzinie nauk medycznych zaproponowali Frey i Xiang Li [3].

Celem referatu jest wskazanie odporności jako cechy metody badawczej, którą należy uwzględnić podczas sprawdzania lub walidacji metody. Podano sposób oceny odporności metody i przykłady badania odporności przy oznaczaniu kadmu w glebie metodą GFAAS i chlorków w paszach metodą amperometrycznego miareczkowania



**Rysunek 1:** Graficzny obraz odporności metody badawczej

## 2. OCENA ODPORNOŚCI METODY BADAWCZEJ

Miarą odporności metody jest w pewnym stopniu jej odtwarzalność, którą możemy określić w badaniach międzylaboratoryjnych. Powszechnie akceptowane kryteria prowadzenia badań międzylaboratoryjnych określił Horwitz [5]. W takich badaniach liczba laboratoriów uczestniczących ( $\geq 8$ ) i liczba badanych matryc ( $\geq 6$ ) powinna być dostatecznie duża. Kryterium oceny badań międzylaboratoryjnych jest wskaźnik Horrat H tj. stosunek względnego odchylenia standardowego odtwarzalności uzyskanego w badaniach międzylaboratoryjnych do względnego docelowego odchylenia standardowego odtwarzalności obliczonego z równania Horwitz'a  $RSD_R = 2 \cdot c^{-0,15}$ , w którym  $RSD_R$  oznacza względne docelowe odchylenie standardowe odtwarzalności (%) a  $c$  jest niemianowanym ułamkiem masy, np. 1 ppm =  $10^{-6}$  [6]. Akceptowane wartości wskaźnika H mieszczą się w przedziale  $0,5 < H < 2$ . Kryteria prowadzenia badań międzylaboratoryjnych wg Horwitz'a i wskaźnik H są powszechnie stosowane w ocenie precyzji metod, które następnie są przedmiotem norm europejskich i międzynarodowych CEN i ISO. Jednak uczestnictwo w badaniach międzylaboratoryjnych nie jest powszechne i tylko wybrane laboratoria, często po ocenie wyników fazy wstępnej, mogą uczestniczyć w takich badaniach.

W przypadku walidacji metody w laboratorium (*in house*) Thompson i wsp. [9] zalecają sprawdzanie odporności w sposób opisany przez Youdena i przedstawiony w podręczniku statystycznej oceny metod wg AOAC [1]. W zaplanowanym eksperymencie zmieniane są wybrane parametry (czynniki) metody a następnie oceniany jest wpływ tych zmian na wynik oznaczania. Statystyczną ocenę odporności metody można przeprowadzić wykonując testy istotności, polegające na wykrywaniu istotnych różnic pomiędzy wariancjami i wartościami średnimi serii pomiarowych dla nieznacznie różniących się warunków postępowania analitycznego i parametrów pomiaru. W przypadku stosowania certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) w badaniu odporności metody, można przeprowadzić porównanie wartości średniej próbki z wartością przypisaną CRM. Do porównania uzyskanych wyników i stwierdzenia istotności różnic można zastosować test porównania wartości średnich i wariancji [7]. Stwierdzenie istotności różnic pomiędzy wartościami średnimi oznacza występowanie błędu systematycznego i małą (niską) odporność metody w badanym zakresie. W takim przypadku nieodporny parametr metody powinien być dodatkowo podkreślony, stosując określenie „dokładnie”, „ściśle” a najlepiej z podaniem dopuszczalnych granic zmienności (np. temperatura  $25^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ). Gdy nie zostanie potwierdzona istotność różnic pomiędzy wariancjami i średnimi serii pomiarów, będzie to oznaczało, że badane czynniki (zmiennne) mają nieistotny wpływ na wynik analizy i odporność metody w ocenianym zakresie. W tabeli 1 zamieszczono plan badań odporności metody wg Youdena [1]

Dużymi literami A, B, C ... i G oznakowano zalecane w procedurze wartości czynników (np. temperatura mineralizacji, czas mineralizacji, objętość kwasu do mineralizacji), które mogą wpływać na wynik badania i które nieznacznie zmieniano. Alternatywne wartości zmienionych czynników oznakowano małymi literami a, b, c... i g. Całkowita liczba kombinacji wynosi  $2^7$  tj. 128 i w praktyce jest trudna do sprawdzenia. Możliwe jest jednak wybranie 8 kombinacji, które odpowiednio równoważą wysokie i niskie wartości badanych czynników. Wyniki tych kombinacji oznakowano w tabeli literami od s do z. Aby sprawdzić czy zmiana czynnika A na a wywiera wpływ na wynik należy porównać średnią  $(s + t + u + v)/4$  ze średnią  $(w + x + y + z)/4$ . Odpowiednio, badając wpływ zmiany czynnika G na g należy porównać średnie  $(s + v + x + y)/4$  i  $(t + u + w + z)/4$  (tab. 1). Poniżej przedstawiono przykłady badania odporności metod.

**Tabela 1:** Plan badań odporności metody. Przykład ośmiu kombinacji i siedmiu czynników zastosowanych do badania odporności metody analitycznej [1]

Czynnik	Nr kombinacji lub oznaczenia							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A lub a	A	A	A	A	a	a	a	a
B lub b	B	B	B	b	B	B	b	B
C lub c	C	c	C	c	C	c	C	c
D lub d	D	D	D	d	d	d	D	D
E lub e	E	e	E	e	e	E	e	E
F lub f	F	f	F	F	F	f	f	F
G lub g	G	g	G	G	g	G	G	g
Wynik	s	t	U	v	w	x	y	z

**PRZYKŁAD 1: BADANIE ODPORNOŚCI METODY GFAAS OZNACZANIA KADMU W GLEBIE**

Poniżej przedstawiono przykład badania odporności przy oznaczaniu kadmu w glebach metodą GFAAS po mineralizacji „na mokro” w kwasie azotowym i fluorowodorowym z wykorzystaniem mikrofal. W Tabeli 2 podano czynniki, które zmieniano w celu sprawdzenia odporności metody. Zmiany tych czynników były z reguły niewielkie, około 10% wartości nominalnej (dla temperatury, objętości  $\text{HNO}_3$ , objętości HF). W przypadku czasu mineralizacji parametr ten zwiększono dwukrotnie (100%). Wpływ zmiennych czynników na pomiar absorbancji (stała odważka analityczna, stała objętość roztworu po mineralizacji) podano w Tabeli 2.

**Tabela 2:** Badanie odporności metody oznaczania kadmu w glebie

Czynnik*	Nr kombinacji lub oznaczenia							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A: temperatura	A	A	A	A	a	a	a	A
B: czas mineral	B	B	B	b	B	B	b	B
C: obj. $\text{HNO}_3$	C	c	C	c	C	c	C	C
D: obj. HF	D	D	D	d	d	d	D	D
E: symulacja	E	e	E	e	e	E	e	E
F: symulacja	F	f	F	F	F	f	f	F
G: symulacja	G	g	G	G	g	G	G	G
Wynik	s	t	U	v	w	x	y	z
Absorbancja	0,475	0,480	0,485	0,481	0,479	0,470	0,477	0,478

\* temperatura: A – 180°C, a – 200°C; czas mineralizacji B – 30 min, b – 60 min; objętość  $\text{HNO}_3$  C- 5 ml, c – 5,5 ml; objętość HF D – 5 ml, d – 5,5 ml

Ocenę wpływu zamian poszczególnych czynników na wyniki przedstawiono w Tabeli 3. Parametry oceny obliczono zgodnie ze schematem badania odporności wg AOAC [1]. Wyniki oceny wskazywały, że wszystkie badane czynniki w granicach założonej zmienności nie wpłynęły na pomiar absorbancji i na końcowy wynik oznaczenia. W konkluzji można stwierdzić, że metoda charakteryzowała się zadowalającą odpornością dla analizowanych czynników.

**Tabela 3:** Badanie odporności metody oznaczania kadmu w glebie. Ocena wpływu poszczególnych czynników na wynik oznaczenia.

Równanie		Czynnik	Odporność
$V_A = \frac{1}{4} (s + t + u + v) - \frac{1}{4} (w + x + y + z)$	$V_A = 0,00425$	Temperatura	Tak
$V_B = \frac{1}{4} (s + t + w + x) - \frac{1}{4} (u + v + y + z)$	$V_B = -0,0043$	Czas	Tak
$V_C = \frac{1}{4} (s + u + w + y) - \frac{1}{4} (t + v + x + z)$	$V_C = 0,00175$	Obj.	Tak
$V_D = \frac{1}{4} (s + t + y + z) - \frac{1}{4} (u + v + w + x)$	$V_D = -0,0012$	Obj.	Tak
$V_E = \frac{1}{4} (s + u + x + z) - \frac{1}{4} (t + v + w + y)$	$V_E = -0,0022$	Symulacja	Tak
$V_F = \frac{1}{4} (s + v + w + z) - \frac{1}{4} (t + u + x + y)$	$V_F = 0,00025$	Symulacja	Tak
$V_G = \frac{1}{4} (s + v + x + y) - \frac{1}{4} (t + u + w + z)$	$V_G = -0,0047$	Symulacja	Tak

## PRZYKŁAD 2: BADANIA ODPORNOŚCI METODY OZNACZANIA CHLORKÓW W PASZY METODĄ AMPEROMETRYCZNEGO MIARECZKOWANIA

Kolejny przykład dotyczy badania odporności metody oznaczania w paszach chlorków rozpuszczalnych w wodzie metodą miareczkową z amperometrycznym wyznaczeniem punktu końcowego miareczkowania [8]. W Tabeli 4 podano czynniki, które zmieniono o 25% w badaniu odporności: czas ekstrakcji chlorków, objętość ekstraktu o objętość kwasu azotowego o stężeniu 5 mol/L. Wprowadzono również czynnik zmienności matrycy, tj. natłuszczenie badanej mieszanki paszowej tłuszczem w ilości 4,9%. Wprawdzie zmiany matrycy wykraczają poza zdefiniowane powyżej czynniki zmienności w badaniu odporności metody, jednak ze względów praktycznych (natłuszczone pasze są często oferowane na rynku) wprowadzenia takiego czynnika było uzasadnione. Wpływ zmiennych czynników na zawartość chlorków w paszach podano w Tabeli 4 (w przypadku badania paszy natłuszczonej, wyniki przeliczono na zawartość chlorków w mieszance paszowej nie natłuszczonej aby zachować jednako- we warunki do porównania wpływu zmian czynników na wynik).

**Tabela 4:** Badanie odporności metody oznaczania chlorków w paszach, g/kg

Czynnik*	Nr kombinacji lub oznaczenia							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A: tłuszcz	A(6,83)	A(6,76)	A(6,69)	A(6,93)	a(6,93)	a(6,88)	a(7,03)	a(7,11)
B: czas ekstr.	B(6,61)	B(6,85)	b(6,60)	b(6,81)	B(7,14)	B(6,94)	b(6,73)	b(6,81)
C: obj. ekstr.	C(6,88)	c(6,94)	C(6,80)	c(6,82)	C(6,89)	c(6,72)	C(6,88)	c(6,86)
D: obj. HNO <sub>3</sub>	D(6,92)	D(6,76)	d(6,75)	d(6,79)	d(6,63)	d(6,76)	D(6,90)	D(6,77)
Wynik	s	t	U	v	w	x	y	z
Zawartość, g/kg	6,81	6,83	6,71	6,84	6,89	6,82	6,88	6,89

\* tłuszcz w paszy A – bez dodatku tłuszczu, a z dodatkiem 4,9% tłuszczu; czas ekstrakcji chlorków B – 2 min, b – 2,5 min; objętość ekstraktu C – 100 ml, c – 125 ml; objętość HNO<sub>3</sub> D – 2 ml, d – 2,5 ml

Ocenę wpływu zmian poszczególnych czynników na wyniki przedstawiono w Tabeli 5. Parametry oceny obliczono zgodnie ze schematem badania odporności wg AOAC [1]. Wyniki oceny wskazywały, że wszystkie badane czynniki w granicach założonej zmienności nie wpłynęły na zawartość chlorków w badanej paszy. Można zatem stwierdzić, że metoda charakteryzowała się zadowalającą odpornością w ramach analizowanych czynników.

**Tabela 5:** Badanie odporności metody oznaczania chlorków w paszach

Równanie		Czynnik	Odporność
$V_A = \frac{1}{4} (s + t + u + v) - \frac{1}{4} (w + x + y + z)$	$V_A = -0,1850$	Temperatura	Tak
$V_B = \frac{1}{4} (s + t + w + x) - \frac{1}{4} (u + v + y + z)$	$V_B = 0,147$	Czas	Tak
$V_C = \frac{1}{4} (s + u + w + y) - \frac{1}{4} (t + v + x + z)$	$V_C = 0,0275$	Obj.	Tak
$V_D = \frac{1}{4} (s + t + y + z) - \frac{1}{4} (u + v + w + x)$	$V_D = 0,1100$	Obj.	Tak

### 3. PODSUMOWANIE

Ocena odporności metody i znajomość wyników takiej oceny pozwala na lepsze poznanie i zrozumienie czynników, które mogą wpływać na końcowy wynik badania. Wiedza w tym zakresie pozwala na lepszą kontrolę metody ponieważ znamy granice tolerancji parametrów metody w obrębie których uzyskujemy poprawne wyniki. Badanie odporności metody może być szczególnie zalecane i przydatne przy wdrażaniu elastycznego zakresu metody zwłaszcza w przypadku gdy uwzględnimy zmienność matrycy. Wprawdzie zmienność matrycy nie jest czynnikiem wynikającym bezpośrednio z definicji odporności metody jednak, w przypadku wytwarzanych aktualnie produktów takich jak środki farmaceutyczne, żywność, pasze zmienność matrycy jest wręcz regułą i wynika z dążenia do zaspokojenia potrzeb konsumenta a nawet kreuje te potrzeby. Dlatego laboratorium powinno być jak najlepiej przygotowane do badania analitu w zmieniającej się matrycy a wykazanie kompetencji w tym zakresie jest zwykle pozytywnie oceniane przez klientów.

Badanie odporności metody podczas walidacji nie powinno wpływać zasadniczo na czas walidacji i związane z tym koszty. Wykonane pomiary można wykorzystać do oceny precyzji metody. Ponadto znajomość wpływu zmiennych czynników na wynik badania można wykorzystać do budowy budżetu niepewności metody.

### 4. LITERATURA

- [1] AOAC peer-verified methods program. Manual on policies and procedures. AOAC International 1998, pp.1-35
- [2] Dejaegher B., Heyden Y.V.: Ruggedness and robustness testing. J. Chromatogr. A 1157, 2007, 138-157
- [3] Frey D.D., Xiang Li: Validating robust-parameters-design methods. Proceeding of Desing Engineering Technical Conferences and Computers and Information in Engineering Conference, September 28 – October 2, 2004, Salt Lake City, Utah, USA, pp. 1-13
- [4] Heyden Y.V., Nijhuis A., Smeyers-Verbeke J., vandeginste B.G.M., Massart D.L.: Guidance for robustness / ruggedness tests in method validation. J. Pharm. Biomed. Anal. 24, 2001, 723-753
- [5] Horwitz, W.: Protocol for design, conduct and interpretation of method performance studium. Pure Appl. Chem. 76, 1995, 331-343.
- [6] Horwitz W., Albert R.: The Horwitz Ratio (HorRat). A useful index of method performance with respect to precision. J AOAC International 89, 2006, 1095-1109.
- [7] Hyk W., Stojek Z.: Analiza statystyczna w laboratorium analitycznym. UW Warszawa 2010
- [8] Korol W., Matyka S.: Biamperometryczna metoda oznaczania chlorków w paszach. Chem. Anal. 27, 1982, 323-326

- [9] Thompson M., Ellison S.L.R., Wood R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. *Pure Appl. Chem.* 74, 2002, 835-855
- [10] Taverniers I., De Loose M., Bockstaele E.V. Trends in quality in the analytical laboratory. II Analytical method validation and quality assurance. *Trends Anal. Chem.* 23(8), 2004, 535-552
- [11] Zasadny R., Kwiatek K.: Validation study of a New procedure for measuring insoluble impurities in animal FAT. *J. Anim. Feed Sci.* 15, 2006, 337-344



Tomasz Henryk Schweitzer  
**Polski Komitet Normalizacyjny**  
**Warszawa**

## Działania PKN na rzecz zainteresowanych normalizacją



[www.pkn.pl](http://www.pkn.pl)

## **Działania PKN na rzecz zainteresowanych normalizacją**

## CZYM JEST NORMA?

**Norma jest dokumentem:**

- opisującym sprawdzony stan wiedzy technicznej, opisem aktualnego poziomu światowego (regionalnego, krajowego) w danej dziedzinie
- przeznaczonym do dobrowolnego stosowania
- służącym ułatwieniu i uproszczeniu przepływu towarów i usług pomiędzy rynkami
- mogącym stanowić podstawę porozumienia sfery gospodarczej, rządowej i społecznej w spełnieniu określonych warunków bezpieczeństwa i jakości wyrobów i usług
- chronionym prawem autorskim, tak jak filmy, muzyka, programy komputerowe lub utwory literackie
- nie będącym informacją publiczną

## CZYM JEST POLSKI KOMITET NORMALIZACYJNY?



rys. Waldemar  
Wroński

# ZADANIA POLSKIEGO KOMITETU NORMALIZACYJNEGO

**W systemie dobrowolnym jednostka normalizacyjna:**

- Organizuje prace Komitetów Technicznych
- Nadzoruje działalność KT pod kątem zgodności z zasadami normalizacji dobrowolnej
- Na wniosek KT nadaje dokumentom status Polskich Norm, jeśli przy ich opracowywaniu zachowano te zasady
- Na wniosek KT stwierdza, że PN utraciła aktualność (wycofanie PN)
- Umożliwia udział KT w pracach regionalnych i międzynarodowych organizacji
- Publikuje i rozpowszechnia PN

## KTO TWORZY NORMY?

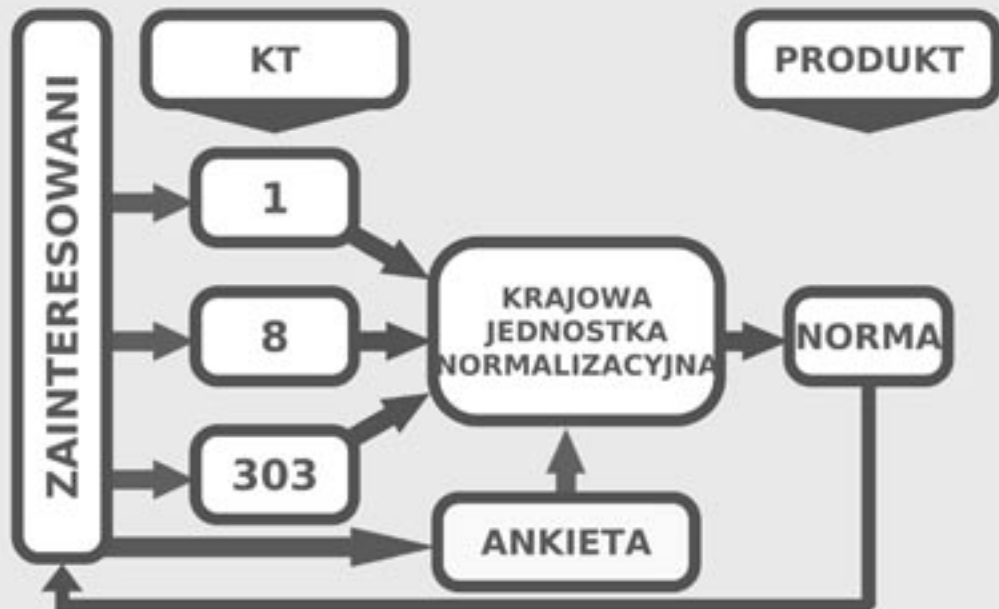
**W systemie dobrowolnym (społecznym):**

- Normy tworzą zainteresowani na własne potrzeby i z własnych środków, a udział podmiotów w normalizacji jest dobrowolny
- Treść norm jest ustalana zgodnie z zasadą konsensu
- Normy są opracowywane przez Komitety Techniczne (KT)



rys. Waldemar  
Wroński

# SYSTEM NORMALIZACYJNY



## KORZYŚCI ZE STOSOWANIA NORM I CZYNNEGO UDZIAŁU W NORMALIZACJI

Kupując normę nabywca:

- uzyskuje legalny dostęp do nowoczesnych rozwiązań, zgodnych z aktualnym poziomem światowym
- nie musi ponosić kosztów badań naukowych i kosztów opracowywania normy
- zyskuje możliwość wykorzystania faktu stosowania normy jako narzędzia marketingowego

## **KORZYŚCI ZE STOSOWANIA NORM I CZYNNEGO UDZIAŁU W NORMALIZACJI**

**Czynnie uczestnicząc w normalizacji przedsiębiorstwo:**

- **zyskuje przewagę konkurencyjną**
- **ma ułatwiony dostęp do informacji „z rynku”**
- **stale poszerza swoje kontakty biznesowe**



rys. Waldemar  
Wroński

## **KORZYŚCI ZE STOSOWANIA NORM I CZYNNEGO UDZIAŁU W NORMALIZACJI**

**Uczestnicząc w normalizacji dobrowolnej  
administracja państwowa:**

- **może ograniczyć tworzenie przepisów na rzecz mechanizmów samoregulacji**
- **zmniejsza koszty procesu legislacji**
- **otrzymuje narzędzie kontroli jakości i bezpieczeństwa wyrobów i usług**

## **KORZYŚCI ZE STOSOWANIA NORM I CZYNNEGO UDZIAŁU W NORMALIZACJI**

**Kupując towary i usługi wykonane zgodnie z normami konsument:**

- **zyskuje pewność wysokiej jakości i bezpieczeństwa nabywanych dóbr**
- **staje się świadomym, ale wymagającym nabywcą**
- **minimalizuje ryzyko w swoim otoczeniu**

## **NORMALIZACJA EUROPEJSKA**

- **Wszystkie organizacje członkowskie CEN i CENELEC (w tym PKN) uczestniczą w procesie powstawania Norm Europejskich**
- **Polska Norma w większości przypadków powstaje nie w kraju członkowskim, ale „w Brukseli”**
- **Każdy członek CEN i CENELEC jest zobowiązany wprowadzić wszystkie Normy Europejskie i wycofać wszystkie sprzeczne z nimi dokumenty krajowe**  
*(obowiązek wprowadzania nie oznacza obowiązku stosowania)*
- **Wprowadzenie musi nastąpić w określonym terminie**

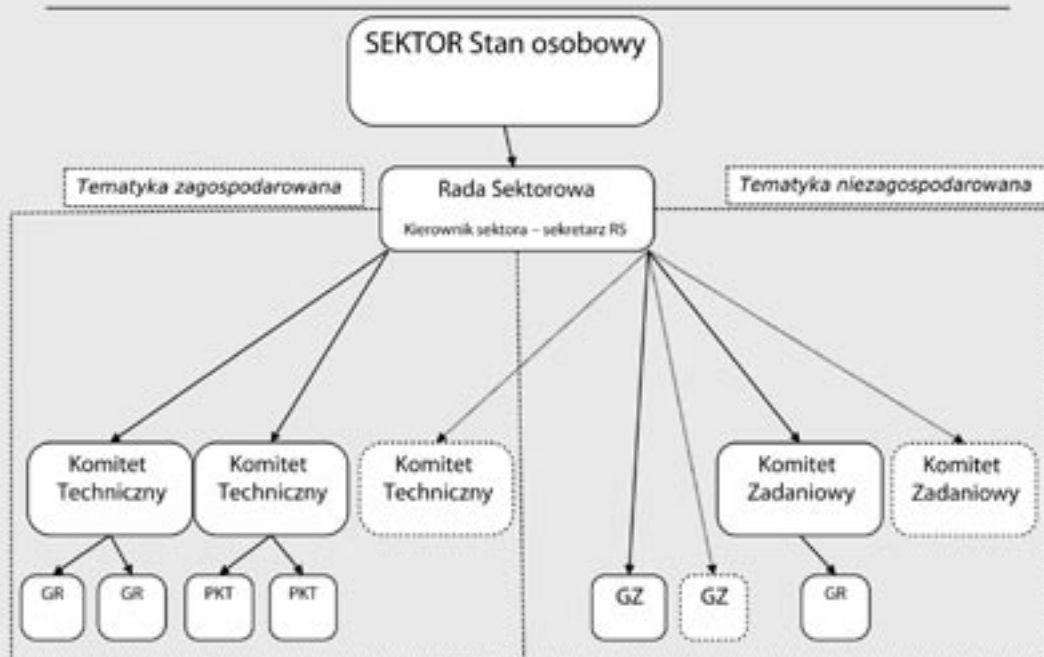
# NORMALIZACJA EUROPEJSKA



# NORMALIZACJA EUROPEJSKA



rys. Waldemar  
Wroński



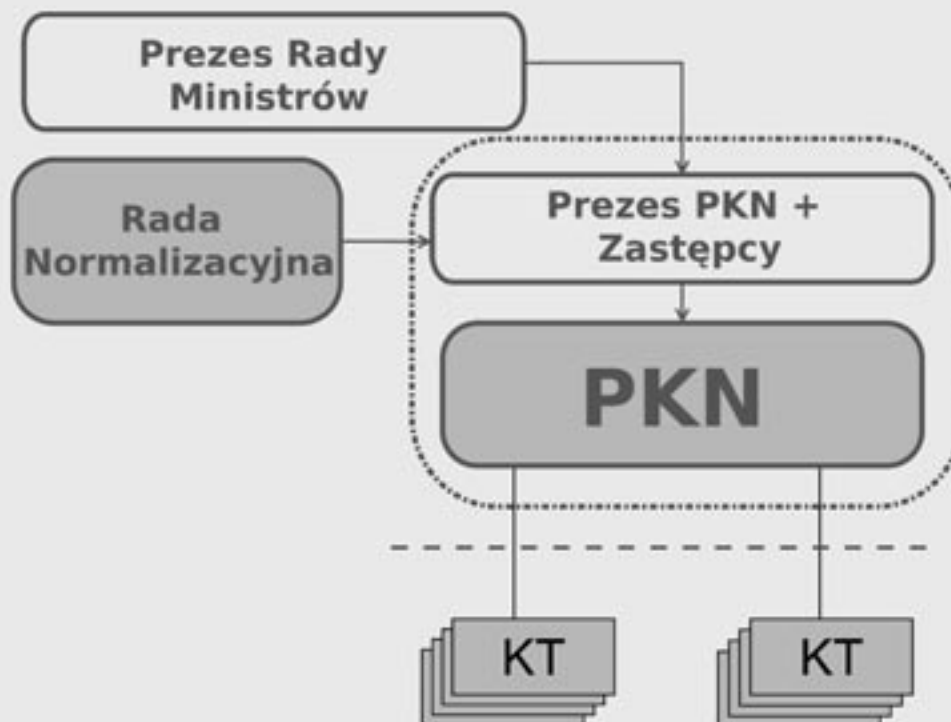
## Sektory

- **Elektronika**
- **Budownictwo i Konstrukcje budowlane**
- **Chemia**
- **Elektryka**
- **Elektrotechnika**
- **Górnictwo**
- **Hutnictwo**
- **Produkty Powszechnego Użytku**
- **Logistyka, Transport, Pakowanie**
- **Maszyny i Inżynieria**
- **Nanotechnologie i Innowacje**
- **Obronność i Bezpieczeństwo Powszechne**
- **Zagadnienia Podstawowe i Systemy Zarządzania**
- **Żywność, Rolnictwo i Leśnictwo**
- **Techniki Informacyjne i Komunikacja**
- **Usługi**
- **Zdrowie, Środowisko i Medycyna**

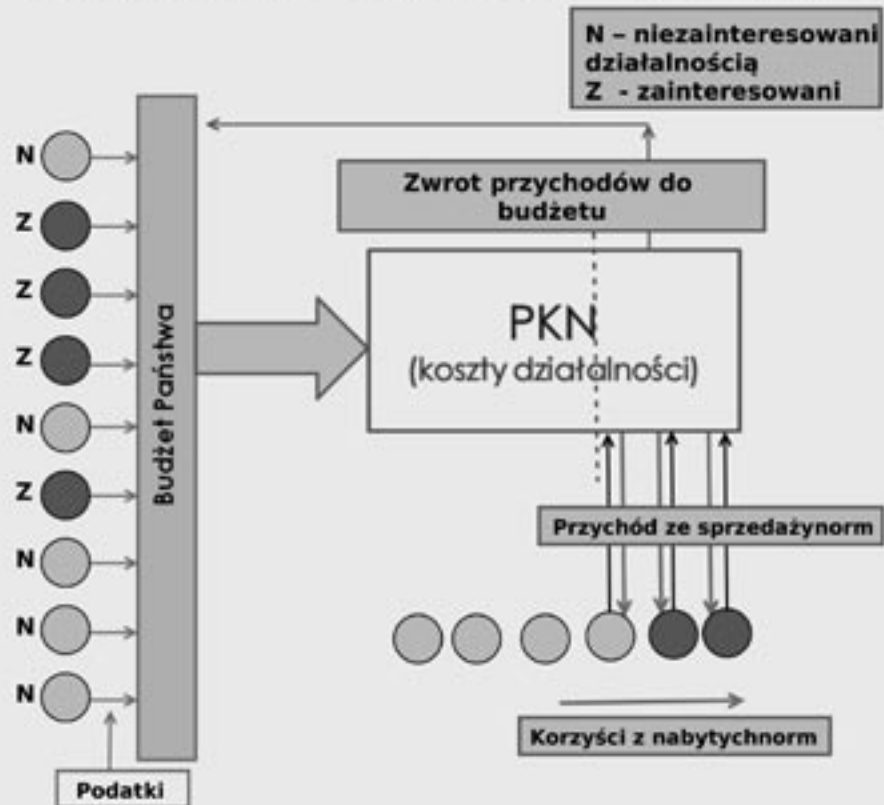
## NOWE NARZĘDZIA IT w 2011



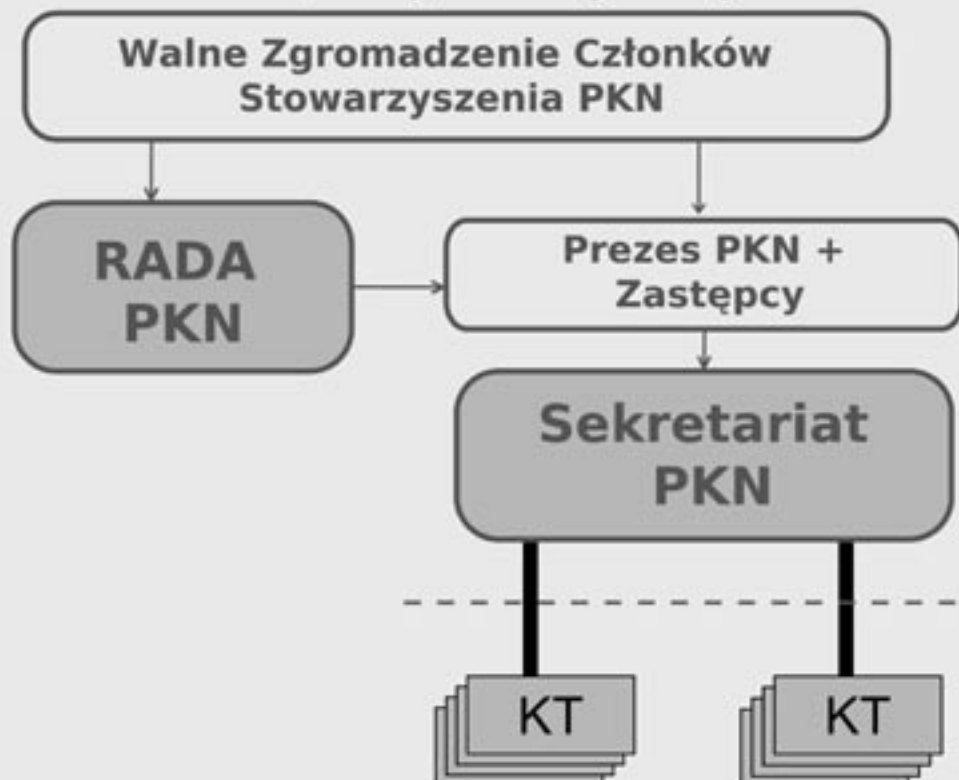
## Struktura obecnego systemu



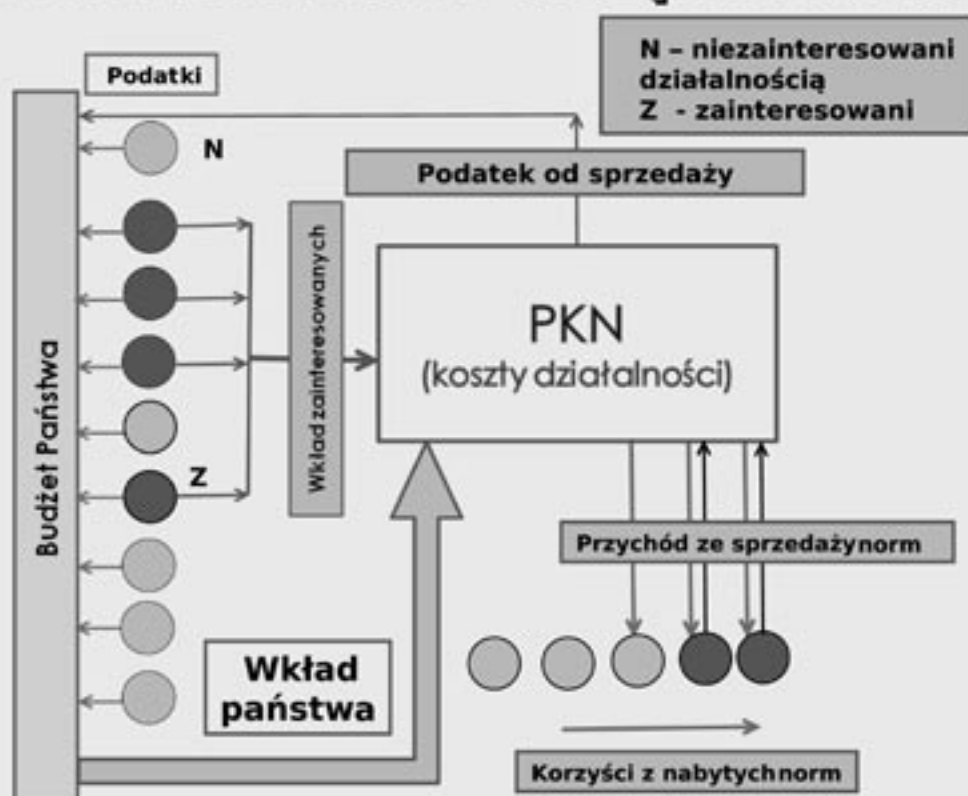
## Finansowanie pośrednie



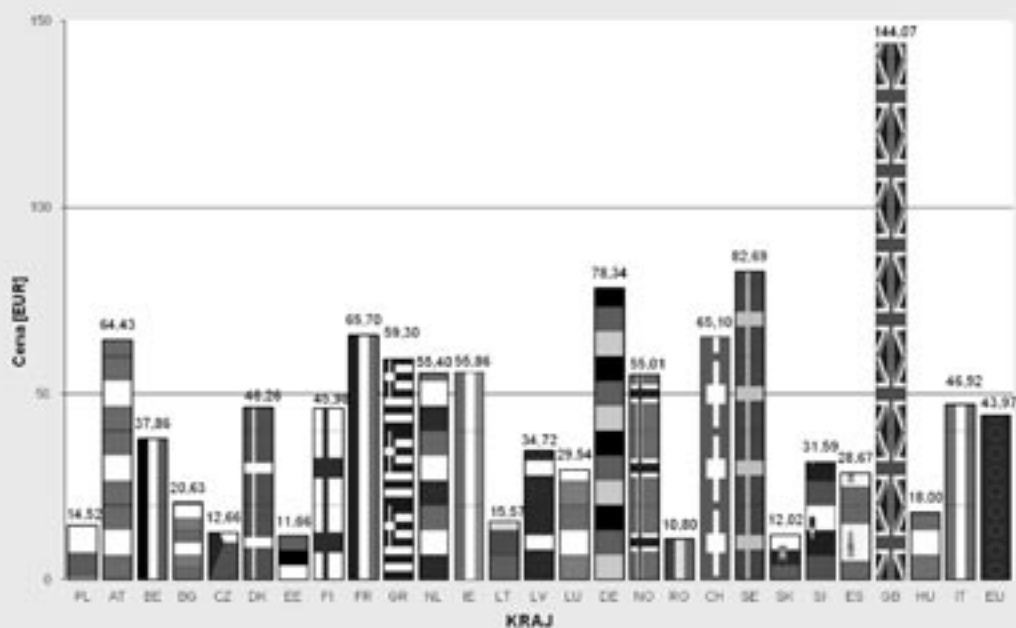
## Struktura przyszłego systemu



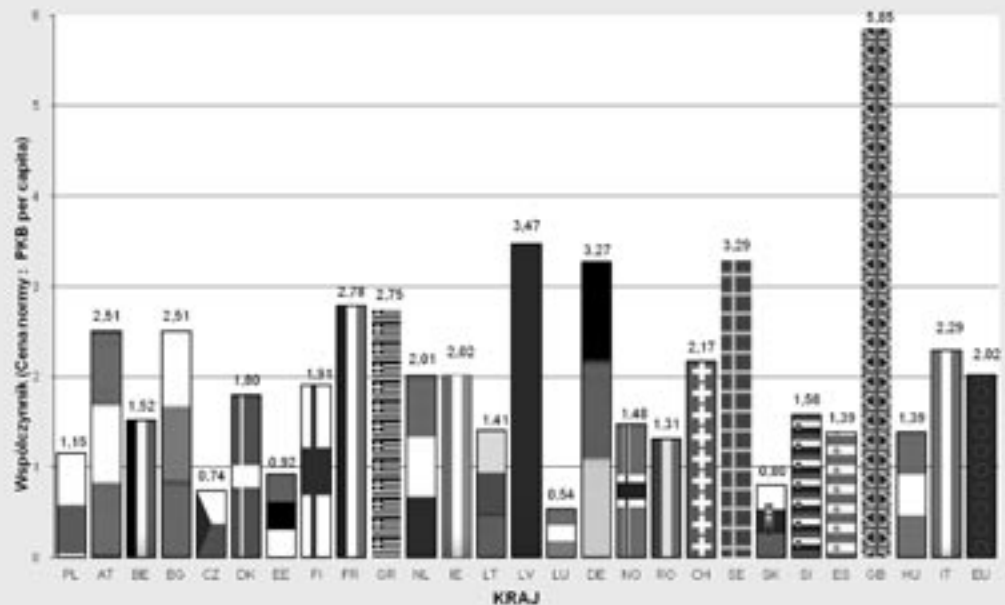
# Finansowanie bezpośrednie



Średnia cena normy przy średniej liczbie stron (29)



Cena normy w porównaniu z PKB per capita



## PODSUMOWANIE

- Normy tworzą zainteresowani na własne potrzeby i z własnych środków
- Czynny udział w procesie normalizacji pozwala bezpośrednio wpływać na treść norm
- PKN organizuje i nadzoruje prace normalizacyjne
- Struktura PKN jest przygotowana do realizacji zadań z różnych zakresów tematycznych i interdyscyplinarnych.
- PKN jest otwarty na wszelkie inicjatywy środowisk
- Zmiana statusu prawnego PKN na stowarzyszenie jest konieczna











**Sekretariat Klubu**  
**ul. Kłobucka 23 A**  
**02-699 Warszawa**  
**[www.pollab.pl](http://www.pollab.pl)**  
**e-mail: [sekretariat@pollab.pl](mailto:sekretariat@pollab.pl)**  
**tel.: 22 464 55 03**  
**faks: 22 464 55 56**