



Sixth
Framework
Programme

SWIFT-WFD

Screening methods for Water data InFormaTion in support of the implementation of the Water Framework Directive

Scientific Support to Policy

Contract n° SSPI-CT-2003-502492

Operative commencement date of the project : January 1st 2004

Final date of the project : December 2006

QUACHA TRAINING COURSE BOOK

QUALITY ASSURANCE FOR CHEMICAL ANALYSIS

**Prepared by Elizabeth PRICHARD (LGC)
in conjunction with Members of project PL 96-5206**

CZECH TRANSLATION

**By Ivan KORUNA
National GLP Monitoring Authority, Prague**

Obsah

1 Cíl vzdělávacího kursu	5
1.1 Proč je analytická činnost zapotřebí	5
1.2 Sociální a ekonomické dopady chybných analýz	5
1.3 Co si představujeme pod pojmem jakost	7
1.4 Směrnice a aktivity Evropské komise	7
1.4.1 Směrnice Evropské komise vztahující se k jakosti měření	8
1.5 Požadavky zákazníka a analytik	9
1.6 Účel analýzy	11
2 Obecné principy QA/QC	13
2.1 Úvod do prokazování jakosti	13
2.2 Systémy jakosti, řízení jakosti a prokazování jakosti	13
2.3 Užitek z řádných dat	14
3 Postupy prokazování jakosti při odběru vzorků a při nakládání se vzorky	17
3.1 Úvod	17
3.2 Definice vzorkování	17
3.3 Typy vzorků	18
3.3.1 Reprezentativní vzorek	18
3.3.2 Selektivní vzorek	19
3.3.3 Náhodný výběr	19
3.3.4 Směsný vzorek	19
3.4 Strategie vzorkování	19
3.4.1 Zákonné a právní požadavky	20
3.4.2 Vzorkovací schémata	21
3.5 Parametry vzorkování	22
3.5.1 Požadovaná přiměřenost vzorků k analýze	22
3.5.2 Nejistota vzorkování	23
3.5.3 Počet primárních vzorků	23
3.5.4 Dílčí vzorky	24
3.5.5 Postupy odběru dílčích vzorků	25
3.6 Stabilita vzorku	25
3.7 Manipulace se vzorkem	26
3.8 Předběžná úprava vzorku	30
3.9 Literatura	32
4 Příprava k analýze	33
4.1 Volba postupu	33
4.1.1 Zdroje metod	33
4.1.2 Faktory rozhodující o výběru postupu	35
4.1.2.1 Mez detekce	35
4.1.2.2 Správnost	36
4.1.2.3 Přesnost	37
4.1.2.4 Rychlost	37

4.1.2.5	Potřebné vybavení	37
4.1.2.6	Velikost vzorku	38
4.1.2.7	Náklady	38
4.1.2.8	Bezpečnost	38
4.1.2.9	Specifičnost	39
4.1.2.10	Vaše volba	39
4.2	Výkonnostní kritéria postupů, používaných ke stanovení koncentrací analytů v komplexních maticích	40
4.3	Co se může pokazit?	42
4.3.1	Klasické metody	42
4.3.2	Instrumentální techniky	43
4.4	Volba vybavení a spotřebních materiálů	44
4.4.1	Prostředí	44
4.4.1.1	Faktory ovlivňující kvalitu	44
4.4.1.2	Projekt laboratoře	44
4.4.1.3	Umístění přístrojů	44
4.4.1.4	Monitorování změn	45
4.4.2	Zařízení a nádobí	45
4.4.2.1	Výběr	45
4.4.2.2	Funkční podmínky	46
4.4.2.3	Čištění	46
4.4.2.4	Sušení	47
4.4.3	Chemikálie a spotřební materiál	47
4.4.3.1	Stupeň čistoty	48
4.4.3.2	Značení	48
4.4.3.3	Přípravy	49
4.4.3.4	Manipulace	50
4.4.3.5	Obaly	50
4.4.3.6	Skladování	51
4.4.3.7	Bezpečnost	52
4.4.3.8	Likvidace	52
4.5	Údržba a kalibrování	53
4.6	Literatura	54
5	Měření	56
5.1	Příčiny nesprávných analytických výsledků	56
5.1.1.	Nedostatečná kvalifikace	56
5.1.2	Používané postupy	56
5.1.3	Kontaminace	57
5.1.4	Interference	57
5.1.5	Kvalifikace zařízení	58
5.1.6	Vzorkování	59
5.1.7	Ztráty a degradace	59
5.2	Validace analytických metod	59
5.2.1	Replikace	59
5.2.2	Testy výtěžnosti	60
5.2.3	Slepý vzorek	61
5.2.4	Alternativní postupy	61
5.2.5	Alternativní detekce	61
5.2.6	Referenční materiály	62

5.3	Dobrá laboratorní práce	62
5.3.1	Před zahájením analýzy	62
5.3.2	V průběhu analýzy	63
5.3.3	Po analýze	64
5.4	Kalibrace měření	64
5.5	Chemické kalibrační standardy a referenční materiály	66
5.5.1	Referenční materiály	66
5.5.2	Chemické kalibrační standardy	67
5.5.3	Externí kalibrace	67
5.5.4	Vnitřní kalibrace	68
5.6	Řízení jakosti	69
5.6.1	Slepé vzorky	70
5.6.2	Vzorky řízení jakosti	70
5.6.3	Opakované vzorky	70
5.6.4	Tajné kontrolní vzorky	71
5.6.5	Chemické kalibrační standardy a přídavky (spiky)	71
6	Práce s daty a zprávami	72
6.1	Řízení dokumentace	72
6.1.1	Záznamy	72
6.1.2	Tvorba dokumentů	73
6.1.3	Identifikace dokumentů	73
6.1.4	Kopírování dokumentů	74
6.1.5	Řízení dokumentace	74
6.1.6	Ukládání a archivace dokumentů	75
6.2	Grafy	75
6.2.1	Shewhartův regulační diagram	76
6.2.2	Diagram pohyblivých průměrů	78
6.2.3	Diagram CUSUM	79
6.3	Vykazování výsledků	81
6.4	Nejistota měření	83
6.4.1	Definice nejistoty	83
6.4.1.1	Proces měření	83
6.4.1.2	Definice nejistoty	83
6.4.1.3	Chyby	84
6.4.1.4	Náhodná chyba	84
6.4.1.5	Systematická chyba	84
6.4.1.6	Správnost a přesnost	85
6.4.2	Vyhodnocení nejistoty	86
6.4.2.1	Možné chyby ve výpočtu	86
6.4.2.2	Systematický přístup	87
6.4.2.3	Specifikace	87
6.4.2.4	Identifikace	88
6.4.2.5	Kvantifikace	89
6.4.2.6	Slučování nejistot	91
6.4.2.7	Rozšířená nejistota	93
6.4.3	Využívání nejistoty	93
6.4.3.1	Interpretace výsledků	93
6.4.4.2	Zlepšování jakosti výsledků	95
6.5	Literatura	95

7	Porovnávání vaší laboratoře s jinými	97
7.1	Jak se vy a vaše laboratoř poměřujete s konkurencí?	97
7.2	Mezilaboratorní studie	97
7.3	Programy zkoušení způsobilosti	98
7.3.1	Organizování programů zkoušení způsobilosti	98
7.3.2	Hodnocení testů způsobilosti	99
7.4	Mezilaboratorní studie postupu a certifikační schémata	101
7.5	Závěr	102
7.6	Literatura	102
8	Řízení jakosti	103
8.1	Systém jakosti a příručka jakosti	103
8.2	Přínosy a cena zavedení systému jakosti	103
8.2.1	Přínosy systému jakosti	104
8.2.2	Náklady systému jakosti	104
8.3	Audity jakosti a prověřování systému jakosti	105
8.3.1	Význam interních auditů jakosti a prověřování systému jakosti	106
8.3.2	Rozsah interních auditů jakosti	107
8.3.3	Vertikální audit	108
8.3.4	Přezkoumání systému jakosti	108
8.4	Odpovědnost personálu za jakost	108
8.4.1	Odpovědnost managementu laboratoře za jakost	108
8.4.2	Odpovědnost manažera jakosti	109
8.4.3	Odpovědnosti jednotlivých zaměstnanců laboratoře	109
8.5	Literatura	110
9	Laboratorní normy a schémata zkoušení způsobilosti	111
9.1	Typy norem jakosti pro laboratoře	111

1 Cíl vzdělávacího kursu

1.1 PROČ JE ANALYTICKÁ ČINNOST ZAPOTŘEBÍ

Měření ovlivňují každodenní život každého obyvatele Evropy. Spolehlivá, přesná a správná měření, ať již fyzikální, chemická nebo biologická jsou základem fungování moderní společnosti. Proto spotřebují vyspělé státy až 6 % hrubého národního produktu na měření a na činnosti s ním spojené.

Zasvěcené diskuse a rozhodování o tak podstatných věcech jako ubývání ozonové vrstvy, kyselá dešť a kvalita vodních toků jsou závislé na datech, která dodávají analytičtí chemici. Soudní dokazování často závisí na chemických měřeních. Domácí a mezinárodní obchod je na analytických výsledcích kriticky závislý. Chemické složení je často podkladem pro určení původů zboží a pro zařazení do celní sazby. Ve všech těchto oblastech nestačí jenom obdržet správnou odpověď, uživatel výsledků musí mít jistotu, že tomu tak je.

Role analytického chemika se nezměnila od doby kdy analytici objevili, že přírodní materiály jsou směsi. Na příklad po objevu, že mrkev chrání před šeroslepostí, to byl analytický chemik, kdo separoval různé složky mrkve, charakterizoval jednotlivé sloučeniny a identifikoval aktivní složky jako β -karoten. Od těch dob se změnila otázka, které klade společnost: jsou mnohem náročnější. Převážná část zájmu se dnes soustřeďuje na množství nežádoucích látek na úrovních jedna k milionu a nižších. Nesmírně také vzrostl rozsah analyzovaných materiálů.

1.2 SOCIÁLNÍ A EKONOMICKÉ DOPADY CHYBNÝCH ANALÝZ

Ztráty v důsledku špatných výsledků poskytnutých analytickým chemikem mohou být enormní.

- U soudních analýz mohou vést k nespravedlivým odsouzením nebo k nepotrestání viníka.
- V obchodu mohou vést k dodávce podřadného zboží a k vysokým nákladům při jeho náhradě s následným dopadem na zákazníka.

- V zásobování pitnou vodou to může způsobit, že nebudou detekovány škodlivé kontaminanty.
- Chyby při monitorování životního prostředí mohou způsobit, že nebudou rozpoznána rizika nebo budou odhalena falešná rizika.

Představte si jen ohromné náklady jak finančních tak i jiných zdrojů a lidská neštěstí, jež mohou takové chyby způsobit. Chybné výsledky vedou ve všech aplikačních oblastech ke ztrátě důvěry v platnost dalších analytických výsledků. Důvěryhodnost je důležitý druh zboží. Na jedné straně ohrožuje významná ztráta důvěryhodnosti budoucí existenci dotčené analytické laboratoře, ale mnohem častěji znamená nákladné opakování analýz, a v případě obchodu brzdu rozvoje světové ekonomiky.

Řada z vás si jistě vzpomene na případy z tisku nebo z televize, při nichž analytický chemik udělal zjevně chybu. Některé z nich jsou smutně proslulé. Nesmíme však při tom zapomínat na miliony správných analýz, jimž se publicity nedostalo. Všichni dobře známe diskuse o globálním oteplování, avšak je třeba si uvědomit, že všechna budoucí opatření budou založena na informaci o věrném složení globální atmosféry. Tato kniha má za úkol tím, že pokrývá všechny významné zásadní problémy, vás navést na správnou cestu k jakosti v analytické laboratoři.

Můžete si myslet, že dnešní výsledky jsou mnohem spolehlivější než bývaly dříve. Může to být pravda. Zdokonalily se technologie, nástroje řízení jakosti, např. jsou dostupné certifikované referenční materiály, byly vyvinuty nové kvantitativní metody. Je však i dost důkazů, že vznikají data která nejsou vhodná pro zamýšlený účel. Řada dokladů o nespolehlivých výsledcích pochází ze studií, jichž se účastnily četné expertní laboratoře, které měřily vzorky stejného materiálu. Těmto studiím se říká kolaborativní studie. Problém spočívá v tom, že úroveň řízení jakosti, jíž analytici používali pro svá měření v minulosti, nestačí na nové požadavky vyvolané dnešními analytickými problémy. Laboratoř může vydávat špatné výsledky z mnoha důvodů. Výsledek může být špatný pro chybu ve výpočtu, nebo nemůže být ze stupnice špatně kalibrovaného přístroje odečtena správná hodnota. Mnohem častěji však spočívá chyba v použité analytické metodě. Pakliže není použita metoda pro analýzu vhodná, pak bude výsledek nesprávný. Příčinou může být, že obsah analytu je mimo rozsah, pro nějž byl postup validován. Jinou příčinou může být přítomnost interferující látky, kterou detekujeme spolu s analytem, jinak řečeno nedostatečná specifická. Použitá metoda může být vysoce citlivá k malým změnám postupu, na příklad ke koncentraci nebo množství přidaného materiálu, vyššímu nebo nižšímu obsahu složek, k teplotě nebo tlaku. Rozmezí, v němž může být postup modifikován bez významné ztráty správnosti, je mírou **robustnosti** postupu.

Ať již jsou důvody pro chemické měření jakékoliv, je svým způsobem vždy významné, neboť bude často použito jako podklad pro rozhodování. Taková rozhodnutí mívají třeba dopad na zdraví nebo životní podmínky milionů lidí. Navíc s liberalizací světového obchodu se zvyšují tlaky na odstranění opakovaných testování výrobků dopravovaných přes státní hranice. To znamená, že musí být kvantitativní analytické výsledky přijatelné pro všechny potenciální uživatele ať již se nacházejí uvnitř nebo vně organizace nebo státu, v nichž byly vytvořeny.

1.3 CO SI PŘEDSTAVUJEME POD POJMEM JAKOST

V představách o významu pojmu JAKOST panuje určitý zmatek. Pochopení jeho významu je snazší, pokud se jedná o výrobky, např. auta nebo oblečení. Každý úspěšný výrobce musí vyrábět prodejné zboží. Takže výrobci automobilů mají sortiment výrobků, které vyhovují potřebám zákazníka. To můžeme přirovnat k analytické laboratoři. Analytičtí chemikové vyrábějí výsledky, které jsou předávány někomu jinému (zákazníkovi), který použije výsledky k řešení problému.

Jakost v analytické laboratoři je všechno co se týká poskytování výsledků, jež

- splňují specifické požadavky zákazníka,
- vytvářejí důvěru zákazníka a všech dalších zúčastněných, kteří výsledky využívají,
- představují hodnotu, za níž bylo zapláceno.

1.4 SMĚRNICE A AKTIVITY EVROPSKÉ KOMISE

Právě proto, že se měření dotýká každého z nás, vznikají předpisy (ať již národní nebo evropské) zajišťující, že měření a chemické analýzy probíhají spolehlivým způsobem a tak jsou zájmy zákazníka dostatečně ochráněny. V některých oblastech se projevila potřeba harmonizace měřicích systémů již před staletími, např. ověřování vah a měř mělo zajistit poctivé obchodování, což vedlo dále k přijetí systému známého jako Mezinárodní systém SI.

Mnohá měření nejsou veřejnosti na první pohled zjevná. Týkají se jakosti výrobků, kterou určují, např. ceny potravin a krmiv. Tuto jakost nelze smlouvat, musí být stanovena se stejnou správností a spolehlivostí v jakékoliv zemi, aby nemohlo docházet ke sporům o přijatelnosti výrobků a tím byla zabezpečena náležitá funkce Jednotného trhu.

Harmonizace měření a technických specifikací je kontinuální proces. Dociluje se jí buď prostřednictvím směrnic Společenství nebo tvorbou evropských norem. To však neřeší všechny problémy. Opravdu, měření a analýzy vyžadované při zavádění těchto norem a směrnic jsou někdy tak náročné, že i když se použije stejný postup, mohou být přesto laboratorní výsledky značně rozdílné. Takové neshody je třeba vyřešit ještě před přijetím nových norem a směrnic a před prohlášením harmonizace. Právě potřeba hodnotit a zdokonalovat jakost funkčních charakteristik laboratoře vedla k tvorbě pravidel a směrnic zabezpečování a prokazování jakosti* (např. správná laboratorní praxe, série norem ISO 9000, EN 45 000 a ISO/IEC 17 025, akreditačních systémů a k výrobě certifikovaných referenčních materiálů (CRM).

* *Quality assurance* – dříve chápáno jako vnitrolaboratorní záležitost *zabezpečování jakosti*, dnes jako *prokazování jakosti* zaměřené na zákazníka. (Pozn. překl.)

1.4.1 Směrnice Evropské komise vztahující se k jakosti měření

Přibližně před dvaceti lety vytvořila Komise evropského společenství Referenční úřad evropských společenství (Community Bureau of Reference, BCR), aby odstranila spory vycházející z pochybných měření. Cílem bylo napomáhat a podporovat technickou spolupráci laboratoří v členských státech Evropské komise a tím pomáhat laboratořím, aby mohly vydávat správné a spolehlivé výsledky měření v oblastech pro Společenství životně důležitých, jako jsou obchod, zemědělství, potraviny, průmyslové výrobky, životní prostředí, zdraví a ochrana spotřebitelů.

V průběhu druhého rámcového programu (Užitá metrologie a chemické analýzy, 1987–1992) došlo k výraznému nárůstu podpory společného úsilí v oblasti měření. Byla to harmonizace většího počtu technických norem a postupů měření v rámci společenství, aby se podnikatelské firmy mohly spolehnout, že v každém členském státu jsou stejné konkurenční podmínky. Úspěšným nástrojem zlepšení jakosti v široké oblasti měření bylo vytvoření sítí laboratoří. Pro podporu soudržnosti a vylepšení problémových metod měření a analýzy v Evropě byl do Třetího rámcového programu (1990–1994) zařazen Program měření a zkoušení (Measurement and Testing Programme – BCR). Úkolem tohoto programu bylo šířit správné praktiky po Evropě a tím přispět ke snazšímu oběhu zemědělských a průmyslových výrobků v rámci Společenství a ke zdokonalení monitoringu životního prostředí a zdravotního stavu, ale i k řešení nových úkolů postavených před průmysl. V rámci Čtvrtého rámcového programu (1994–1998) se přeměnil Program měření a zkoušení na širší program nazvaný Standardy, měření a zkoušení (SM&T). Tento program si klade za cíl zlepšit konkurenceschopnost všech sektorů evropského průmyslu, podporovat realizaci strategických cílů Společenství a naplňovat potřeby společnosti prostřednictvím výzkumu a technologického pokroku. Hlavní úkoly jsou:

- **zlepšit** konkurenční postavení všech sektorů evropského průmyslu (včetně malých a středních podniků) podporou lepších měření na úrovni výzkumu a vývoje, dokonalejší definicí a kontrolou jakosti výrobků, účinnějším měřením v průběhu procesů a technickou pomocí při vzájemném uznávání certifikátů podle Světového přístupu k posuzování shody (Global Approach to Conformity Assessment);
- **prosazovat** výzkum a další technické opory potřebné k vytváření a zavádění dalších záměrů Společenství (jednotný trh, životní prostředí, zemědělství, zdravotnictví, doprava a ochrana vnějších hranic Společenství);
- **prosazovat** výzkum směřující k podpoře činnosti CEN, CENELEC, ETSI a dalších evropských orgánů, které se zabývají tvorbou a zaváděním stávajících nebo nových norem a kodexů jakosti;
- **podporovat** další rozvoj infrastruktury měření v Evropě koordinováním aktivit členských států, vývojem norem měření, progresivních metod a systémů, a vzájemného uznávání výsledků měření a akreditačních systémů;

- **podporovat** šíření a uplatňování správných praktik měření v Evropě, zejména pak v méně vyspělých oblastech, na příklad organizováním výcvikových kurzů a budováním sítí.

Z tohoto popisu je zjevné, že program SM&T byl orientován hlavně na podporování evropského průmyslu a komunitární legislativy; tato činnost pokračovala po stejné linii v rámci Pátého rámcového programu (1998–2002). Všeobecně jsou podporovány čtyři typy projektů:

- **Mezilaboratorní studie** organizované konsorciem evropských laboratoří. Jejich účelem je zvyšovat úroveň různých typů měření. Takové projekty slouží k odhalení možných zdrojů chyb v jednotlivých technikách, ke vzniku sítí laboratoří uvnitř Evropské unie pro přípravu skupin laboratoří na certifikaci referenčních materiálů.
- **Certifikace referenčních materiálů** je tradiční záležitostí BCR, která pokračuje i v rámci programu SM&T. Tyto projekty spolupráce dovolují produkovat referenční materiály, které jsou spolehlivým způsobem certifikovány. Takové materiály jsou nezbytné pro verifikaci správnosti analytických metodik v různých oblastech (např. životní prostředí, potraviny a zemědělství, biomedicina).
- **Vývoj nových metod a zařízení** se stal jednou z ústředních aktivit programu SM&T. Vývoj zahrnuje vylepšené přístroje nezbytné pro zdokonalování jakosti měření v určitých oblastech (např. on-line techniky měření, metody pro měření v terénu atd.).
- **Výzkum při přípravě norem** zkoumá technické požadavky norem (např. mezilaboratorními studii nebo v průběhu vyvíjení metod) před tím, než jsou převzaty oficiálními normalizačními orgány (např. CEN, CENELEC, ISO). Stejný typ projektů se může použít ke zkoumání nároků připravovaných směrnic EC před jejich publikováním.

Program SM&T také poskytl příležitost navrhnout tematické sítě na různá témata s cílem vytvořit vazby mezi organizacemi výzkumu a průmyslem. Konečně byly též navrženy doplňující oblasti, např. organizování vědeckých seminářů, podávání doktorandských nebo postdoktorandských grantů (zaměřených na podporu projektů vybraných grantů) atd.

Projekt ‚Školicí kursy prokazování jakosti chemických analýz‘ (QUACHA) byl navržen do doprovodných opatření programu SM&T v roce 1996 a v roce 1997 byl navržen k financování.

1.5 POŽADAVKY ZÁKAZNÍKA A ANALYTIK

Aby bylo možno zajistit, že budou analytické výsledky **vhodné pro svůj účel**, musí dojít k diskusi se zákazníkem **před tím**, než se započne s analýzou. Je třeba si uvědomit, že zákazník z jiného útvaru firmy je stejně důležitý jako zákazník Vaší organizace.

Je zbytečné říkat, že všechna měření musíte provést podle svých nejlepších schopností. Ne vždy je ale nutné usilovat o nejvyšší úroveň přesnosti. Na druhou stranu je pravda, že získaný výsledek by měl být natolik přesný a správný, aby jej mohl zákazník použít k zamýšlenému účelu. Zákazníci mohou požadovat technické detaily použitého postupu, obvykle je však nežádají. I proto je nezbytné, aby byly přesné podrobnosti projednány se zákazníkem před analýzou. Zákazník bude chtít dostatečné důkazy, aby se mohl spolehnout, že data budou správná a vhodná pro zamýšlený účel. Data musí být zálohována, tzn. že musí být uschovány dokumentované důkazy jako jsou záznamy zapisovače a laboratorní deníky. V případech námitek nebo stížností mohou posloužit jako důkazy. Každý výsledek, který vytvoříte, musí být doprovázen odhadem nejistoty. Zákazník požaduje za své peníze hodnotu.

Je několik kategorií analýzy, jež může zákazník požadovat. Každá z nich potřebuje samostatný přístup. Analýza za účelem specifikace, porovnání s maximálním nebo minimálním limitem, přičemž výrobek nebo koncentrace složky buď vyhovuje nebo nevyhovuje, vyžaduje jiný analytický přístup než v případě analýzy „ano/ne“. Požadavek zákazníka na vhodnost pro požadovaný účel je však stejný. Screeningové metody nebo analýzy „ano/ne“ se použijí, když máte velký počet vzorků a potřebujete rychlým postupem zjistit, které vybrat pro další zkoušení. Směrnice uvádí maximální hladinu arsenu v kontaminované zemině 40 mg.kg^{-1} . Analýza proto musí být kvantitativní, přesná a reprodukovatelná na úrovni 40 mg.kg^{-1} . Postup však nemusí být přesný v celém rozsahu koncentrací stanovovaného analytu. Postup nemusí být přísně lineární v širokém rozsahu řekněme od 1 mg.kg^{-1} do 100 mg.kg^{-1} , protože pokud přesahuje kontaminace zeminy limit, lhostejno zda je to 45 mg.kg^{-1} nebo 145 mg.kg^{-1} ; zemina je nepoužitelná. Obdobně je-li koncentrace řekněme menší než 10 mg.kg^{-1} , nevadí, když je chyba i 100 %. Zákazník potřebuje mít jistotu, jak je informace spolehlivá a jak může věřit údajům o hladinách v blízkosti 40 mg.kg^{-1} . Je 41 mg.kg^{-1} nebo 39 mg.kg^{-1} nepřijatelných nebo přijatelných? Jaká je přesnost a správnost postupu, byl postup ověřen známými vzorky, aby se ukázalo, že je použitelný pro analyt a koncentrační rozmezí, tedy: byl validován? Jaké údaje jsou dostupné o vzorkování, postupech extrakce a vlastním měření? Právě proto musí být **všechny** postupy plně dokumentovány (viz kapitolu 8). Soudní analýzou se obvykle opatřují data během zjišťování, zda nebyl porušen zákon. Zákazník především požaduje, aby byl položen nepřerušovaný sled důkazů počínaje dobou, kdy byly odebrány vzorky až do předkládání důkazů před soudem. Pro laboratoř to představuje dokumentování a autorizaci k odběru vzorků, jejich transportu, oddělování dílčích vzorků, laboratorní záznamy analytických postupů, výpočtů a pozorování, svědeckých prohlášení a likvidace vzorků. Všechny tyto prvky mohou být vyžádány soudem jako důkazy.

Každý analytický chemik by měl klást stejné otázky: Používám vyhovující postup? Je validovaný? Kde jsou v postupu a v jeho provádění zdroje nejistoty? Jak sám věřím závěrečné odpovědi? Číslo 3,4276 neznamená, že všechny jeho číslice jsou pravda a jsou stejně významné jenom proto, že jsou zobrazeny na stupnici přístroje. Záleží to na stavu kalibrace a na tom, zda se přístroj používá správným způsobem. I u nejjednodušší titrace přispívá každý krok k míře nejistoty. Když se na příklad použije při acidobasické titraci 25ml byreta, může být odečet v konci titrace 10,50 ml. S odečítáním jsou však spojeny dva zdroje nejistoty. Za prvé je to nejistota vizuálního odečtu způsobená paralaxou a odečtem menisku, a za druhé nejistota

kalibrace samotné byrety. Vědci nyní stále častěji hovoří o ‚nejistotě‘ než o ‚chybě‘. Důvody pro to a způsoby jak odhadovat nejistotu chemického měření jsou vysvětleny v kapitole 6.

Jako analytik rozumíte smyslu analytických dat, která produkuje. Je však třeba si uvědomit, že to často neplatí o právnících. Proto musí být data dokumentována formou, jíž lze snadno porozumět. Na příklad chromatografická analýza uhlovodíků z ropné havárie může poskytnout chromatogram s více než 300 složkami. Vysvětlovat význam takových údajů porotě nebude mít velký význam. Když se však podloží standardním záznamem, lze názorně demonstrovat, zda jsou či nejsou obrázky podobné. Zákazník požaduje od analytika průkaznou informaci. Pokud nejsou data dobře dokumentována, pak jejich cíl nelze prokázat. Zákazník, který důvěřuje laboratoři, se vždy vrátí.

1.6 ÚČEL ANALÝZY

Analýza zahrnuje určení kompozice materiálů, tj. identifikaci jeho složek a zjištění, kolik které složky je přítomno, a někdy též v jaké formě je přítomna.

Dříve než začneme na vzorku pracovat, je třeba se ptát proč se práce dělá, co se stane s výsledky a zjistit, jaká rozhodnutí budou činěna na základě získaných numerických hodnot.

Účely analýzy a využití analytické zprávy nebo certifikátu mohou být rozmanité. Následuje několik příkladů:

- Vytvoření číselné databanky za účelem zjišťování trendů, např. změn residuí pesticidů v potravinách v průběhu ročních období nebo meziročně.
- Přijetí/odmítnutí chemikálie/výrobku před použitím ve výrobním postupu.
- Posouzení hodnoty dodávky zboží před zaplacením.
- Soudní žaloba na podnik, který prodal výrobek neodpovídající udané specifikaci, např. uzenka s nízkým obsahem masa nebo obsahující vepřové namísto hovězího.
- Trestní obvinění osoby, u níž byly nalezeny drogy.

V tomto seznamu jsou důsledky chybné analýzy odshora dolů seřazeny podle závažnosti.

Chyba v číslech uložených v databance je tím zjevnější, čím více práce je dokončeno. Pokud je chyba pouze v chybném výpočtu, může být opravena. Na druhou stranu pokud chyba vznikla nevhodným postupem, nesprávnou kalibrací přístroje nebo volbou činidel, nemusí být její oprava vždy možná. To zejména platí, pokud byly původní vzorky spotřebovány nebo se zkazily při skladování. Chyba však nemusí být závažná, pokud studujeme *trendy*, tj. změny v průběhu času nebo změny jako důsledek různých variant postupu. Je to proto, že *absolutní* hodnota měření není tak důležitá jako každodenní *změny* nebo změny způsobené variacemi

postupu. Dokud tedy zůstává chyba konstantní, jsou rozdíly mezi výsledky věrné. To nemusí platit v případech, kdy se použijí různé metody nebo různé vybavení, nebo když trendy sleduje více laboratoří.

Zkoušky zaměřené na přijetí/odmítnutí nebo hodnocení mohou podnik stát (nebo mu šetřit) velké peníze; to závisí na chybě analýzy a objemu výrobních šarží. Soudní stíhání firmy může skončit pokutou nebo v nejtěžších případech uvězněním osob. Zatčení osoby za držení omamných látek (nebo výbušnin) může mít nejzávažnější důsledky, dotčená osoba může být uvězněna. Pokud byla látka chybně identifikována, trpí odsouzený zbytečně a následně se může domáhat vysokých odškodnění.

Proto jsou volba metody a validace zvoleného postupu rozhodující zejména při analýzách, které se týkají činnosti uvedených v dolní části seznamu.

Teď si potřebujete udělat přestávku, abyste si mohli promyslet, jaké důsledky může mít špatná analytická práce ve vašem konkrétním zaměstnání. Nezapomeňte jak na dlouhodobé důsledky, tak na současné problémy.

2 Obecné principy QA/QC

2.1 ÚVOD DO PROKAZOVÁNÍ JAKOSTI

Analytik opatřuje vědecké důkazy pro důležitá rozhodnutí a v důsledku toho je i zdrojem prospěchu, vyplývajícího z takových rozhodnutí. Práci analytika devalvuje představa, že pouze měří a píše zprávy. Jakost jeho práce je třeba prokazovat proto, že je to práce významná. Znamená to, že vykonal všechny potřebné úkony aby se ujistil, že promyslel každý z faktorů, které ovlivňují konečný výsledek, a učinil o něm záznam trvalým způsobem, že provedl všechna nezbytná měření a že tato měření byla provedena správným způsobem.

2.2 SYSTÉMY JAKOSTI, ŘÍZENÍ JAKOSTI A PROKAZOVÁNÍ JAKOSTI

Často není jasno o významu termínů řízení jakosti a prokazování jakosti, které se bohužel často zaměňují. Navíc některé úkony řízení jakosti a prokazování jakosti spolu navzájem souvisí. Definici těchto pojmů uvádí norma Mezinárodní organizace pro standardizaci ISO, ČSN EN ISO 9000:2001 Systémy managementu jakosti – Základy, zásady a slovník.

Řízení jakosti: část managementu jakosti zaměřená na plnění požadavků na jakost

plánované činnosti s cílem ověřovat jakost měření

Prokazování jakosti: část managementu jakosti zaměřená na poskytování důvěry, že požadavky na jakost budou splněny

Interní zabezpečení jakosti poskytuje důvěru vedení a externí prokazování jakosti poskytuje důvěru zákazníkovi, že se jedná o plánované činnosti navržené tak, aby bylo zjevné, že se řádně používají nástroje řízení jakosti. Pokud požadavky na jakost neodrážejí plně potřeby zákazníka, nemůže prokazování jakosti vyvolat u zákazníka přiměřenou důvěru.

Systém jakosti je soubor postupů a odpovědností, které firma nebo organizace zavedla aby se ujistila, že vy jako analytický chemik máte takové vybavení a zdroje,

abyste mohli provádět měření uspokojující vašeho zákazníka. Výše uvedená norma ISO definuje **systém jakosti** jako „Organizační strukturu, postupy, procesy a zdroje potřebné k zavedení managementu jakosti“. Pamatujme si, že systém jakosti má být natolik podrobný, aby právě stačil potřebám zákazníka. Může přesahovat očekávání každého ze zákazníků. Aspekty systémů jakosti jsou popsány v kapitole 7.

Stručně řečeno je systém jakosti kombinací managementu jakosti, řízení jakosti a prokazování jakosti. Tyto postupy chrání laboratoř a její personál a napomáhají udržovat důvěru v jejich práci. Pro komerční laboratoře poskytují účinný prostředek k řešení stížností.

Jiným přístupem k managementu jakosti je systém známý jako celkový management jakosti (Total Quality Management, TQM). Vytvořili jej ve čtyřicátých letech Juran a Deming. Metody TQM byly rozsáhle přejímány v japonském průmyslu a teprve nedávno jsou zaváděny i v evropských státech. Kladou důraz na

- zahájení změn pracovní kultury za silné podpory managementu;
- budování organizace orientované na zákazníka;
- analyzování a zlepšování pracovního procesu s cílem zvýšit jeho účinnost a snížit plýtvání;
- navrhování jakosti výrobků a procesů stanovování kritérií jakosti;
- zajišťování výcviku s důrazem na celoživotní vzdělávání;
- podporování vůdcovského stylu managementu, který podporuje a pěstuje princip jediného týmu;
- používání statistických metod a dalších nástrojů k analyzování a řešení problémů, k nacházení řešení, a ke zdokonalování měření;
- podporu nových myšlenek a odměňování úspěchů;
- vytváření struktury a atmosféry, jež posilují zlepšování jakosti a službu zákazníkovi;
- nezavrhuji selhání, ale kriticky vyhodnocují příčiny jejich vzniku.

Uvidíte, že to vše je spojeno s řízením organizace více než každodenní práce za psacím stolem. V pozadí TQM je myšlenka, že každý osobně odpovídá za to, že organizace pro níž pracuje vyrábí kvalitní produkty nebo poskytuje kvalitní služby.

2.3 UŽITEK Z ŘÁDNÝCH DAT

Nikdo netvoří nesprávné výsledky úmyslně. Jistě jste zaznamenali, kolikrát vás někdo upozorní na chybu, kterou jste udělali, ale málokdy upozorní na dobře odvedenou práci. Pokud se výsledky vaší práce ukáží jako špatné, neutrpí tím jenom vaše pověst, ale také vaše firma. Každý dělá chyby, ale když uděláte chybu vy, měli byste se vždy snažit zjistit, proč se tak stalo, abyste snížili možnost, že se to samé přihodí znovu.

V literatuře je dostatek důkazů o vytvořených datech, která nejsou vhodná pro zamýšlené použití. Tabulka 2.3 ukazuje uznané charakteristické obsahy stopových prvků v otevřeném oceánu v období dvaceti let. Z uvedených hodnot může plynout, že u těchto prvků došlo k dramatickému snížení koncentrací. Na příklad se jeví, že koncentrace olova se snížila patnáctkrát.

Tabulka 2.3. Stopové prvky v mořské vodě ($\mu\text{g.l}^{-1}$)

	1965	1975	1983
Olovo	0,03	0,03	0,002
Rtuť	0,03	0,03	0,001
Nikl	2,0	1,7	0,46
Měď	3,0	0,5	0,25
Zinek	10,0	4,9	0,39

Jedním z důvodů zdánlivého snížení obsahu kovů v mořské vodě během času může být menší množství znečišťujících látek, změny mořského proudění nebo zlepšení specifičnosti analytických technik. Předpokládá se však, že hladina prvků v mořských hloubkách zůstává poměrně konstantní. S takovýmto typem studie je spojeno mnoho problémů. Zahrnují problémy s odběrem vzorků, jejich skladováním, prodlevy v analýzách i analýzy samotné. Bohužel není možné podat jednoznačnou odpověď, proč laboratoře poskytly výsledky, které se mohly lišit až o faktor 10^4 . Nemáme dostatek dokumentovaných důkazů o tom, jak tehdejší měření probíhala a dnes již nemůžeme získat vzorek 1965 k opakovanému měření! Nemáme proto žádné podklady z nichž bychom mohli činit závěry.

Důležité je, aby měření provedené určitým analytikem v jedné laboratoři bylo možno zopakovat ve stejné laboratoři jiným analytikem nebo v jiné laboratoři, která může být i v jiné zemi. Usilujeme o to zajistit, aby byla měření provedená různými laboratořemi porovnatelná. Všichni víme, že když měříme délku drátu, hmotnost chemikálie nebo čas, dostaneme v každé laboratoři stejnou odpověď bez ohledu na to, kde se nacházíme. Je to proto, že existují mezinárodní etalony délky, hmotnosti a času. Aby byl výrok pravdivý, musí být měřicí přístroje kalibrovány. Váhy se kalibrují etalonem hmotnosti, který je navázán na primární etalon. Primární etalon v chemii je látkové množství, mol. Obvykle není možné navázat všechna naše měření až k molu, takže musíme používat referenční materiály, které byly analyzovány technikami, jež jsou návazné na základní SI jednotku. V analytické chemii nemáme etalon molu. Dobře definované koncentrace roztoků, které se v analytické chemii používají, se připravují z velmi čistých chemikálií. Slouží jako základ, s nímž můžeme porovnávat jiné roztoky nebo stupnice přístrojů. Při některých analýzách může být použitou chemikálií certifikovaný referenční materiál s dobře dokumentovanou specifikací. Proces se nazývá kalibrace. Nestačí však jen kalibrovat přístroj nebo zařízení, je důležité, aby byl celý analytický postup validován, počínaje extrakcí až po finální měření.

Největší zisk z produkování spolehlivých a návazných dat je vzájemné uznávání těchto dat uvnitř státu i mezinárodně, výrobci, nařizujícími orgány, obchodníky a vládami. V této souvislosti je návaznost podle definice v Mezinárodním slovníku

základních a obecných pojmů v metrologii (ČSN 01 0115:1996), tj. „vlastnost výsledku měření nebo hodnoty etalonu, kterou může být určen vztah k uvedeným referencím, zpravidla národním nebo mezinárodním etalonům, nepřerušným řetězcem porovnávání, jejichž nejistoty jsou uvedeny“. Se vznikem Evropské unie vznikl uvnitř hranic členských států jednotný trh a prostor, v němž mají jeho obyvatelé zvláštní práva. Aby tento systém fungoval, musí členové Evropské unie výsledky vzájemně uznávat. To je možné jen když jsou zkušební a měřicí metody odsouhlaseny všemi členy. Abychom toho dosáhli, musíme všichni používat stejné reference.

Zvyšující se zájem veřejnosti a nutnost monitorovat velmi nízké koncentrace toxických látek znamenají, že je v mnoha oblastech analýzy zapotřebí dosáhnout úroveň detekce pod $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Pesticidy v potravním řetězci, toxické látky v odpadech a ve spalínách, stopy nitrosloučenin v oplachu prstů osoby podezřelé z manipulace s výbušninami, to vše vyžaduje analýzy nízkých koncentrací.

Když vytváříme data která nevyhovují zamýšlenému použití, musíme si být vědomi jak možných finančních, tak i právních postihů. Tak na příklad když výrobce léků vyrábí tablety s nesprávným obsahem aktivní složky, může to mít katastrofální důsledky a v nejhorším případě i způsobit smrt.

Kontaminovaná zemina je oblast životního prostředí s vysokou hladinou znečištění, jež se nesmí opomíjet. Ale k tomu, aby se mohlo se zeminou něco udělat tak, aby byla použitelná v budoucnosti, je třeba mít posudek podložený spolehlivými analytickými daty.

Náhodné a neuvážené vzorkování může vynechat prázdné oblasti nebo „horká místa“ znečištění, což může mít katastrofální důsledky. Pokud by jako důsledek nesprávného vzorkování nebyly nalezeny vysoké koncentrace fenolů nebo síranů ze staré plynárny, pak by došlo k narušení betonu v pilířích sloupů nové výškové budovy a k možnému zeslabení jeho struktury. Také se může přihodit, pokud by posouzení zeminy nebylo spolehlivé a na půdě se založily zahrádky, že zelenina tam vypěstovaná se stane zdrojem toxických kovů, které skončí v potravním řetězci.

Výhody produkování správných dat jsou tedy značné a dotýkají se našeho každodenního života, ať již potraviny, životního prostředí, zdraví nebo obchodování. Laboratoře, které poskytují validní měření mají v analytickém světě vyšší status, neboť produkují data prokazatelně návazná k referenčnímu standardu, a spolehlivá, s nízkými náklady na opravy špatných dat. To znamená, že má vaše laboratoř v soutěži na otevřeném trhu větší naděje.

3 Postupy prokazování jakosti při odběru vzorků a při nakládání se vzorky

3.1 ÚVOD

Tato kapitola obsahuje úvod k odběru vzorků a jak vzorkování ovlivňuje výsledky. Navrhování plánů nebo postupů vzorkování může být pracovní náplní vašeho současného zaměstnání, na druhou stranu je více než pravděpodobné, že jediný odběr vzorku, jenž se vás týká, je odebrání zkoušeného podílu z laboratorního vzorku dodaného k analýze. Musíte ale znát celou oblast vzorkovacích postupů, čímž se práce stává nejen zajímavější, ale také vám to dovoluje bavit se zasvěceně o historii materiálů dodaných do laboratoře.

3.2 DEFINICE VZORKOVÁNÍ

Vzorkování je proces, jímž se nějakým způsobem vybírá podíl materiálu tak, aby reprezentoval nebo poskytl informace o větším souboru materiálu. Je to postup, při němž se odebírá část látky, aby poskytla reprezentativní vzorek celku (nebo požadovaného subjektu) za účelem zkoušení. Při tom musí být dostatečně specifikováno co se má u látky zkoušet.

Z této definice vyplývá, že musíme uvážit důvody analýzy před tím, než vzorek odebereme nebo než navrhujeme vzorkovací schéma. Je tedy odpovědností analytického chemika, po projednání se spolupracovníky, popsat skutečnou podstatu problému.

Analytik bohužel nemusí mít vždy na vzorkovací plán vliv. Musíte však vědět, že analytický výsledek **může** záviset na **postupu** použitém k analýze, avšak **vždy** závisí na typu použitého **plánu vzorkování**. Je důležité znát potenciální chyby vzorkování, protože pokud je pravděpodobný příspěvek chyby vzorkování větší než asi 66 % celkové chyby, je každý pokus o snižování analytické chyby bezvýznamný. Když proto odhadujete nejistotu konečného výsledku, musíte pamatovat na příspěvek chyb odběru vzorků. Tyto chyby nelze vyhodnocovat ani ovlivňovat pomocí referenčních materiálů. Na druhou stranu může být postup vzorkování popsán v národní nebo mezinárodní normě nebo ve směrnících. Jako příklady mohou sloužit Codex Alimentarius, Pokyny Komise k odběru vzorků; ČSN ISO 2859 části 0 až 4

Statistické přejímky srovnávání; ČSN ISO 3951:1993 Přejímací postupy a grafy při kontrole měření pro procento neshodných jednotek.

3.3 TYPY VZORKŮ

Vzorek lze popsat několika způsoby. Může se popsat v pojmech fyzikálního stavu, tj. plynný, kapalný nebo tuhý. Kde to lze, může být dále dělen na homogenní a heterogenní materiál podle schopnosti rozdělit se na více fází, nebo v případě tuhé látky na směs materiálů s rozlišnou velikostí částic.

Jiný způsob popisu vzorků je z pohledu použitého vzorkovacího plánu. Podle tohoto dělení rozlišujeme čtyři typy vzorků: **reprezentativní, selektivní, náhodný a směsný vzorek.**

3.3.1 Reprezentativní vzorek

Je to vzorek charakteristický tím, že přenáší z původního vzorku materiál sledované vlastnosti. Při definování sledovaných vlastností musíte být opatrní, protože vzorek může být přiměřený a reprezentativní, když je koncentrace analytu 5 % hmotnostních (tj. 5 částí ve stu), ale nemusí již být při koncentracích na úrovni pět k milionu. Je důležité znát postup, který bude pro analýzu použit. Pokud má postup variační koeficient $\pm 30\%$, nemusí být postup odběru vzorků tak pečlivě kontrolován jako v případě metod typu HPLC s variačním koeficientem, který může dosahovat $\pm 5\%$.

Abychom obdrželi odpovídající reprezentativní vzorek, musíme popsat stav původního zkoumaného materiálu. Rozeznáváme čtyři typy:

- i. homogenní
např. rostlinný olej při 40 °C nebo filtrovaný vodný roztok
- ii. heterogenní
např. palmový olej při 15 °C, vzorek přesnídkových obilnin jako müsli, nebo čistírenský kal
- iii. statický (zádržný) systém
Je mnoho případů tohoto typu; složení původního materiálu je stále v prostoru i čase.
Např. vzorek oleje v sudu nebo sklad potravin v obchodním domě
- iv. dynamické podmínky
Původní materiál se mění v čase. Odběr podílu v jakémkoliv okamžiku představuje jenom snímek tohoto okamžiku v daném konkrétním místě. Skutečnost, že jej nelze nikdy reprodukovat, představuje pro používání statistického řízení problém a v důsledku toho na takový materiál nelze použít konvenční statistické vzorkovací plány.
např. průběžně míchané nenasycené a nasycené oleje nebo voda v ústí vodního toku

3.3.2 Selektivní vzorek

Je to vzorek odebíraný se záměrným použitím vzorkovacího plánu, který odděluje materiály s určitou charakteristikou anebo vybírá pouze materiál s jinou požadovanou charakteristikou. Lze to nazývat řízeným nebo zaměřeným vzorkováním, např. kontaminovaných potravin, kde se záměrně snažíme vymezit konkrétní znehodnocenou oblast dávky, neředěnou dokonale nezávadným materiálem, kontaminované mouky močí nebo chlupy hlodavců, nebo toxických plynů v továrním ovzduší, kde může být průměrná úroveň přijatelná, avšak lokalizovaný vzorek by mohl obsahovat letální koncentraci.

3.3.3 Náhodný výběr

Vzorek odebraný náhodným procesem, aby se zabránilo pochybnostem o vychýlení při výběru anebo abychom vytvořili podmínky pro statistickou interpretaci naměřených dat. Vzorek se odebírá tak, aby jakýkoliv podíl materiálu měl stejnou nebo známou naději být vybrán. Nemá žádné vychýlení. Existují tři typy:

- i. Jednoduchý náhodný výběr – každý vzorek má stejnou pravděpodobnost, že bude vybrán.
- ii. Náhodný výběr po vrstvách – pozemek se rozdělí na vrstvy a z každé vrstvy se odebere prostý vzorek.
- iii. Systematické vzorkování – první vzorek se zvolí náhodně a následující vzorky se odebírají podle předem stanoveného plánu, tj. každý pátý, desátý, nebo s jinou vhodnou četností.

3.3.4 Směsný vzorek

Směsné vzorkování představuje způsob, jak snižovat náklady analýzy velkého počtu složek. Analýzy jednotlivých složek by byly velmi nákladné. Směs se připraví tak, aby obsahovala dvě nebo více složek materiálu (shromážděných ve stejném okamžiku) a zvolených tak, aby reprezentovaly studovaný materiál. Zastoupení složek ve směsném vzorku může být na základě objemu, času nebo průtoku. Složky směsného vzorku se odebírají v poměru k množství materiálu, který reprezentují. Na příklad při potravinářském dozoru mohou být vzorky odebírány v poměru k množství, v nichž se běžně konzumují.

3.4 STRATEGIE VZORKOVÁNÍ

Vzorky se vždy odebírají za určitým specifickým účelem a tento účel do určité míry určuje postupy vzorkování. U baleného zboží se musí kontrolovat jak hmotnost, tak obsah. U konzerv se musí prověřit těsnost obalu, jednotnost obsahu a kontaminace. U polních plodin se musí v průběhu vegetačního období kontrolovat hladiny pesticidů. U léků se sledují obsahy aktivních složek a rychlostní profily jejich uvolňování. Vzorky potravin podléhajících dozoru se odebírají k ověření, zda se shodují s údaji na štítku a jsou bezpečné při spotřebě.

3.4.1 Zákonné a právní požadavky

Schémata vzorkování řady materiálů podléhají nařízením, např. hnojiv a krmiv. Odběr vzorků obsahují některé směrnice Evropské komise, jako příklad lze uvést odběr vzorků ovoce a zeleniny pro stanovení residuí pesticidů, stanovení stopových prvků v hnojivech; na mezinárodní úrovni obsahuje vzorkovací schémata Codex Alimentarius, např. vzorkování potravin pro stanovení residuí pesticidů. Jistě jsou vám známy předpisy týkající se vaší pracovní oblasti.

Obecně vzato je vždy možno položit otázku „K čemu budou výsledky použity?“ Když odebíráte vzorky pro ověření shody s podmínkami smlouvy, kdy vzorek musí obsahovat minimálně/maximálně určité množství analytu, pak je třeba znát, jak to bude interpretováno. Komise Codex Alimentarius doporučuje, aby mezinárodní norma pro bílý cukr požadovala

- ne více než 1 mg.kg⁻¹ As
- ne více než 2 mg.kg⁻¹ Cu
- ne více než 2 mg.kg⁻¹ Pb

Musíme vědět, zda to znamená ‚ani jediný kus v dodávce nesmí překročit...‘, nebo ‚průměr z ... počtu kusů nesmí překročit...‘. Také musíte vědět, zda je požadavek splněn, když

- a) lze vytvořit smíchaný hromadný vzorek z jednotlivých odebraných kusů,
- b) analyzuje se každý jednotlivý kus a vypočítá průměr a distribuce.

Každá z těchto interpretací vyžaduje odlišný přístup.

Mohou také nastat případy, kdy je množství analytu pevně stanoveno zákonem (zákonné limity). V takových případech mohou být předepsány standardní postupy vzorkování. Maximální residuální zbytky malathionu stanovuje kodex na 4 mg.kg⁻¹ v citrusových plodech a 6 mg.kg⁻¹ ve slívách. Při vzorkování musíte vědět, že v případě citrusů berete celý plod – kůru, dřev, dužinu a šťávu, zatímco u slív je to ovoce po odstranění stopek a pecek, ale residua se přepočítávají na celou komoditu – bez stopek. V některých případech je třeba odebrat stanovený počet vzorků; ty musí být odebrány za přítomnosti svědka. Normy a předepsané postupy a strategie vzorkování pro monitorování životního prostředí se připravují. V mezidobí je nezbytné, aby používané plány vyhovovaly zamýšlenému účelu co se týče jak vzorkování, tak měření. Statistické nástroje pro vzorkování se mohou používat, v praxi se jich však často nedbá.

Je třeba si uvědomovat, že vzorkovací schémata a postupy musí být navrženy za konkrétním účelem. Nemůžete jen tak převzít schéma a čekat, že bude fungovat.

3.4.2 Vzorkovací schémata

Pravděpodobnostní výběr

Používá se tehdy, když je zapotřebí reprezentativní vzorek. Existují tři přístupy vedoucí ke třem typům náhodných vzorků, jak je popsáno v kapitole 3.3.3.

Nepravděpodobnostní výběr

Hovoříme o něm, když nelze odebrat reprezentativní vzorek. Je to metoda vhodná pro selektivní vzorky.

Hromadný odběr

Tento typ vzorkování zahrnuje odběr vzorku z materiálu, který se neskládá z diskretních, identifikovatelných nebo stejných jednotek.

Přejímací plány

Přejímka zahrnuje použití předem stanoveného plánu. Rozhoduje, zda šarže zboží vyhovuje stanoveným kritériím přejímky. Hlavním cílem každého přejímacího plánu musí být ověření, zda dostane zákazník požadovanou jakost při současném vědomí, že finanční zdroje nejsou neomezené a že cena zboží musí odrážet náklady kontroly stejně jako výrobní náklady.

Přejímka může být buď **srovnáváním** (podle atributů) nebo **měřením** (podle proměnných) (série ISO 2859, ISO 8422 a 8423, a ISO 8550)*. Při přejímce srovnáváním buď jednotka v dávce výrobků vyhovuje nebo ne. Počet neshod v dávce se sčítá, a pokud dosáhne předem stanoveného čísla, dávka se odmítne. Při přejímce měřením se měří sledovaná charakteristika kontinuálně a pokud průměr dosáhne předem stanovené hodnoty a je uvnitř předem stanovené směrodatné odchylky, dávka je přijata.

K ilustraci rozdílu mezi těmito dvěma typy uvádíme příklady. Kukuřičné lupínky se prodávají v balení po 500 g. Při přejímce srovnáváním se přijme každé balení, které váží 500 g nebo více, a každé balení vážící méně než 500 g se odmítne. Je-li počet

* Dodatek překladatele: ČSN ISO 2859-0:1997 (01 0261) Statistické přejímky srovnáváním. Část 0: Úvod do systému přejímek srovnáváním.

ČSN ISO 2859-1:2000 (01 0261) Statistické přejímky srovnáváním. Část 1: Přejímací plány AQL pro kontrolu každé dávky v sérii.

ČSN ISO 2859-2:1992 (01 0261) Statistické přejímky srovnáváním. Část 2: Přejímací plány LQ pro kontrolu izolovaných dávek.

ČSN ISO 2859-3:1993 (01 0261) Statistické přejímky srovnáváním. Část 3: Občasná přejímka.

ČSN ISO 2859-4:2003 (01 0261) Statistické přejímky srovnáváním. Část 4: Postupy pro posouzení deklarovaných úrovní jakosti.

ČSN ISO 8422:1994 (01 0259) Přejímací plány postupným výběrem při kontrole srovnáváním.

ČSN ISO 8423:1994 (01 0262) Přejímací plány postupným výběrem při kontrole měřením pro procento neshodných jednotek (známá směrodatná odchylka).

ISO/TR 8550:1994 Guide for the selection of an acceptance sampling system, scheme or plan for inspection of discrete items in lots (jako ČSN dosud nevydána).

odmítnutých menší než předem stanovené číslo, je dávka přijata. Když přejímáte měření, zváží se jednotlivá balení, zjistí se průměr jednotlivých hmotností a vypočítá směrodatná odchylka. Pokud průměrná hmotnost vyhovuje nebo pokud přesahuje stanovený průměr a velikost směrodatné odchylky neindikuje nepřijatelný schodek, je dávka přijata.

3.5 PARAMETRY VZORKOVÁNÍ

3.5.1 Požadovaná přiměřenost vzorků k analýze

Jak velký vzorek je zapotřebí? Tuto otázku je třeba si položit před odběrem vzorků. I když to nemusí být v odpovědnosti pracovníků laboratoře, je zapotřebí rozhodnout, jak tím bude ovlivněna validita analýzy.

Většina chemických zkoušek je destruktivní, takže nelze zkoušet všechnen materiál. Problémem může být odebrání reprezentativního vzorku z celku o němž víme, že je heterogenní. Vzorkovací plán musí být postaven tak, aby bylo možno testovat míru homogenity.

Když validovaný postup vyžaduje 1 g materiálu, ale k dispozici je pouze 100 mg, je třeba ověřit zda je postup dostatečně robustní, aby takové snížení vydržel. To musí být prověřeno **před** začátkem analýzy, tzn. postup musí být validován pro analýzu 100 mg materiálu.

První problém, před nějž je analytik postaven, je rozhodnout co znamená ‚reprezentativní‘. Je třeba pečlivě uvážit účel analýzy. Obvykle se předpokládá, že ‚reprezentativní‘ znamená, že dílčí vzorek je homogenním podílem celého vzorku, tj. když se bere k analýze desetigramový podíl ze 100 g vzorku, pak musí dílčí vzorek obsahovat 10 % celkového obsahu analytu ve vzorku.

Předchozí úvaha pouze vztahuje reprezentativnost analytického výsledku ke vzorku. Soudržnost pojmu je nutno dále rozšířit na analytický problém a na sociální/ekonomický problém, který je třeba řešit. Například při klinické analýze se provádí řada měření, která mohou poskytnout informaci o určité nemoci. Často je třeba dodat výsledky rychle. Vzorkování není zásadní problém, ale zásadní je správná identifikace. Pro reprezentativnost je mnohem závažnější správně zavedený analytický postup. Postup se musí kontrolovat kontrolními vzorky. V případě studie znečištění řeky se uplatňuje významná sociální a ekonomická složka, neboť přítomnost znečištění má za následek investice do čistírny, která obnoví kvalitu vody. Proto musí existovat velice solidní plán řešení analytického problému. Ten bude obsahovat podrobný plán vzorkování, tj. kde odebírat vzorky, jejich počet, objemy odebírané vody, materiál vzorkovnic, statistické postupy ke zjištění rozdílů mezi vzorky a uvnitř vzorků odebraných v těsné blízkosti od sebe. Všechny tyto faktory jsou zapotřebí k odhadu reprezentativnosti výsledků.

3.5.2 Nejistota vzorkování

Abychom stanovili jak velké vzorky potřebujeme, musíme zjistit zdroje nejistoty konečného výsledku. Nejistotou se zabýváme podrobněji v kapitole 6, zde nás zajímá pouze nejistota, pocházející z odběru vzorků.

Celkový rozptyl $(s^2)_{\text{total}}$ tvoří dva příspěvky, jeden ze vzorku $(s^2)_{\text{sample}}$ a jeden z měření vzorku $(s^2)_{\text{meas}}$. (Rozptyl s^2 je mocnina výběrové směrodatné odchylky s .)

$$(s^2)_{\text{total}} = (s^2)_{\text{sample}} + (s^2)_{\text{meas}}$$

Rozptyl měření lze stanovit se vzorky, u nichž jsme statisticky na požadované úrovni spolehlivosti zjistili homogenitu. Pro stanovení celkového rozptylu použijte nejméně 10 vzorků (v zásadě shodných), každý změřte a ze směrodatné odchylky vypočítejte $(s^2)_{\text{total}}$. Rozptyl vzorku je pak dán

$$(s^2)_{\text{sample}} = (s^2)_{\text{total}} - (s^2)_{\text{meas}}$$

Rozptyl vzorku tvoří také dvě složky, jedna je rozptylem souboru $(s^2)_{\text{pop}}$ a druhá $(s^2)_{\text{slg}}$ pochází z odběru vzorků. Úkolem je ověřit, zda je variabilita pocházející ze vzorkování zanedbatelná. Rozptyl souboru, tj. skutečná variabilita analytu

$$(s^2)_{\text{sample}} = (s^2)_{\text{pop}} + (s^2)_{\text{slg}}$$

analytika nejvíce zajímá. Velikost každé ze složek přímo ovlivňuje počet potřebných vzorků k tomu, abychom dosáhli stanovenou celkovou nejistotu.

3.5.3 Počet primárních vzorků

Pro stanovení potřebného počtu vzorků existují empirická pravidla, např. že počet odebraných kusů je určen nejbližší vyšším celým číslem z trojnásobku druhé odmocniny z celkového počtu kusů, vyjma případů kdy je celkový počet kusů menší než 10 (BS 5309:1976, část 1).

Jiný příklad, který doporučuje Codex pro vzorkování výrobků v plechovkách, láhvích, balíčcích a dalších malých baleních představuje tabulka 3.5a. Primární vzorky se obvykle smíchají na hromadný vzorek, který, pokud je pro analýzu příliš objemný, se redukuje na reprezentativní dílčí vzorek.

Tabulka 3.5a. Počty primárních vzorků, odebíraných z konzervovaných výrobků

Počet plechovek, balení nebo obalů v dávce	Nejmenší počet primárních vzorků
1 – 25	1
26 – 100	5
101 – 250	10
> 250	15

3.5.4 Dílčí vzorky

Dílčí vzorek je podíl, oddělený ze vzorku a připravený tak, aby obsahoval s nějakou spolehlivostí stejnou koncentraci analytu, jaká je přítomna v původním vzorku. Laboratorní vzorek může být dílčím vzorkem celkového vzorku a zkoušený podíl může být dílčím vzorkem laboratorního vzorku. Mezi vzorky mohou být rozdíly způsobené nehomogenitou; žádné rozdíly však nesmí být mezi dílčími vzorky.

Ačkoliv je chyba dílčího vzorkování v laboratoři nevýznamná, může být mnohem větší než bychom podvědomě očekávali. Její významnost se zvyšuje s klesající koncentrací sledovaných prvků. Při analýzách stopových složek tvoří pravděpodobně jeden z největších příspěvků k chybě. Velikost dílčího vzorku je obvykle určena použitým postupem a pohybuje se od gramu k mikrogramům.

K určení minimální velikosti dílčího vzorku lze použít koncepci konstanty vzorkování. Konstanta vzorkování K_S má rozměr hmotnosti. Je to hmotnost dílčího vzorku, pro kterou je relativní chyba dílčího vzorkování 1 % (hladina spolehlivosti 68 %) při jednotlivém stanovení. Hodnota $\sqrt{K_S}$ je numericky rovna variačnímu koeficientu výsledků získaných s 1 g dílčího vzorku postupem, který nevykazuje analytickou chybu.^{1,2}

Variační koeficient nebo relativní směrodatná odchylka (C_V) je dán vztahem

$$C_V = \frac{100s}{\bar{x}}$$

kde s je směrodatná odchylka výsledků měření vzorku a \bar{x} je průměr z x .

Když byl laboratorní vzorek připraven síťováním přes síto určité hustoty, je relativní směrodatná odchylka nepřímo úměrná \sqrt{w} , kde w je hmotnost analytického dílčího vzorku a konstanta vzorkování K_S je definována jako

$$C_V = \sqrt{(K_S/w)}$$

nebo

$$K_S = (C_V)^2 w$$

Tento vztah předpokládá, že dílčí vzorek obsahuje alespoň určitý minimální počet částic a že vzorek je dobře promíchán. Kombinace výsledků dvou dílčích vzorků, každý o hmotnosti w , má variabilitu dílčího vzorkování stejnou jako jednotlivý dílčí vzorek o hmotnosti $2w$.

Ke stanovení hodnoty C_V se analyzují stejně velké vzorky dobře promíchaného materiálu, každý o hmotnosti w . Z vypočteného C_V se určí K_S . Jeho hodnota spolu s cílovou hodnotou C_V se použije k určení potřebné velikosti dílčího vzorku.

Jednou zjištěný K_S pro analyt v určitém typu vzorku se použije k odhadu relativní směrodatné odchylky stejného analytu v budoucím dílčím vzorku o hmotnosti w_f

$$(C_V)_f = \sqrt{(K_S/w_f)}$$

Pro granulované tuhé látky je teoretická velikost vzorku funkcí velikosti částic a distribuce analytu mezi částicemi. Optimální množství lze vyjádřit jako počet částic nezávisle na velikosti částic. Potřebná hmotnost závisí na hmotnosti částice. Chcete-li, aby zkoušený podíl obsahoval 1000 částic, ukazuje tabulka 3.5b tři možnosti.

Tabulka 3.5b. Vztah mezi velikostí částic a zkoušeným podílem

Přibližná hmotnost částice [mg]	Zkoušený podíl [g]
10	10
1	1
0,1	0,1

3.5.5 Postupy odběru dílčích vzorků

Nejlepší způsob, jak zlepšit vlastnosti dílčího vzorku, je jemné mletí. Může však působit problémy kvůli možným kontaminacím. Mlít vzorky také není vždy možné. V takovém případě je obecně nejlepším postupem zmenšení laboratorního vzorku vhodným postupem, na příklad kvartováním.

Postupy dílčího vzorkování vhodné pro vaši analýzu mohou být předepsány legislativou. V takovém případě nahlédněte do příslušných dokumentů.

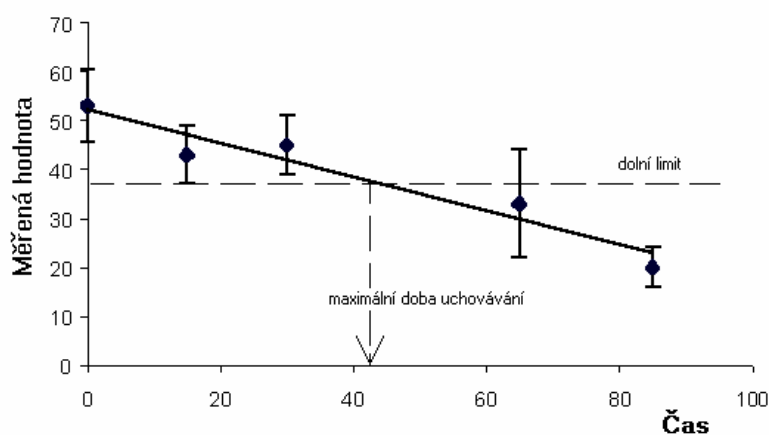
3.6 STABILITA VZORKU

Nezbytné je, aby měřený podíl vzorku měl stejné složení jako vzorek, který jsme převzali. Doba uchovávání je definována jako maximální interval, který smí uplynout od odběru vzorků do jejich měření dříve, než dojde k významným změnám vzorku. Doba uchovávání má význam v souvislosti se skladováním. Pokud hrozí rozklad, musí se měřit vzorky dříve, než u nich dojde k významným změnám. Dobu

skladování vypočteme, když skladujeme velký vzorek za normálních podmínek. V pravidelných intervalech odebereme zkoušené podíly a měříme duplicitně. Tak můžeme odhadnout výběrovou směrodatnou odchylku s ($s^2 = \frac{\sum d^2}{2n}$, kde d je diference mezi n duplikáty). Nejmenší rozdíl dvou naměřených hodnot, který je významný na hladině spolehlivosti 95 %, je $2\sqrt{2}$, což je přibližně $3s$.

Průměr duplikátních měření se vynáší proti času a body se proloží nejlepší přímkou. Nejdélší doba uchovávání odpovídá bodu, který odpovídá průsečíku přímky a počáteční hodnoty snížené o $3s$. Graf je znázorněn na obrázku 3.6.

Obrázek 3.6. Odhad doby uchovávání



Vždy je nutno se odvolávat na literaturu specifickou pro pracovní oblast.

Když je doba uchovávání nevhodně krátká, je třeba změnit podmínky skladování nebo v některých případech přidávat stabilizátor.

3.7 MANIPULACE SE VZORKEM

Po převzetí vzorku je třeba jej označit jednoznačnou identifikací, číslem nebo kódem a zaznamenat všechny podrobnosti o vzorku, které zahrnují i podmínky skladování. Pokud si vzorek předávají dvě osoby, musí to být plně dokumentováno. Zaznamenat se musí i podrobnosti o vzorkovnici a jejích uzávěrech, neboť mohou být nevhodné a ovlivnit výsledek analýzy.

Mezi odběrem vzorků a analýzou dochází vždy k řetězci událostí. Tento řetězec není pevnější než jeho nejslabší článek. Musíte být schopni poznat každý článek řetězce a rozhodnout, který z nich je nejslabší. Aby měl tento nejslabší článek na výsledek přijatelný vliv, musí být zpevněn.

Důrazně se doporučuje zkontrolovat vzorek co nejdříve po převzetí za předpokladu, že je znám účel a postup analýzy a že byl schválen. Je třeba zaznamenat podmínky a doby skladování.

Při navrhování strategie vzorkování se musí vzít v úvahu vlastnosti analytu jako jsou těkavost, tepelná stabilita a chemická reaktivita. S těmito faktory se musí počítat, abychom zajistili, že se před měřením nesníží kvalita vzorku.

Vzorky se musí skladovat tak, aby nepředstavovaly riziko pro personál. Musí se zachovat integrita vzorku, tj. vzorek musí být při analýze stejný jako byl při odběru. Nesmí nastat nebezpečí kontaminace nebo vzájemné kontaminace, tzn. že žádný materiál se nesmí dostat do vzorkovnice nebo ji opustit. Také je třeba vyvarovat se extrémů prostředí, v němž je uložen.

Podmínky, za nichž bude vzorek uložen, by měl schválit zákazník předem. Týká se to podle vhodnosti uložení ve skříni, ve skladu, chladničce, mrazničce nebo v chlazené místnosti. Volba závisí na vlastnostech vzorku a nutnosti chránit vzorek před světlem, zvýšenou teplotou nebo vlhkostí (viz tab. 3.7a). Někdy je pro kontrolu výkyvů teploty v průběhu skladování zapotřebí použít maximo-minimální teploměr. Pro zabránění nebo zpomalení degradace vzorku slouží řada fyzikálních a chemických metod (viz tab. 3.7b). Velice důležité je ověřit, zda nemůže metoda, jíž bráníme degradaci vzorku, ovlivnit jeho integritu.

Pro stopovou analýzu se musí všechny vzorky skladovat na místě fyzicky odděleném od analytických kalibračních standardů a dalších materiálů, které mohou obsahovat vysokou koncentraci analytu. Skladují se obvykle ve vyhrazené oddělené místnosti. Musí se přijmout taková opatření, která zabrání vzájemné kontaminaci mezi skladovými a laboratorními prostory, včetně převlékání laboratorních pláštíků při vstupu nebo odchodu ze skladu a jednorázových přilnavých rohoží, které zamezí přenášení materiálu mezi místnostmi na obuvi.

Většina analytů a matric je stálejší při nízkých teplotách, takže zmrazení je obvykle první volbou způsobu skladování. Při nízkých teplotách pod bodem mrazu (-18 °C) se většina enzymatických a oxidativních reakcí snižuje na minimum. V průběhu zmrazování a rozmrazování však může docházet ke změnám biologických materiálů. Tyto procesy porušují buněčné struktury. Některé ovoce a zelenina v průběhu rozmrazování změkne a zčerná. Z popraskaných buněk se může uvolňovat tekutina, která, pokud ji ignorujeme, může zhoršit homogenitu vzorku.

Tabulka 3.7a. Podmínky skladování analytických vzorků

Podmínky skladování	Vhodné typy vzorků	Nevhodné typy vzorků
hluboké zmrazení (-18 °C)	vzorky s vysokou aktivitou enzymů, např. játra většina typů vzorků méně stálé analyty	vzorky, které během tání kapalní vodné vzorky
chladnička (4 °C)	zeminy, minerály čerstvé ovoce a zelenina vodné vzorky	vzorky s pravděpodobnou enzymatickou aktivitou
pokojevá teplota (temno)	tuhé prachy a granule minerály stabilní analyty	čerstvé potraviny
exsikátor	hygroskopické vzorky	vzorky, které jsou hygroskopičtější než sušidlo

Vzorky, které nelze zmrazovat nebo které to nevyžadují, jako jsou půdy určené pro elementární analýzu, plasty, barviva a další, u nichž jsou analyty a matrice netěkavé a stabilní při teplotě prostředí, se obvykle skladují při 0 °C až 5 °C. Nemusí ani být zapotřebí vzorek chladit, neboť mnohé jsou stálé při pokojové teplotě. Na příklad výhody chlazení sušenek, které již ležely rok v supermarketu na polici, jsou zcela minimální.

Tabulka 3.7b. Fyzikální a chemické způsoby konzervování vzorků

Způsob konzervování	Příklady použití	Kritická hlediska
lyofilizace	chléb, pečivo apod. vodné vzorky	nevhodné pro těkavé analyty
ozáření	vodné vzorky biologické vzorky	stabilitu analytu je třeba zjistit
antioxidanty	kapaliny a roztoky	stabilitu analytu je třeba zjistit ověřit specifické vlivy interferencí
antikoagulanty	klinické vzorky a vzorky krve	ověřit specifické vlivy interferencí
autoklávování	sterilizace tělních tekutin	stabilitu analytu je třeba zjistit

U některých typů vzorků se používají příležitostně jiné metody konzervace. Lyofilizace je použitelná metoda konzervace sypkých materiálů se středním obsahem vlhkosti (jako strouhanka); je to také účinný způsob koncentrování vodných vzorků. Není vhodná pro těkavé analyty, např. rtuť, u níž může v průběhu lyofilizování docházet ke značným ztrátám. Ozařování vzorků k dlouhodobému skladování se používá zvláště tehdy, když je žádoucí ve vzorku minimalizovat bakteriální činnost, na příklad inhibovat růst plísní ve vzorcích vody. Do kapalin a roztoků se mohou přidávat antioxidanty, aby se prodloužila stálost nestálých analytů jako jsou vitaminy nebo nestabilní matrice jako rostlinné oleje.

Je třeba činit opatření proti úbytku nebo přírůstku vlhkosti a proti fotochemické degradaci tím, že se vzorky přechovávají v temnu nebo ve skleněných vzorkovnicích chráněných hliníkovou folií.

Všechny vzorky by se měly za normálních okolností před analýzou vytemperovat na teplotu místnosti. Opatrnost je zapotřebí u hygroskopických vzorků, které přibírají vodu, ať již během skladování v hlubokém mrazu nebo v chladničce, nebo při ohřívání zpět na pokojovou teplotu.

Před odjezdem k odběru vzorků je nutno myslet na to, aby typ vzorkovnice, její uzávěr a štítek vyhovovaly. O sklu můžeme předpokládat, že je to inertní materiál, ale nehodí se pro všechny vzorky.

Skleněné vzorkovnice mohou adsorbovat nebo desorbovat prvky. Z měkkých a borosilikátových skel se může uvolňovat sodík, ale měkká skla představují při analýzách stopových množství anorganických materiálů mnohem závažnější problém. Skleněné vzorkovnice se často čistí fosfátovými detergenty. I po vymývání kyselinou a několika oplaších vodou byly zjištěny vysoké koncentrace fosforu. Takže pro řadu stopových analýz nemusí sklo vyhovovat. Jiným běžně používaným materiálem je polyethylen. Polyethylenové láhve jsou vhodné pro většinu tuhých a vodných vzorků. Použijí-li se pro vodné roztoky, nedochází u nich – na rozdíl od skla – k vyluhování prvků jako Na, K, B a Si. Nejlepší výsledky získáme, když přidáme do láhví kyselinu před odebíráním vzorků vody. Pro vzorky uhlovodíků je naprosto nevyhovující nízkomolekulární polyethylen. Nejenže dochází ke ztrátám uhlovodíků, ale polyethylen se v nich též může rozpouštět.

Problematické jsou také vodné vzorky, v nichž se stanovují polykondensované aromatické uhlovodíky na úrovni ng.l^{-1} . Jsou známy důkazy o adsorpci uhlovodíků na skleněné povrchy. Problém se může výrazně omezit, pokud vložíme extrakční rozpouštědlo do vzorkovnice před odběrem vody.

Některé vzorky se mění během stání. Smetana se odděluje od vzorků mléka a máselné hrušky se musí před analýzou rozbít; je třeba korigovat na fermentaci laktosy na mléčnou kyselinu a na rozklad mléčných proteinů na amoniak.

Homogenity vzorku je možno testovat. Odeberte zkoušené podíly různých velikostí a proveďte u každého zvoleného objemu duplikátní měření. Pokud rozdíly mezi duplikáty rostou se zmenšujícím se objemem vzorku, pak lze předpokládat, že je materiál ke zkoušení heterogenní.

Ačkoliv je někdy zapotřebí některé vzorky před analýzou homogenizovat, jindy je lépe analyzovat fáze odděleně.

Někdy může být analyt ve zkoušeném podílu v suspensi namísto v roztoku, např. kovy ve strojním oleji. V takovém případě je zapotřebí primární vzorek před odběrem zkoušeného podílu vhodně promíchat (homogenizovat), aby nedošlo k sedimentaci. Kapaliny se též mohou při stání rozdělit do vrstev. Ve vzorkovnici proto musí zůstat dostatečný volný prostor pro protřepání.

Někdy nemusí být suspendovaný materiál analytem, ale jeho přítomnost může analyt ovlivňovat. Suspendovaný materiál může analyt adsorbovat, takže je nutno znát, zda byl vzorek filtrován a zda je tento proces pro interpretaci výsledků významný. Dříve než se rozhodnete zda filtrovat či ne, musíte vědět, k čemu je analytický výsledek zapotřebí.

Ideálně by mělo být dost vzorku i na visuální prohlídku. Výsledky pozorování by se měly zaznamenat, aby se postihly i případné změny.

3.8 PŘEDBĚŽNÁ ÚPRAVA VZORKU

Prvním krokem každé analýzy musí být příprava vhodného a reprezentativního zkoušeného podílu z původního přijatého vzorku. Tento krok může sestávat z řady fází: předběžné úpravy vzorku, míchání, mletí, drcení, krájení nebo filtrace, odvržení jeho části a ponechání dílčího vzorku vhodné velikosti; seznam možných operací je rozsáhlý. Nepřekvapuje proto, že jsou možnosti zavedení analytické nejistoty v tomto kroku rovněž rozsáhlé. Získání reprezentativního podílu ze vzorku je pravděpodobně nejvíce neurčitý stupeň většiny analýz; bezpochyby to platí i pro stopovou analýzu.

Vedle problému s reprezentativním nebo vhodným odběrem dílčího vzorku, což je další velký zdroj nejistoty ve stupni přípravy vzoru, je možnost kontaminace. Téměř všechny techniky přípravy vzorků vyžadují tak těsný fyzický kontakt mezi vzorkem a laboratorním zařízením (a analytikem), že je nebezpečí zavedení cizorodých látek do vzorku značné. V tomto stádiu hrozí také možnost ztrát analytu.

Některé postupy předběžné úpravy zaručují, aby byl dílčí vzorek dostatečně reprezentativní, jiné chrání analytika. Je to kritická fáze analytického postupu. Tyto přípravné postupy by se měly projednat se zákazníkem a měl by se získat jeho souhlas v průběhu zadávání práce, ještě před odběrem vzorků.

Tuhé látky

Zeleninu může být třeba očistit, oloupat a omýt z ní zeminu. Ovoce se může nebo nemusí loupat a/nebo vypeckovat. Z ryb a masa může být třeba odstranit nejedlé části jako kosti, popřípadě kůže.

Dalším příkladem často používaného postupu přípravy vzorku, pokud je analyt nerozpustný v nepolárních rozpouštědlech, je odstranění tuků. Lipidy obvykle interferují s mnoha analytickými postupy a proto se odstraňují na počátku analýzy, pokud možno promytím nepolárním rozpouštědlem jako je hexan. Odstranění tuku také napomáhá v následném pronikání rozpouštědla k extrakci analytu.

Zeminy se musí sušit za řízených podmínek, aby nedošlo ke změně chemického složení. Musíte pamatovat, že mikrobiální činnost může ovlivnit hladiny některých analytů jako fosforu a draslíku.

Kapalné vzorky

Kapaliny často obsahují sediment nebo jinou pevnou látku v suspensi. Přítomnost suspendovaného materiálu může ovlivnit analyt. Suspendovaný materiál může analyt adsorbovat, proto je nutno ověřit zda filtrace – pokud se používá – nemá na analytický výsledek významný vliv.

V některých případech se může analyt vyskytovat v suspensi spíše než v roztoku, např. kovy ve strojním oleji. Kapaliny se mohou též během stání rozvrstvit. Je proto nutné vzorek před odběrem podílu k analýze dostatečně protřepat.

Obsah vlhkosti

Extrakce analytu z komplexních matic, jaké představují potraviny, často závisí na obsahu vlhkosti a lipidů v matrici. Příprava vzorku proto může zahrnovat sušení (k odstranění nadbytečné vlhkosti), nebo rehydrataci za řízených podmínek relativní vlhkosti, aby se usnadnil prostup rozpouštědla.

Přídavek vody nebo použití směsi rozpouštědel s vodou je důležité pro extrakci jiných organických analytů z potravin nebo ze suchých potravin nebo dehydratovaných pokrmů. Zvláště je zapotřebí k usnadnění permeace rozpouštědla do lyofilizovaných vzorků.

Autoklávování a sterilizace

Mnoho vzorků, jako jsou tělesné tekutiny, představují pro analytika biologické riziko. Tyto typy vzorků se běžně analyzují v toxikologických a patologických laboratořích, jež mají postupy a metody k bezpečnému nakládání s nimi. Avšak i po laboratořích, které nejsou zvyklé zacházet s takovými vzorky, se může příležitostně požadovat jejich analýza, např. průzkum hladin polychlorovaných bifenyly v lidském mléku. V takových případech vzorky obvykle před jejich předáním analytikovi sterilizuje specializovaná smluvní organizace. Obvyklou technikou je autoklávování. Je proto třeba zjistit stabilitu analytů vůči tlaku a teple ještě před analýzami.

Redukce velikosti částic vzorku

U tuhých vzorků, o nichž se domníváme, že jsou heterogenní, se doporučuje co nejvíce zmenšit velikost částic, aby bylo možno odebírat reprezentativní podíly k analýze. Chyby vzniklé ve stádiu dílčího vzorkování jsou nepřímo úměrné počtu částic v dílčím vzorku. Proto čím větší je dílčí vzorek a čím menší jsou jeho částice, tím menší je v tomto kroku příspěvek chyby. Vzorky je také třeba drtit a leštit do určené míry pro určité techniky jako rentgenová fluorescenční spektroskopie.

Všechny postupy zmenšování velikosti částic nezbytně zahrnují těsný fyzický kontakt a obrus mezi vzorkem a přístrojem. Riziko kontaminace vzorku je proto v tomto kroku značné. Čím tvrdší je vzorek, tím abrasivnější je kontakt a tím více materiálu z přístroje kontaminuje vzorek. Vzorky jako horniny a rudy jsou nechvalně proslulé obrušováním drtičů. Specifikace konstrukčního materiálu přístroje musí být proto tím přísnější čím tvrdší je vzorek.

3.9 LITERATURA

1. Ingamells C. O.: Talanta **21** 141–155 (1974).
2. Ingamells C. O., Switzer, P.: Talanta **20** 547–568 (1974).

4 Příprava k analýze

4.1 VOLBA POSTUPU

4.1.1 Zdroje metod

Analytické metody mohou být a) kvalitativní nebo b) kvantitativní. Ty první s sebou přinášejí jen málo problémů, pokud pouze chceme zjistit, zda je analyt přítomen nebo ne – v žádném případě nezjišťujeme s jakoukoliv přesností jeho množství. Pokud se hledá negativní výsledek, tj. potvrzení nepřítomnosti ve výrobku, pak je třeba se obávat pouze dvou faktorů: schopnosti použitého testu detekovat přítomnost analytu (limit detekce) a schopnosti rozlišit mezi podobnými analyty (specifičnost). Do této kategorie spadají mnohé testy k potvrzení nepřítomnosti nečistot ve farmaceutických výrobcích. Stejně tak se s neznámými látkami dělají rychlé testy pro pozitivní potvrzení. Jejich výsledky se následně potvrzují jinými, kvantitativními testy. Kvantitativní metody se používají v různých situacích a je k nim možno použít řadu různých postupů. Vždy si však musíte pamatovat, že použitý postup musí být vhodný pro svůj účel.

Vhodné postupy spadají do mnoha kategorií. Lze je najít v řadě zdrojů:

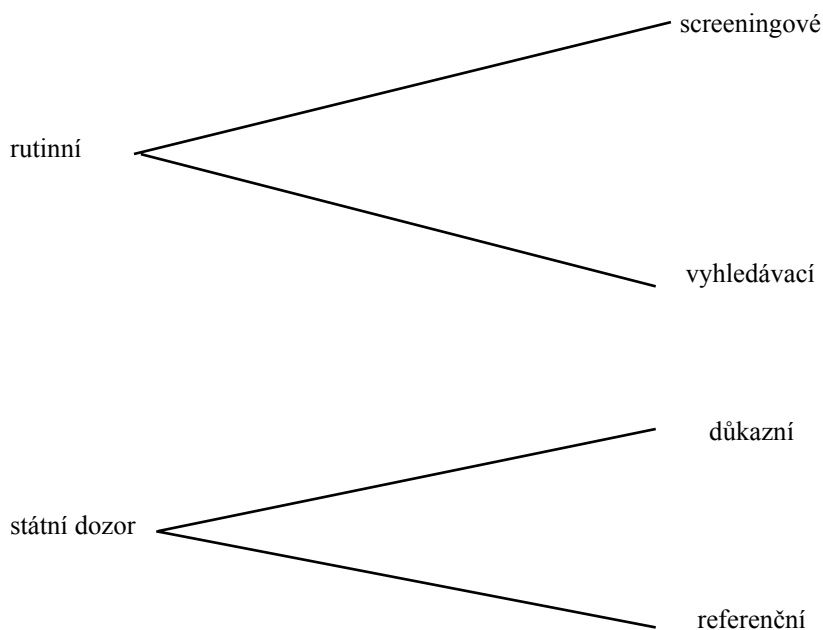
- vlastní postupy vyvinuté jednou laboratoří pro vlastní speciální použití
- postupy publikované ve veřejné vědecké literatuře, např. The Analyst, Journal AOAC International, Journal of the Association of Public Analysts, Journal of Chromatography, atd.
- postupy poskytnuté obchodními organizacemi
- postupy v knihách publikovaných odbornými organizacemi, např. The Royal Society of Chemistry (Analytical Methods Committee), Association of Official Analytical Chemists, APHA, AWWA
- postupy publikované normalizačními organizacemi, např. v ČR Český normalizační institut, v Evropě CEN, celosvětový ISO, v USA ASTM, v Británii BSI, atd.
- postupy, vydávané státními orgány, např. v EU The Fertilisers (Sampling and Analysis) Regulations 1991 (S.I. No. 973) H. M. S. O., EC Legislation

Podrobnost, s jakou jsou postupy validovány, se v seznamu zvyšuje odshora dolů. Validace znamená, že postup byl předmětem studie která prokázala, že při použití v uživatelské laboratoři poskytne výsledky vhodné pro očekávané použití. Validace se používá zvláště tehdy, když se vyvíjejí normy nebo mezinárodně uznávané postupy. Součástí jsou mezilaboratorní studie se zapojením analytiků, kteří pracují v několika samostatných laboratořích. Taková velmi pracná procedura nutně neznamená, že je metoda spolehlivější než je např. vlastní postup.

V oblastech stopové analýzy, kde se analytici snaží stanovit velmi nízké hladiny analytů (mg.kg^{-1} , $\mu\text{g.kg}^{-1}$) ve velmi složitých maticích, např. v životním prostředí, potravinářských nebo zemědělských výrobcích, je často nezbytné vyšetřit mnoho vzorků postupy, které mohou až po dokončení trvat od několika minut až po celý týden. K vyčlenění většiny vzorků, které neobsahují analyt v detekovatelném množství, se používají velice rychlé postupy, aby se nákladné zdroje mohly použít na vzorky, u nichž byl dokázán pozitivní obsah (presumptivně pozitivní). Rychlý postup je obvykle méně spolehlivý než ten, který trvá celý týden a pro nějž je zapotřebí velmi nákladná analytická instrumentace, např. hmotnostní spektrometr. V této oblasti je proto vhodné rozdělit postupy do dvou odlišných kategorií podle účelu analýzy a podle požadované spolehlivosti výsledků.

Rozdělení různých typů metod stopové analýzy uvádí obr. 4.1.

Obrázek 4.1. Typy metod používaných ve stopové analýze



Při výběru typu metody je třeba uvážit následující činitele:

- rychlost
- náklady
- falešně negativní
- falešně pozitivní
- mez detekce

- mez stanovitelnosti
- specifická
- validaci

Screeningové metody musí být velice rychlé a dovolovat velkou propustnost vzorků při nízkých nákladech. Malé množství falešně pozitivních výsledků (tj. kdy detekujeme analyt, který ve skutečnosti není přítomen) je přijatelné, protože budou vyloučeny v dalších zkouškách. Metoda musí být dostatečně citlivá, aby eliminovala falešně negativní (tj. kdy přítomný analyt není detekován). Tyto metody mohou být kvalitativní nebo semikvantitativní. V provozní laboratoři se validují jenom v oblasti meze detekce. Vyhledávací metody jsou velmi podobné screeningovým, bývají o něco pomalejší s menší propustností vzorků, ale poskytují kvantitativní výsledky. Specifická je lepší než u screeningových metod, ale nebývají jednoznačné.

Metody používané při státním dozoru jsou dvou typů: důkazní a referenční. První z nich se používají po pravděpodobné pozitivní identifikaci rutinním postupem a obsahují detekční systém založený na jiném fyzikálně-chemickém principu. K potvrzení identity lze použít též souběžnou chromatografii. Při ní se podíl extraktu vzorku obohatí známým množstvím čistého analytu. Roztok se pak dávkuje na kolonu a zvýšení píku musí odpovídat přídatku analytu. Je třeba počítat s případným ředěním vzorku. Referenční metody jsou plně validovány a testovány ve schválené kolaborativní studii, při níž se získala uspokojivá data o jejich výkonnosti týkající se správnosti a přesnosti.

4.1.2 Faktory rozhodující o výběru postupu

Poté, co jsme určili účel analýzy a vyhledali v literatuře vhodné metody, musíme se rozhodnout jaký konkrétní analytický postup použijeme. Následující oddíl popisuje faktory, které mají na výběr postupu vliv.

4.1.2.1 Mez detekce

Mez detekce určitého analytického postupu je nejmenší množství analytu ve vzorku, které může být detekováno, ale nemusí nutně být kvantifikováno jako exaktní hodnota.

Mez detekce, vyjádřená jako koncentrace c_L nebo množství q_L , je odvozena z nejmenšího množství x_L , které lze daným postupem detekovat s přiměřenou určitostí. Hodnota x_L je určena rovnicí

$$x_L = x_{bl} + k s_{bl}$$

kde x_{bl} je průměr slepých měření, s_{bl} je směrodatná odchylka slepých měření a k je číselný faktor zvolený podle požadované hladiny spolehlivosti.

Ve většině případů se mez detekce bere jako

$$3s_{bl} \text{ nebo } 3\text{krát poměr signál/šum.}$$

Obvykle to postačuje pro validování postupu, neboť to udává koncentraci, při níž detekce začíná být problematická. Předpokládá to, že signál převyšující o $3s$ hodnotu slepého stanovení pochází ze slepého pokusu méně než v 1 % případů a proto pravděpodobně odpovídá měřené veličině. Pokud slouží cíl práce správnému řízení nebo potvrzení shody se specifikací, může být zapotřebí přesnější přístup odvozený z testování hypotéz, vyjadřující mez detekce jako $4,65s$.

Mez detekce má zvláštní význam ve stopové analýze, kdy musíme rozhodovat, zda je kontaminant přítomen nad nebo pod legislativním limitem. Ideálně by měla být mez detekce nejméně jednu desetinu měřené koncentrace. Je-li na příklad pro olovo ve vodě z vodovodu legislativní limit $0,05 \text{ mg.l}^{-1}$, měl by být analytický postup schopen měřit až $0,005 \text{ mg.l}^{-1}$.

Někdy je třeba uvažovat **mez stanovitelnosti (kvantifikace)**, pokud je třeba nejen detekovat přítomnost analytu, ale i stanovit jej s dostatečnou statistickou určitostí. Mez stanovitelnosti určitého analytického postupu je nejnižší množství analytu ve vzorku, které je možno kvantitativně stanovit s potřebnou nejistotou. Může to být desetinásobek poměru signál/šum. Při kvantitativních stanoveních je třeba uvažovat správnost a opakovatelnost stanovení a směrodatnou odchylku stanovení slepých vzorků, které neobsahují analyt. Nejspolehlivější cestou k hodnotě meze stanovitelnosti bývá studie slepých vzorků s přidavkem analytu v koncentracích blízkých mezi detekce. Vypočítají se směrodatné odchylky s analytu při každé koncentraci přidavku k blanku. Vynáší se s proti koncentraci a mezní hodnota se zjistí pohledem.

4.1.2.2 Správnost

Správnost je kvalitativní pojem. V normách, zabývajících se jakostí měření, je uvedeno několik definic²⁻⁴. Odlišují se jen v detailech. Definice v ČSN ISO 5725-1:1997 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 1: Obecné zásady a definice zní: „Těsnost shody mezi výsledkem zkoušky a přijatou referenční hodnotou“. Pojem přesnost použitý na soubor pozorování představuje náhodné složky a složku obecné systematické chyby nebo vychýlení (bias). Dáváme přednost vyjadřování „správnosti“ výsledků v pojmech nejistoty, která je zhruba vyjádřena jako odhad rozmezí hodnot, mezi nimiž leží na určité hladině spolehlivosti skutečná (pravdivá) hodnota.

Ve stopové analýze často není vysoká míra správnosti důležitá, pokud je koncentrace znečišťující látky dostatečně pod povoleným limitem. Na příklad povolená residuální hladina fluoru v hotovém krmivu pro zvířata je 150 mg.kg^{-1} . Pokud je ve vzorku analýzou zjištěno 50 mg.kg^{-1} , nevadí, když je chyba analýzy až 100 %, protože úroveň kontaminace je stále hluboko pod povoleným maximem. Správnost je mnohem důležitější, když je koncentrace kontaminantu nebo povoleného aditiva v blízkosti povoleného maxima. Na druhou stranu stanovení obsahu zlata ve zlatém prutu vyžaduje vždycky vysokou míru správnosti (až 99,99 % skutečné hodnoty), pokud nemá docházet k velký ztrátám (nebo ziskům) peněz.

4.1.2.3 Přesnost

Přesnost je těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky zkoušek získaných za dohodnutých podmínek. Přesnost závisí pouze na rozdělení náhodných chyb a nemá žádný vztah ke správné hodnotě. Vypočítá se jako směrodatná odchylka výsledků zkoušek z opakovaných měření. Numericky znamená *velká* hodnota (číslo) přesnosti *malou* přesnost. Kvantitativní rozsah přesnosti kriticky závisí na dohodnutých podmínkách. Dvě krajní podmínky jsou opakovatelnost a reprodukovatelnost.

Mez opakovatelnosti (r) je hodnota, pod níž lze se zadanou pravděpodobností 95 % předpokládat, že leží absolutní rozdíl výsledků dvou jednotlivých zkoušek, získaných stejnou metodou se stejným zkoušeným materiálem za stejných podmínek (stejný analytik, stejný přístroj, stejná laboratoř a krátký časový interval), a neuplatňují se jiné pravděpodobnostní vlivy.

Mez reprodukovatelnosti (R) je hodnota, pod níž lze se zadanou pravděpodobností 95 % předpokládat, že leží absolutní rozdíl výsledků dvou jednotlivých zkoušek, získaných stejnou metodou se stejným zkoušeným materiálem za rozdílných podmínek (různí analytici, různé přístroje, různé laboratoře a/nebo v různých časech), a neuplatňují se jiné pravděpodobnostní vlivy.

Mezilehlá přesnost* vyjadřuje variabilitu uvnitř laboratoře v různých dnech, s různými analytiky, různým vybavením, atd. Obvykle jí dáváme přednost. Běžně se odečítá z regulačních diagramů.

Vysoká přesnost není vždycky zapotřebí. Pokud potřebujete pouze zjistit, zda obsah tuku v sušenkách je v rozmezí 20 % až 30 %, není nutná vysoká přesnost, pokud ovšem neleží výsledek těsně u hranice.

4.1.2.4 Rychlost

Když je třeba analyzovat hodně vzorků, je výhodná rychlá metoda, jíž získáme data rychle s minimálním úsilím a náklady. Po tomto předběžném průzkumu se můžete rozhodnout, zda

- a) není problém a proto není nutno pokračovat,

nebo

- b) jsou důkazy o nutnosti provést další stanovení. Může to znamenat použití stejného postupu s dalšími vzorky nebo alternativního postupu, který trvá déle, ale může se soustředit na selektivnější oblasti.

4.1.2.5 Potřebné vybavení

Zatímco může být metoda používající hmotnostní spektrometr pro studii ideální, musí laboratoř, když takové zařízení nevládní, zadat práci jiné laboratoři, případně sjednat se zákazníkem jiný postup. Neutronová aktivační analýza nebo

* Častěji se v češtině používají termíny *mezilehlá opakovatelnost* nebo *vnitrolaboratorní reprodukovatelnost* (pozn. překl.).

radiochemická měření vyžadují speciální vybavení, vyhrazené laboratorní prostory a postupy k zajištění bezpečnosti. Takové techniky je lépe ponechat specializovaným laboratořím.

4.1.2.6 Velikost vzorku

V mnoha oblastech průmyslu stejně jako v potravinářství a zemědělství nebývá množství vzorku limitujícím faktorem. Naopak v klinické chemii je tomu opačně, protože žádný pacient netouží darovat velké objemy krve kvůli analýze! Podobně v soudní praxi bývá množství materiálu vzorku omezené. Velikost vzorku souvisí s mezí detekce. Lepší meze stanovitelnosti lze někdy dosáhnout odebráním většího množství vzorku. Tento přístup má však své hranice. Když na příklad musíme rozkládat organický materiál oxidačními kyselinami, pak čím menší vzorek, tím lépe, protože rozklad probíhá rychleji a menší objem použité kyseliny poskytne nižší hodnoty slepého stanovení. Pokud je nezbytné použít velké množství vzorku, pak se mineralizace organického materiálu provádí lépe suchou cestou v muflové peci. Není-li analyzovaný vzorek homogenní, pak není vhodné brát příliš malý vzorek, neboť zkoušený podíl vzorku použitý k analýze nemusí věrně reprezentovat zkoušený materiál a může vést k chybným výsledkům.

4.1.2.7 Náklady

Většina analytických chemiků a jejich zákazníků je nutně zainteresována na nákladech analýzy. Zatímco hlavními faktory jsou lidské zdroje a náklady na vedení a udržování laboratoře, přispívá volba postupu k celkovým nákladům málo. Analýza jednoho vzorku se vždy účtuje výše než série šesti vzorků. Analýzy vyžadující techniky jako je hmotnostní spektrometrie nebo jaderná magnetická rezonanční spektroskopie jsou mnohem dražší než klasické techniky kvůli kapitálovým nákladům na používané zařízení a vysokou úroveň personálu, potřebného k interpretaci dat získaných těmito technikami.

4.1.2.8 Bezpečnost

Nutnost speciálního vybavení pro práci s neutronovou aktivační analýzou a k radiochemickým měřením byla popsána výše v oddílu 4.1.2.5. Na výběr metody mohou mít vliv i jiné bezpečnostní prvky. Můžete se na příklad chtít vyhnout postupům, které vyžadují použití toxických rozpouštědel jako benzen, některé chlorované uhlovodíky (např. tetrachlormethan, trichlormethan) nebo činidla jako kyanid draselný, pokud jsou ovšem k dispozici alternativní postupy. Pakliže se musí používat zákonné postupy, pak není vyhnoutí. V takových případech je nutně třeba, aby si byl personál plně vědom rizika a byl pod řádným dohledem. Při jakékoliv činnosti musíte udělat hodnocení bezpečnosti před zahájením práce a i nadále ověřovat, že se pravidla bezpečnosti dodržují, a znát požadavky legislativy.

4.1.2.9 Specifičnost

Musí se pečlivě uvážit míra, do níž se navzájem ovlivňují analyt a ostatní přítomné látky přítomné v matrici nebo z ní extrahované. Jak nutně si potřebujeme být jisti nedvojznačnou identitou analytu? Musíme se soustředit na použité izolační postupy na diskriminační schopnosti detekčního systému. Někdy je třeba otestovat systém s látkami, které mohou být přítomné a mohou rušit výsledek.

4.1.2.10 Vaše volba

Závěrem lze říci, že výběr metody závisí na několika faktorech. Vhodnost ke stanovenému účelu musí být ve vašich úvahách na prvním místě. Poslouží zvolená metoda dostatečně při rozhodování, které vás nad získaným výsledkem čeká?

Nyní byste měli mít v hlavě jasno proč se analýza dělá a čeho doufáte že dosáhnete. Také jste si udělali literární rešerši jedné nebo více metod nebo postupů o nichž se zdá, že by mohly vyhovět požadavkům z vašeho seznamu. Pro stanovení jednoho analytu lze často použít více než jeden postup.

Běžně používané metody stanovení stopových kovů jsou

- kolorimetrie
- atomová absorpční spektrometrie (plamenová a elektrotermická)
- induktivně vázané plasma – optická emisní spektrometrie

Další použitelné zahrnují

- anodickou stripovací voltametrii
- chromatografii iontů
- ICP-hmotnostní spektrometrii
- rentgenovou fluorescenci
- neutronovou aktivační analýzu

Je nutno si vždy v tomto stádiu pamatovat, že ať je stanovovaný analyt jakýkoliv, je vždy možno k jeho stanovení použít více odlišných metod. Váš problém je vybrat pro svou úlohu ten nejlepší přístup. Některé metody lze rychle zavrhnout, protože nemáme potřebné vybavení. Další zbylé metody nemusí splňovat určité požadavky. V takových případech bude nutno stávající postupy upravit. Takový upravený postup musí být validován, abychom se ujistili, že použité modifikace nedávají chybné výsledky.

4.2 VÝKONNOSTNÍ KRITÉRIA POSTUPŮ, POUŽÍVANÝCH KE STANOVENÍ KONCENTRACÍ ANALYTŮ V KOMPLEXNÍCH MATRICÍCH

V oddílu 4.1 jsme obecně diskutovali některé faktory, jež je třeba vzít v úvahu při výběru analytického postupu. Použijme nyní tyto zásady na konkrétní případ, jmenovitě stanovení residuí chemických látek používaných ve veterinární praxi k léčbě onemocnění zvířat a k prevenci rozvoje a šíření nemocí ve velkochovech, kde jsou zvířata držena uzavřená v malém prostoru. Takové látky mohou být podávány injekčně nebo orálně jako složka krmiva. Některé látky jsou metabolizovány a vyloučeny, zatímco jiné jsou částečně zadržovány v jedlých produktech jako mléko, vejce, maso a droby (játra nebo ledviny). Detekce a stanovení takových residuí je velmi obtížný analytický problém z následujících důvodů:

- hladina residuí je pravděpodobně velmi nízká, v oblasti $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Je proto zapotřebí velmi *citlivá* metoda detekce;
- používá se mnoho různých sloučenin a v mnoha případech analytik neví, jaký byl podán preparát;
- některé látky se v tkáních vyskytují v jiné formě než jaká byla podávána. Mohou být metabolizovány (tj. hydrolyzovány, oxidovány) nebo vázány na složky tkání;
- může být problém získat reprezentativní vzorek.

Proto je nutný postup intensivního předčištění nebo vyčištění prvotního extraktu. Navíc musí být použitý detekční systém velmi citlivý a vysoce selektivní, aby zajistil, že koextrahované analyty neposkytnou pozitivní signál.

Evropská unie rozhodla, že pro residua veterinárních léčiv je dostatečná úroveň správnosti a přesnosti na úrovni koncentrací od 1 mg.kg^{-1} do $1 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Tabulka 4.2a. Vztah mezi přesností a úrovní koncentrace

Obsah (hmotnostní podíl)	Variační koeficient (%)
$1 \mu\text{g.kg}^{-1}$	45
$10 \mu\text{g.kg}^{-1}$	32
$100 \mu\text{g.kg}^{-1}$	23
1 mg.kg^{-1}	16

Doporučené přesnosti a správnosti analytických metod ukazují tabulky 4.2a a 4.2b. Residua se málokdy vyskytují ve vyšších než uvedených rozsazích. Při opakovaných analýzách prováděných jedním analytikem nabývá variační koeficient C_V typicky jednu polovinu až dvě třetiny hodnot uvedených v tabulce.

$$C_V = \frac{\text{směrodatná odchylka}}{\text{průměr}} \times 100$$

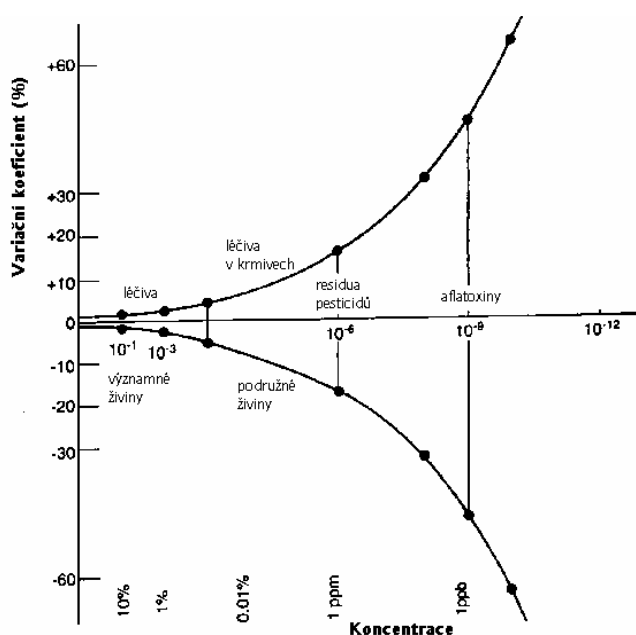
Tabulka 4.2b. Vztah mezi skutečným obsahem a přijatelným rozmezím

Skutečný obsah (hmotnostní podíl)	Přijatelný rozsah
$\leq 1 \mu\text{g.kg}^{-1}$	-50 % až +20 %
$> 1 \mu\text{g.kg}^{-1}$ až $10 \mu\text{g.kg}^{-1}$	-30 % až +10 %
$> 10 \mu\text{g.kg}^{-1}$	-20 % až +10 %

Všimněte si jak roste požadovaná přesnost, když se zvyšuje koncentrace analytu (tj. variační koeficient se zvyšuje se snižující se koncentrací). Uváděné hodnoty se vztahují na rozptýlení očekávaných výsledků, je-li daný vzorek analyzován ve více oddělených laboratořích. V jediné laboratoři bychom očekávali lepší přesnost, typicky jednu polovinu až dvě třetiny uvedených hodnot. Vyhodnocení výsledků z více než 200 mezilaboratorních studií, organizovaných Asociací úředních analytických chemiků Spojených států (AOAC) empiricky ukázalo, že je mezilaboratorní variační koeficient funkcí koncentrace⁶. Ukazuje to obrázek 4.2. Stanovení v různých laboratořích mohou vykazovat vysokou míru variability, protože se používají rozličné šarže činidel od rozličných výrobců. V mnoha případech bylo též použito různé vybavení, liší se schopnosti, výcvik a zkušenosti analytiků a vliv mají i různé podmínky prostředí, např. teplota, popřípadě vliv osvětlení.

Obdobně očekáváme mnohem přesnější výsledky při vyšších koncentracích analytu. Zatímco -50 % až +20 % se může jevit jako neúnosně velké rozmezí, vychází pouze z toho, čeho je možno v praxi dosáhnout. Dále si musíme uvědomit, že i právní limity jsou uváděny s velkou nejistotou, protože uváděné hodnoty závisejí na toxikologických hodnoceních. Analytik je stále v předstihu před toxikologem co se přesnosti a správnosti měření týká.

Obrázek 4.2. Mezilaboratorní variační koeficient jako funkce koncentrace



Pro úspěšné stanovení jsou rozhodující všechny kroky postupu. Hodně ale závisí na citlivosti a selektivitě detekčního systému použitého v závěrečném stádiu postupu. Proto se v mnoha případech volí detekční systém jako první. Následují extrakce a čištění, které mohou být ‚ušity‘ na požadavky zvoleného detektoru. Experti na určitou techniku často věří, že jejich technika může vyřešit všechny problémy světa. Ona opravdu může být schopna detekovat příslušný analyt, ale je *nejvhodnější* metodou pro detekci takového analytu?

4.3 CO SE MŮŽE POKAZIT?

Skutečnost, že byl postup publikován v renomovaném vědeckém časopise a proto prošel recenzí není žádnou zárukou, že bude v jiné laboratoři napoprvé fungovat bez problémů. I oficiální a legislativní postupy mohou přinášet problémy s tím, jak se mění v průběhu let technologie. Následuje proto seznam pro kontrolu, až se budeme snažit vylepšit výkonnost postupu. Některé problémy jsou charakteristické pro určitou techniku – ty pro některé běžně používané analytické postupy probereme nejdříve.

4.3.1 Klasické metody

Titrační metody často vyžadují, aby analytik nacvičil rozpoznání skutečného konce titrace; to platí i pro zkušeného analytika, který nějaký čas určité stanovení neprováděl. Je dobře mít srovnávací roztoky obsahující (i) přebytek a (ii) nedostatek činidla vedle titrační baňky. Alternativně může být vhodné kontrolovat konec titrace instrumentálně např. pH metrem nebo spektrofotometrem, abychom zlepšili správnost a přesnost. Musí se používat titrační činidla vhodné koncentrace, která jsou nezávisle kalibrována na primární analytické kalibrační standardy. U tuhých analytických kalibračních standardů kontrolujte obsah vlhkosti. Pokud je materiál stabilní při zahřívání, lze kontrolovat obsah vlhkosti tak, že zjistíme ztrátu hmotnosti po zahřátí, ochlazení a zvážení. Materiály tepelně nestálé je možno sušit ve vakuovém exsikátoru opatrnou evakuací. Komerční titrační činidla nemusí být spolehlivá a proto by se u nich měla kontrolovat čistota a koncentrace, pokud připadá v úvahu.

Gravimetrické postupy mohou působit problémy, pokud nejsou váhy kalibrovány, nebo sušárny a pece neprošly sledem kontrol, které prokazují, že jsou ve stavu shody s požadavky na jejich zamýšlené použití. Exsikátory musí být účinné. Sraženiny se musí opakovaně zahřát, ochladit a převážít, abychom měli jistotu, že jsme dosáhli konstantní hmotnosti. Pokud to není definováno v postupu, je třeba aby laboratoř definovala co se rozumí konstantní hmotností, např. konstantní hmotnost znamená ± 2 mg.

Ostatní příčiny chyb mohou povstat z koprecipitace nebo neúplné extrakce a z používání nečistých činidel.

4.3.2 Instrumentální techniky

Před zahájením analýzy musí být přístroj seřízený, stabilizovaný a jeho výkon optimalizovaný. Někdy může být třeba opatřit písemné instrukce nebo standardní operační postup. Několikrát denně musíte kontrolovat, zda není nutno korigovat posun základní linie, znečištění detektoru, odezvu na kalibraci a selektivitu. U spektrofotometrů se musí kontrolovat nastavení vlnové délky a stupnice absorbance při správně nastavené šíři štěrbin a pro každou sérii analýz se musí sestavit nová kalibrační křivka. Kyvety musí být čisté a mezi každým měřením opláchnuté demineralizovanou vodou a vhodným roztokem. Roztoky musí být průzračné (opticky čisté). Zkontrolujte to odstředěním při vysokých otáčkách. Musí se zjistit stabilita barvy v čase.

Při atomové absorpční spektrometrii mohou být kritické podmínky plamene. Musí se také dávat pozor na koncentraci kyseliny v roztocích a na používání ‚uvolňovacích‘ činidel. Kritické také může být všechno, co ovlivňuje atomizaci roztoku. Je proto třeba uvažovat možnou přítomnost organických rozpouštědel nebo detergentů, které mohou měnit viskozitu roztoku, který se vede do atomizátoru. Korekce na pozadí bývá zapotřebí zvláště při krátkých vlnových délkách pod 275 nm, na příklad pro Zn nebo Co.

Metody, které používají chromatografické techniky spoléhají, že kolony odstraní interference zbylých koextrahovaných látek a zajistí selektivitu/specifičnost detekčního stupně. U kolon dochází snadno k otravě a v důsledku toho k poklesu rozlišení. Prvky účinnosti kolon jako teoretická patra a K' se musí měřit a ověřovat kontrolními směsmi při každé vhodné příležitosti. K dosažení optimálního rozlišení může být nutné upravit průtoky oproti specifikacím v postupu. Analytik by se neměl nikdy úplně spoléhat na výšky a plochy píků vypočtených automatickými integrátory. Vždy je třeba vytisknout chromatogram a prozkoumat tvary píků a rozlišení. Koncentraci analytu v extraktu ověřte výpočtem jak z výšky píku, tak z jeho plochy. Proveďte test kochromatografií.

U přístrojů se nutně musí ověřovat, zda jsou schopny požadovaného měření. Často se přístroje používají na hranici svých schopností. Za těchto okolností je pravděpodobné, že je jejich výkonnost nižší než ve středu pracovního rozpětí. Pravidelné kontroly systému jsou nezbytností.

Kontrolujte možnou přítomnost chyb podle seznamu v kapitole 5.1

Přehnaně důvěřovat přístrojům a slepě brát výsledky, které z nich vystupují, je velmi snadné. Používání přístroje jako ‚černé skříňky‘, aniž bychom mu rozuměli nebo jej ovládali, je nebezpečné. Operátor musí stroj ovládat, ne naopak, jinak nemá kontrolu nad vznikajícími výsledky. To platí jak pro sofistikované (AAS, ICP-MS, atd.) tak pro velmi jednoduché (pH, konduktivita, atd.) zařízení.

Na závěr požádejte kolegu, aby vaše výpočty překontroloval.

4.4 VOLBA VYBAVENÍ A SPOTŘEBNÍCH MATERIÁLŮ

4.4.1 Prostředí

Je neštěstí, že se po řadě analytických chemiků vyžaduje, aby pracovali v laboratořích, které mají daleko do vyhovujícího stavu pro typ zkoušek, kterými jsou pověřeni. To v zásadě může ovlivňovat kvalitu výsledků, které produkují. Kvalitu analytické práce může ovlivňovat mnoho faktorů. Jedním ze základních požadavků při analýze vzorku, třeba při detekování velmi malých množství analytu, je vyvarovat se přítomnosti všech ostatních zdrojů analytu a potenciálně interferujících látek, které by mohly kontaminovat vzorek a zkreslit výsledek.

Některé možné zdroje kontaminace zahrnují:

- přístroje a vybavení, jež přichází do kontaktu se vzorkem,
- analytika,
- jiné analytiky,
- jiné vzorky,
- činidla a rozpouštědla,
- laboratorní ovzduší,
- laboratorní prostředí.

4.4.1.1 Faktory ovlivňující kvalitu

Laboratorní prostředí může ovlivnit kvalitu i jinak než kontaminací. Vlivy jako jsou vibrace, prach, sluneční světlo, záření, elektrické a magnetické pole spolu s výkyvy laboratorní teploty a vlhkosti mohou mít zcela subtilní vliv.

4.4.1.2 Projekt laboratoře

Když se laboratoř buduje s určitým cílem, bude asi navržena tak, aby se tyto problémy minimalizovaly. Někdy je však jejich odstranění velmi nákladné a projekt laboratoře obsahuje kompromis mezi náklady a redukcí jejich vlivů. Když se jedná o přeměnu stávající budovy, mohou být kompromisy mnohem závažnější.

Řadu těchto problémů lze přinejmenším redukovat malými změnami v laboratoři. Vliv slunečního světla lze omezit instalací žaluzií, klimatizace s filtrací vzduchu může stabilizovat teplotu a vlhkost a omezit množství prachu. Velké zdroje vibrací představují větší problém, i když je možno je omezit izolačním nábytkem.

4.4.1.3 Umístění přístrojů

Vedoucí laboratoře je při zařizování nové laboratoře postaven před úkol převzít laboratorní prostory se všemi jejich chybami a nedokonalostmi a umístit do nich různé kusy nábytku a zařízení tak, aby fungovalo co nejlépe.

Většina chemiků přijde do laboratoře až když je zařízena. Všechno je již umístěno – snad na správném místě. To se ale nesmí předpokládat. Soustavně špatná výkonnost určitého kusu zařízení by měla vyvolat u analytika otázku, zda nemůže být příčinou prostředí. Nejdříve je třeba si uvědomit, které vlivy prostředí vedou ke špatné výkonnosti dané metody nebo součásti vybavení.

4.4.1.4 Monitorování změn

V moderní laboratoři se často používají automatická čidla k detekci nežádoucích změn podmínek prostředí a k varování personálu. Základní laboratorní podmínky jako jsou teplota, vlhkost, prachové částice lze všechny monitorovat kontinuálně pomocí čidel. Výsledky se buď mohou zapisovat na liniových zapisovačích, nebo vstupovat do počítačových systémů řízení laboratoře, jež mohou činit nápravná opatření nebo rozeznít zvukový signál v případě, že dojde k překročení limitu.

4.4.2 Zařízení a nádoby

V tomto oddílu stručně rozebereme vybavení jiné než chemikálie, jež se musí v laboratoři používat, aby bylo možno provádět analýzy. V předchozím oddílu jsme viděli, jak vzájemně souvisejí vlastnosti vybavení a laboratorní prostředí a že musí být věnována péče například jeho umístění. V tomto oddílu předmět rozšíříme a probereme do větší hloubky.

4.4.2.1 Výběr

Při volbě určitého typu zařízení k určitému účelu se uplatňuje mnoho faktorů. Když vybíráte ze stávajícího zařízení, musíte uvážit vhodnost pro zamýšlený účel, stav, čistotu a někdy též zda funguje podle specifikace. Když kupujete nové zařízení, musíte se ujistit, že jste odhalili všechna jeho možná použití. Pak budete schopni sestavit specifikaci se zřetelem na vhodnost k použití, náklady (pořizovací a provozní) a snadnost používání. Méně zjevné faktory, které mohou být významné a závažné, jsou rozměry, hmotnost, požadavky na energii, pověst výrobce, dostupnost servisu a náhradních dílů.

Každé zařízení má svá omezení, na příklad množství látky, jež je schopno detekovat, nebo správnost a přesnost měření. Pokud se snažíte používat zařízení nad jeho schopnosti a nezáleží na tom, jak pečlivě jej obsluhujete, nebudou výsledky smysluplné. Vhodnost pro zamýšlený účel u určitého zařízení znamená, že má patřičnou výkonnost. To platí o všech typech zařízení, ať jsou velká nebo malá. Na příklad míchadlo musí vykonávat svůj stanovený úkol uspokojivě a přitom zůstat v podstatě inertní. K rozmíchání nějakých masivních krystalů v koncentrované kyselině je železo nepoužitelné, sklo nebo chromnikl mohou být vhodné podle typu a koncentrace minerální kyseliny a prováděné analýzy; preferovat budeme polytetrafluorethylen (PTFE).

Důležité jsou fyzikální detaily zařízení jako jsou rozměr a váha. Předpokládejme, že pracujete v laboratoři v prvním patře budovy, k níž je jediný přístup úzkým schodištěm. Koupili jste velké zařízení aniž byste si uvědomili jeho rozměry a váhu. Představte si problémy, když jej přivezou a ono neprojde hlavními dveřmi,

o schodech nemluvě. V každém případě pokud se vám podaří jej dostat do laboratoře, může se zřítit následkem zatížení podlaha.

4.4.2.2 Funkční podmínky

Dříve než jakýkoliv kus zařízení začneme používat, musíme ověřit zda je jeho stav přiměřený pro jeho používání. Je-li vhodný, nemáme problém. Není-li, co musíme udělat, abychom jej přizpůsobili? Jsou nějaké aplikace, pro něž se může použít v současném stavu nebo po částečné nápravě? Pokud zní odpověď na všechno ne, nemá význam si zařízení ponechávat a jeho odstranění přinejmenším zaručí, že je náhodou někdo nepoužije. Když věc lze opravit, ne však ihned, musí být označena např. „porouchané a čeká na opravu“, aby se nemohla omylem použít.

Sklo je zvláštní případ. Je obzvláště náchylné k poškození a jen v případě nákladných a komplikovaných věcí má oprava význam. Obvyklý postup je rozbité nádobí vyhodit. I malá poškození jako odražený okraj mohou mít za následek problémy, které mohou být drahé a nebezpečné, proto obvykle nestojí používání poškozeného nádobí za riziko. Odměrné nádobí by se mělo vyhodit i při sebemenším poškození, protože oprava nejspíše ovlivní objemové vlastnosti jako kalibrační značení, výtokovou rychlost apod. Kalibrace (a čištění) skleněného nádobí je důležitá, když např. jeho objem přímo ovlivňuje výsledky (kalibrační a titrační roztoky atp.).

Je třeba zmínit dva pojmy používané v tomto oddílu, „ověřený“ a „kalibrovaný“. Tyto pojmy se často používají nesprávně.

Kalibrace: Sled operací vytvářející za stanovených podmínek vztah mezi hodnotami indikovanými měřicím přístrojem nebo hodnotami, které představuje ztělesněná míra, a odpovídající známou hodnotou měřené veličiny.

Ověření: Potvrzení zkoušením a poskytnutí důkazu, že byly splněny stanovené požadavky.

Rozdíl je v tom, že kalibrace připouští stanovení chyby měřicího přístroje nebo přiřazení hodnot značkám na libovolné stupnici. Ověření měřidla je zase způsob kontroly, že jsou odchylky mezi hodnotami udávanými měřicím přístrojem a odpovídajícími známými hodnotami měřené veličiny přijatelné. Použití kontrolního závaží na vahách je ověření, že odečet na vahách je dostatečně blízký známé hodnotě, aby analytik mohl zařízení používat.

4.4.2.3 Čištění

Je to způsob údržby zvláště významný tehdy, když se zařízení používá opakovaně, ale je též vhodný k dekontaminaci zařízení používaného v nečistém prostředí.

Účelem čištění je zajistit, aby při používání nebo měření bylo riziko kontaminace z předchozích vzorků, chemikálií, kalibračních standardů nebo laboratorního prostředí minimalizováno. Ve většině případů proces čištění přidává další chemikálie do toho, co se čistí. Po čištění musí být zařízení dobře opláchnuto, aby se odstranily všechny zbytky čisticích látek, a následně osušeno.

Při čištění je třeba pečlivě sledovat, zda se postupem čištění nezpůsobilo více problémů než by způsobila kontaminace. Některé z potenciálních problémů jsou dosti zjevné, jiné jsou nenápadné, obzvláště když mohou chemické reakce způsobit na zařízení fyzikální změny. Na příklad práce s trubicovými viskozimetry závisí na kapilárních silách, které dále závisí na smáčivosti a povrchovém napětí. Čištění některými rozpouštědly nebo detergenty může způsobit nevratné změny smáčivosti povrchu kapiláry.

Čištění choulostivých přístrojů může způsobit poškození, která vedou k větším problémům než původní kontaminace. Pokud nejsou instrukce k čištění uvedené v návodu jasné a určené pro analytika, je lepší ponechat čištění na servisním inženýrovi. Když jste na pochybách, nechte to na odborníkovi.

Dalším zdrojem informací může být výrobce čisticího prostředku. Pokud jsou postupy čištění určeny pro důležité aplikace, musí být dokumentovány.

4.4.2.4 Sušení

Je třeba věnovat péči také sušení zařízení po jeho očištění. V principu existují čtyři způsoby sušení: fyzikální sušení absorbujícím materiálem, opláchnutí těkavým rozpouštědlem a vysušením při pokojové teplotě, odeháním rozpouštědla proudem vzduchu při pokojové teplotě, nebo konečně odeháním všech rozpouštědel při zvýšené teplotě. Poslední z nich je pohodlné a obvykle bezpečné. Většina laboratoří má komerční sušárny. To svádí k sušení veškerého nádobí tímto způsobem, jsou však dva případy, kdy je to nevhodné. Horká sušárna nebo jiný zdroj tepla se nedoporučuje k odstraňování těkavých organických rozpouštědel. Stejně tak by se nemělo sušit odměrné nádobí zahříváním. Sklo se zahříváním roztahuje a roztažení nemusí být úplně vratné. Proto je třeba se zahřívání vyhnout, protože se může stát, že se odměrné nádobí dostane mimo kalibrované tolerance. Mnohem vhodnější způsob sušení je proudem vzduchu; v případě organických rozpouštědel by mělo být nejbližší okolí dobře odvětráno nebo ještě lépe sušit v digestoři.

4.4.3 Chemikálie a spotřební materiál

Tento oddíl pojednává o správném používání chemikálií a jiného spotřebního materiálu, používaných ve spojitosti s chemickými analýzami. Obsahuje rady o rozpouštědlech, činidlech (látky, které mají specifickou úlohu nebo poskytují specifickou reakci jako součást chemické zkoušky), a dalších materiálech které se používají v chemickém zkoušení ale nejsou součástí chemických reakcí. Referenční materiály mají speciální úlohu. Pojednává o nich kapitola 5, oddíl 5.3. Pro ilustraci je dále uvedeno několik příkladů.

Činidla – redukující a oxidující činidla, indikátory, sušidla, tlumivé roztoky, komplexotvorná činidla, kyselé a zásadité materiály

Rozpouštědla – voda, organické kapaliny, superkritické kapaliny

Spotřební materiál – filtrační papíry, varné kamínky, Soxhletovy patrony, náplně do chromatografických kolon

Pro každou z těchto položek musíte počítat s řadou hledisek, jako je stupeň čistoty, označení, příprava, obal, uložení, bezpečnost, stabilita a likvidace. Jednotlivě je probírá následující oddíl. Většina rad se vztahuje i na vzorky.

4.4.3.1 Stupeň čistoty

Většina laboratorních chemikálií je dostupná v několika stupních čistoty, obvykle podle úrovně, do jaké jsou ověřovány nečistoty. Obecně čím čistší je chemikálie, tím je dražší. Katalogy uvádějí pro určitou chemikálii různé stupně čistoty spolu s jejími specifikacemi. Pamatujte, že specifikace nemusí udávat všechny přítomné nečistoty. Jejich původ může i nemusí být důležitý, podle toho, k čemu se bude chemikálie používat.

Například průmyslová výroba minerálních kyselin jako sírová, chlorovodíková a dusičná nutně vnáší malá množství kovů jako nečistoty. Pokud se má kyselina použít v jednoduché reakci pouze jako kyselina, je malé množství kovů nejspíše nedůležité. Na druhou stranu je-li kyselina určena k rozkladu vzorku pro stanovení stopových kovů atomovou absorpční spektrometrií, pak zjevně mohou mít malá množství kovových nečistot velký vliv na výsledky. Pro tento druhý účel se vyžadují kyseliny o vysoké čistotě bez obsahu kovů.

Obdobně mají řadu použití organické kapaliny. Na příklad hexan, který často obsahuje nečistoty jako jsou aromatické sloučeniny, se používá v řadě aplikací k extrakci nepolárních látek ze vzorků. Přítomnost nečistot v hexanu může i nemusí být pro taková použití důležitá. Pokud se má ale hexan použít jako rozpouštědlo pro ultrafialovou spektroskopii, bude v přítomnosti aromatických nečistot v UV oblasti méně propustný.

Někdy se přidávají k hlavní chemikálii další látky jako stabilizátory. Na příklad formaldehyd je v čistém stavu velmi reaktivní na to, aby vydržel jako formaldehyd libovolně dlouho. Stáním dimerizuje nebo polymerizuje. Běžně se prodává jako 40 % obj. vodný roztok se stabilizátorem methanolem (12 % obj.), což brání polymerizaci.

4.4.3.2 Značení

Značení je velmi významný prvek řízení laboratoře. Dobře navržené a používané štítky zaručují, aby byla uživatelům vždy zjevná identita činidel, standardů, materiálů, přístrojů a zařízení a jejich stav.

Použití štítků v laboratoři je téměř nekonečné. Co uvedete na štítku závisí na jeho účelu. Zlaté pravidlo říká, že na štítku by měla být jasná informace. To mimochodem znamená, že musí odolávat slunečnímu záření nebo rozlitém chemikáliím.

Chemikálie a spotřební materiál přijdou od dodavatele obvykle ve vyhovujícím obalu a vhodně označené. Za informace na obalu odpovídá dodavatel. Musí vyhovovat

alespoň minimu zákonných požadavků na obaly a označování. Typicky jsou na štítku obalu komerčně prodávaných chemikálií

- údaje o výrobcí
- totožnost obsahu (s alternativními názvy), chemický vzorec, molekulární hmotnost
- čistá váha nebo objem
- stupeň čistoty (a procento čistoty)
- číslo šarže
- datum expirace
- zvláštní podmínky skladování včetně teploty a vlhkosti, citlivost na světlo
- rizika a instrukce o způsobu likvidace (s předepsanými symboly a kódy)

Štítek může též nést další informace:

- zvláštní použití
- podrobný rozpis nečistot a jejich koncentrace

4.4.3.3 Přípravy

Velmi často je nutno připravit nějaké činidlo. Může se zdát, že je to triviální součást laboratorní práce, avšak jeho význam se často podhodnocuje. Je to běžný zdroj chyb, a vyplatí se věnovat trochu času a ujistit se, že jsou činidla a zvláště kalibrační roztoky připraveny správně. Platí velmi jednoduché zásady. Řiďte se dostupnými instrukcemi, všimněte si pozorně bezpečnostních pokynů, používejte řádně přístroje a přesvědčete se, co máte dělat ještě před začátkem.

Některé instrukce je snadné provádět chybně, pokud se nečtou pečlivě. Skončíte u jiných objemů a tím i koncentrací, když:

- a) vložíte 5 ml ethanolu do odměrné baňky a *přidáte* 100 ml vody;
- b) vložíte 5 ml ethanolu do odměrné baňky a *doplníte* vodu do 100 ml.

Může to vypadat jako samozřejmost, ale pro malé detaily je typické, že jsou špatně vyloženy při aplikování metody a jsou zřejmě zdrojem chyb. Podobně jsou instrukce pro vážení často ve tvaru

- a) navažte asi 1 g chloridu sodného,
- b) navažte přesně asi 1 g chloridu sodného,
- c) vezměte přesně 1 g chloridu sodného,

Všechny tyto výroky jsou rozdílné. Jemné rozdíly v instrukcích mohou způsobit velké rozdíly ve způsobu, jímž řešíte problém a mohou významně ovlivnit události, pokud se neřídíte správně instrukcemi. Funguje to oběma směry. Zjevně pokud něco vážíte přibližně když to má být přesně, dostanete se do problému, na druhou stranu když vážíte přesně zatímco postačuje přibližný výsledek, mrháte časem a úsilím.

4.4.3.4 Manipulace

Manipulace s chemikáliemi, činidly a vzorky je oblast, kde je nutná velká opatrnost, aby se předešlo kontaminacím. Na příklad sedíte před vahami, vážíte různé chemikálie do nádob pro přípravu roztoků činidel a používáte jenom jednu špachtli. Špachtle zjevně může být zdrojem kontaminace, pokud není před nabíráním další chemikálie dokonale očištěna. Podobně nesmíte nikdy vložit špachtli nebo pipetu přímo do původní láhve s činidlem nebo rozpouštědlem, protože to může způsobit kontaminaci, byť malou. Přibližné množství činidla nebo rozpouštědla se musí odlít z hlavní láhve do čisté kádinky. Potřebné množství se pak může odebrat z kádinky špachtlí nebo pipetou bez obav, že znečistíme hlavní zásobu. Veškerý zbytek v kádince se *v žádném případě* nesmí vrátit do hlavní zásoby, protože tím způsobíme kontaminaci. Tuto zásadu musíme uplatňovat ve všech situacích, kde se nesmí hlavní zásoba kontaminovat. Také se použije tehdy, když se něco opakovaně ředí. V takovém případě musíme dávat pozor, abychom nekontaminovali zpět řetězec kalibračních roztoků. Na špachtle, pipety, navažovací lodičky a další vybavení, které se opakovaně používá k různým úkonům, se vždy musí pohlížet jako na možné zdroje kontaminace a musí se mezi používáním vždy očistit.

4.4.3.5 Obaly

Vyskytují se v různých formách, jako láhve, sklenice, kanystry, ocelové láhve (na plyny) a mohou být vyrobeny z různých materiálů. Obaly se používají ve všech oblastech analytických měření, počínaje odběrem vzorku (na vzorky) nebo výrobou (chemikálie a spotřební materiály) přes měření až po likvidaci vzorků nebo činidel. Ve všech částech analytického řetězce je nanejvýš důležité, aby obal zůstal v podstatě inertní vůči svému obsahu. Obal musí chránit obsah proti kontaminaci zvnějšku a současně nedovolit, aby ovlivnil prostředí vně obalu.

Obal má v zásadě tři charakteristické součásti, které mohou být oddělitelné nebo neoddělitelné. Tyto tři součásti jsou samotný obal, štítek (obvykle a přednostně připevněný na obal) a uzávěr. Zazátkovaná nádoba s nalepeným samolepicím štítkem je příkladem obalu s třemi oddělitelnými součástmi. Polyethylenový sáček s matnou popisovací oblastí a zipovým uzávěrem je příkladem obalu s neoddělitelnými součástmi.

Výběr obalu je hlavně věcí rozumné úvahy. Seriózní výrobci dodávají obvykle chemikálie ve vhodných obalech. Musí-li se obsah přenést do jiného obalu, pak musí být pečlivě vybrán. V případě vzorkování musí vzorkař vědět proč se vzorky odebírají, jak se budou skladovat aby se nezkazily a jaká opatření se musí použít, abychom zaručili, že se nezkazí. Zvolený obal a uzávěr musí být čisté a vzhledem ke vzorku inertní. Uzávěr musí bezpečně uzavřít obsah v obalu.

Uzávěr musí účinně a bezpečně uzavřít obal, zatímco zůstává inertní vůči jeho obsahu. Inertnosti se často dosahuje použitím polytetrafluorethylenové (PTFE) podložky pod uzávěr. V některých případech lze použít ještě další způsob těsnění, když je obsah obalu buď nebezpečný nebo je třeba mít jistotu, že obal nebo jeho obsah nebyl porušen (na příklad soudní vzorky). Při přípravě vzorků v odměrném nádobí se dává přednost skleněným zátkám.

Na obaly se může použít řada materiálů podle budoucího použití. Tradičním materiálem je sklo, neboť je dosti inertní, zvláště sklo borosilikátové, a proto je vhodné ve většině případů. Významnou výjimkou jsou vodné roztoky odebrané pro stopovou analýzu kovů (vyjma rtuti), které se obvykle skladují v plastových láhvích. Pokud se použije sklo, můžeme stopové kovy ztratit adsorpcí na jeho vnitřním povrchu nebo se mohou ze skla vyluhovat kontaminanty. Sklo je též poměrně těžké a křehké. V případech, kdy je sklo nevhodné, mohou být plasty vhodnou alternativou. Jsou lehké a odolné. Některé plasty obsahují změkčovadla (jako organické ftaláty), které jsou poměrně reaktivní, zvláště vůči organickým rozpouštědlům. Přednost se dává polyethylenu a polypropylenu, z nichž druhý je více inertní, ale dražší. Oba nejsou plastifikované a jsou inertní k většině chemikálií, pevné, a jejich výroba je laciná.

Někdy se přidávají do vzorkovnic stabilizátory nebo fixační chemikálie. Jejich účelem je zabránit nežádoucí oxidaci, adsorpci, ztrátám způsobeným těkavostí, mikrobiální degradací nebo jiným chemickým reakcím.

Vhodné a uspokojivé označení obalu musí splňovat různé požadavky:

- a) musí být bezpečně připevněno k obalu, NIKOLIV k uzávěru,
- b) musí být dostatečně velké, aby se na něj vešly všechny potřebné informace,
- c) musí být dostatečně nesmazatelné nebo musí zabránit, aby se informace stala nečitelnou z důvodu polítlí nebo ušpinění.

4.4.3.6 Skladování

Když byl vzorek jednou odebrán, musí být vhodně uskladněn, než může být vzat k analýze. Podobně se musí chemikálie a spotřební materiál skladovat tak, aby se zachoval jejich stav a celistvost. Podmínky skladování musí být takové, aby v jejich průběhu nedocházelo ke změnám chemikálií nebo vzorků, ani k poškození jejich okolí. To za prvé znamená, že jsou v dostatečně těsnícím, jasně a jednoznačně označeném obalu. Uvnitř obalu může být konzervační prostředek, chránící obsah před rozložením. Typ obalu je určen vlastnostmi obsahu, jak jsme popsali v předchozím oddílu. Vzorkovnice se skladují podle potřeby ve skříní, skladišti, chladničce, mrazničce, chlazené místnosti. Místo závisí na vlastnostech vzorku, typicky jej chrání před světlem, zvýšenou teplotou, vzduchem, vlhkostí, prachem, napadením chemickým či mikrobiálním, nebo poškozením zvířetem.

Běžné je připravit kalibrační roztoky v odměrných baňkách a roztoky pak ve stejných nádobách skladovat. Protože jsou odměrné baňky poměrně drahé a křehké, takovou praxi nedoporučujeme. Ideálně by měly být před uložením připravené roztoky přeneseny do vhodné nádoby.

Pokud jsou věci uloženy těsně vedle sebe jako je tomu v chladničkách, mrazničkách nebo skříních, může nastat významné nebezpečí kontaminace. Určitě byste neměli ukládat vzorky na stejném místě s koncentrovanými roztoky kalibračních standardů nebo referenčními materiály.

4.4.3.7 Bezpečnost

Bezpečnost je v každé laboratoři velmi důležitá, i když se nepovažuje za formální součást postupů prokazování jakosti, pokud ovšem není nebezpečí, že by nedostatečná bezpečnost ohrozila jakost práce. Význam bezpečnosti spočívá v tom, že je součástí dobrých pracovních laboratorních praktik, které je třeba optimalizovat, abychom dostávali kvalitní výsledky. Mnohé chemikálie a některé vzorky, s nimiž se setkáváme v laboratoři, jsou nebezpečné. Musí se proto dodržovat určitá pravidla zajišťující, že je nakládání s nimi bezpečné.

Pokud je chemikálie zakoupena přímo od výrobce, může se analytik řídit údaji o nebezpečnosti uvedenými na štítku na obalu. Dnes je výrobce povinen na štítku uvádět informace o rizicích. To však neplatilo vždy a v laboratořích se používá mnoho láhví s čínidly, na nichž má označení daleko k dokonalosti.

Za situace, kdy analytik nemá možnost získat požadovanou informaci ze štítku, kde jinde se ji může dozvědět? Bezpečnostní listy lze pro každou chemickou látku získat od výrobce, rovněž by měla být informace uvedena v jeho katalogu. Pokud neuspějeme, je mnoho knih, které uvádějí vlastnosti chemických látek, včetně *Merck Index*. Když selže všechno ostatní, musí chemik předpokládat to nejhorší a zacházet s chemikálií s extrémní opatrností.

Bylo-li činidlo připraveno v laboratoři a není již ve svém původním obalu, musí zajistit chemik, který je připravil, aby štítek nesl všechny údaje o rizicích jak o samotném činidlu, tak o všech použitých rozpouštědlech.

Velmi často jsou údaje o původu vzorků doručených do laboratoře nejasné nebo neúplné. Pokud nelze získat o minulosti vzorku přesné informace, pak je nutno s ním nakládat s mimořádnou opatrností. Pokud se rozdělují dílčí vzorky nějakého vzorku do různých částí laboratoře, musí každý štítek každého dílčího vzorku obsahovat příslušné bezpečnostní varování.

4.4.3.8 Likvidace

Odpovědná likvidace chemikálií, vzorků a spotřebního materiálu je také důležitou součástí dobrých pracovních laboratorních praktik. Nařízení týkající se vylévání do kanalizace jsou velmi přísná. Některé chemikálie je možno vylévat přímo do odpadu a spláchnout je hojným množstvím vody. U jiných se musíme řídit instrukcemi k jejich zneškodňování. Instrukce se týkají sběru určitých typů chemického odpadu v obalech k likvidaci spalováním nebo uložením na skládku.

Ukládací prostory jako chladničky, mrazničky a skříně se musí pravidelně kontrolovat, aby se v nich nehromadily zbytečnosti. Čínidla a kalibrační standardy s proslou expirační dobou a vzorky, které není třeba dále uchovávat, se musí neprodleně odstranit. Nejlépe je, aby laboratoř vedla záznamy o tom, co bylo vyhozeno a kdy (a také pokud možno jak).

4.5 ÚDRŽBA A KALIBROVÁNÍ

Rozumně se předpokládá, že nové zařízení bude pracovat naplno. Jeho funkce se však rychle zhorší, když se nebude správně udržovat a kalibrovat.

Údržba vybavení může být buď preventivní nebo kurativní. Uživatel může provádět jednoduchou údržbu, avšak v mnoha případech je to odpovědnost výrobce, dodavatele nebo pověřené firmy. Používání takovéto profesionální údržby může být podmínkou trvání záruky a kutilské opravy mohou zrušit platnost záruky.

Preventivní údržba se dělá na základě smlouvy o pravidelném servisu. Jeho četnost závisí na povaze údržby. Je to určitý druh pojištění, způsob, jak zajistíme, aby se přístroj obecně „těšil dobrému zdraví“ a neobjevovaly se vleklé problémy. Nezaručí to ochranu proti náhlému selhání, i když někdy může smlouva s výrobcem pro případ havárie zajistit přednostní servis.

Údržba znamená, že technik je povolán jen tehdy, když se přístroj porouchal a uživatel jej nemohl opravit. Pakliže uživatel o přístroj během jeho používání nepečuje soustavně, může se stát, že dříve než k poruše dojde k úplnému zhroucení. Uživatel má tedy velkou odpovědnost, neboť musí zaručit, aby se s přístrojem nezacházelo špatně.

Preventivní údržba je tedy lepší způsob, jak zajistit, aby byly přístroje v dobrém stavu. Na první pohled se zdá, že je z uvedených dvou možností tou dražší. Dlouhodobě však, když počítáme s takovými faktory jako je životnost a časové ztráty při poruše, se může ukázat jako levnější.

V mezičase údržby zvenčí musí laboratoř sama provádět jednoduchou údržbu. Samozřejmostí je udržovat přístroj čistý, obzvláště rozlité chemikálie se musí ihned odstranit. Další jednoduché kontroly, které může dělat sama laboratoř, jsou obvykle uvedeny v manuálu.

Pravidelné kalibrace a verifikace zajišťují, aby bylo možno parametry měřené určitým přístrojem vztáhnout k uznávanému standardu.

Základní problém kalibrace je, aby zaručila návaznost na uznávaný standard, obvykle národní etalon. Odkaz na národní etalon umožňuje všem, kdo provádějí určité měření, aby jej porovnali navzájem. Rozhlasové časové signály poskytují vhodný zdroj pro kalibraci absolutního času i časového intervalu. Takové chemické materiály však neexistují, nejbližší je velmi čisté stříbro, jemuž se říká pětidevítkové stříbro s uváděnou čistotou 99,9995 %.

Moderní přístroje řízené mikroprocesorem mají často vnitřní „standard“. Přístroj si dělá při každém použití automaticky verifikační test. To může být zcela uspokojivé za předpokladu, že je standard vztážen na návazné kalibrační standardy. K tomu je obvykle třeba provést ruční confirmaci s použitím externího kalibračního standardu. Například test vnitřního závaží elektronických vah lze ověřit sadou kalibrovaných závaží.

Četnost konfirmací závisí hlavně na způsobu používání. Jednou z možností kontroly funkce přístroje je používání regulačních diagramů. Možné provedení je vynášením výsledků opakovaných měření kontrolního vzorku do vhodného grafu. Z grafu je možno odhadnout dobu, za jakou se hodnota obvykle dostává mimo rozsah, který považujeme za přijatelný. Interval mezi rekonfirmacemi musí být stanoven tak, aby byl dostatečně uvnitř této doby. Intervaly rekvalifikací zařízení a kontrol funkčních charakteristik jsou pro některé přístroje uvedeny v pokynu CITAC/EURACHEM⁷.

Pakliže odhalí konfirmační postup, že přístroj není v přijatelných mezích, je nutná nějaká forma nápravného opatření. To může znamenat buď nastavení přístroje, aby se dostal zpět do své specifikace, nebo korekci výsledků na vychýlení.

Patří k dobrým mravům konfirmační postupy pečlivě zaznamenávat. Když laboratoř pracuje podle nějaké normy zabezpečování jakosti, má obvykle na vedení takové dokumentace přísné požadavky. Vhodnost systému je velmi důležitý prvek měření; systém vsutku stojí na validitě testů. Dokumentace musí obsahovat informaci o použitém postupu a popřípadě uvést některé technické podklady, uvést kdy jsou zapotřebí nápravná opatření a jaká a jak má být postup zaznamenán. Na příklad odezva spektrometru na určitý kalibrační standard může být naprosto konstantní dokud přístroj pracuje správně. V případě poruchy detektoru poklesne odezva na kalibrační standard, což se odrazí ve snížení výsledků konfirmačního testu. Záznamy o kalibracích a konfirmacích se musí dokumentovat pečlivě a úhledně, protože vedle důkazu, že systém funguje, indikují také zhoršení výkonnosti a potřebu provést nápravná opatření nebo údržbu.

Laboratoř musí připravit pro každý přístroj plán kontrol výkonnosti, odůvodnit, proč jsou zapotřebí a uvést, jak se provádějí. Stručný návod lze nalézt v pokynu CITAC/EURACHEM⁷. Požadavky na verifikaci zařízení také zveřejňují akreditační orgány.

4.6 LITERATURA

1. Currie L.: IUPAC, Pure and Appl. Chem. **67**, 1699–1723 (1995).
2. ČSN ISO 5725-1:1997 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 1: Obecné zásady a definice.
3. ČSN ISO 3534-1:1994 Statistika — Slovník a značky. Část 1: Pravděpodobnost a obecné statistické termíny.
4. ČSN ISO 01 0115:1996 Mezinárodní slovník základních a všeobecných pojmů v metrologii.
5. Veterinary drug residues: residues in food-producing animals and their products: reference materials and methods. Ed. R. J. Heitzman, EUR 14126 EN (1992).

6. Horwitz W., Kamps L., Boyer K. W.: Quality Assurance in the Analysis of Foods for Trace Constituents, *J. Assoc. offic. Anal. Chem.* **63**, 1344 (1980).
7. Guide to Quality in Analytical Chemistry. An aid to accreditation, CITAC/EURACHEM 2002.
Český překlad: Kvalimetrie 12. Příručka jakosti v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci. Pokyn CITAC/EURACHEM. M. Suchánek, editor. EURACHEM-ČR, Praha 2003.

5 Měření

5.1 PŘÍČINY NESPRÁVNÝCH ANALYTICKÝCH VÝSLEDKŮ

Ještě dříve než budeme uvažovat jak lze zajistit, aby byla získávaná analytická data správná a aby vyhovovala požadovanému účelu, je dobře promyslet co se *může* pokazit. Bude pak jednodušší vytipovat, jak chybám předcházet. Práce se pokazí z jedné nebo více následujících příčin:

- nekvalifikovanost / nedostatečná péče
- nevhodný postup
- kontaminace
- interference
- chyby v kalibraci
- chyby vzorkování
- ztráty / rozklad

5.1.1. Nedostatečná kvalifikace

Lidé, kteří organizují mezilaboratorní zkoušky vám řeknou, že se vždy najde někdo, kdo odešle výsledky, které se významně liší od ostatních laboratoří – často řádově! Mnohdy je to způsobeno chybami ve výpočtu nebo opomenutím faktoru ředění, atd. Špatná laboratorní práce, např. uložení odměrných baněk na 200 ml a 250 ml vedle sebe může také vést k chybám, v tomto případě 50 ve 200, tj. 25 %! Mohou také nastat chyby v označování vzorků a zařízení používaného k analýze. Spektroskopická měření roztoků, které nejsou průzračné, budou falešně vysoká. Takových příkladů je mnoho.

5.1.2 Používané postupy

Chybné výsledky je možno získat i s prověřenými postupy, pokud se používají špatně, mimo ověřený kalibrační rozsah nebo s matricemi, které nebyly zahrnuty do původního procesu validací. Na příklad ve stopové organické analýze obvykle

působí potíže přítomné tuky. Umí se použitý postup vyrovnat s přítomností tuků? Je pro tuto určitou matici technika rozkladu přiměřená?

Někteří vezmou osvědčenou metodu a udělají v postupu nevelké změny, aby ji přizpůsobili okolnostem nebo svému pohodlí. Takové změny množství vzorku, poměru činidel, časů a teplot mohou být kritické a metodu učinit nepoužitelnou. Výsledky může také ovlivnit změna doporučené čistoty činidel. Obsah vlhkosti ve vzorku, činidlech, oxidu hlinitém pro adsorpční chromatografii, to jsou další příklady kde je zapotřebí opatrnosti. Míra, do níž lze postup modifikovat, se nazývá *robustnost* postupu.

5.1.3 Kontaminace

Je třeba znát, zda není analyt přítomen v laboratorním prostředí, činidlech, nebo v demineralizované vodě používané pro analýzy. To jsou možné zdroje kontaminací. Je to obzvláště důležité u nových stanovení. Také je třeba se přesvědčit, že vaši kolegové, kteří pracují blízko vás, nepoužívají chemikálie jež by mohly rušit vaše stanovení.

5.1.4 Interference

Matrice obsahuje vedle analytu mnoho dalších látek. Použitý postup musí rozlišovat mezi sledovaným analytem a ostatními látkami, které jsou též ve vzorku přítomny.

Obecné schéma analýzy, znázorněné v tabulce 5.1, ilustruje různé přístupy používané podle původu analytu a matrice. Stanovení anorganického analytu v anorganické matici, např. hliníku v hornině, vyžaduje klasické separační metody, nejspíše komplexaci a takové konečné stanovení, při němž se odstraní speciálními chemickými reakcemi interferenty, nebo spektrofotometrické měření při vlnové délce specifické pro stanovovaný analyt. Přesto je nutno prověřit, zda je postup schopen vyloučit interference ostatních prvků (nebo sloučenin).

Stanovení anorganického prvku v organické matici obvykle vyžaduje předběžnou úpravu úplným odstraněním organické hmoty buď mineralizací suchou cestou nebo oxidací kyselinami jako je dusičná, sírová nebo chloristá. Pak se problém mění na stanovení anorganického analytu v anorganické matici jako výše. Musíte mít na paměti, že ke ztrátám stopových prvků může docházet v průběhu oxidačních procesů buďto přeměnou na těkavé látky nebo adsorpcí na povrchy použitého zařízení.

Snad největší potíže vznikají při měření organického analytu v organické matici, protože v tomto případě není možno zamezit interferencím prvotním rozkladem matrice před jeho vlastním měřením. Je to proto, že bychom během tohoto procesu ztratili i sledovaný analyt. V této situaci se analyt nejdříve oddělí od matrice, obvykle extrakcí rozpouštědlem. Je-li extrakce neúplná, dostáváme nízké výsledky. Některé postupy dávají výsledky, které jsou jen 50 % skutečné hodnoty. V takových případech někteří analytici „opravují“ své výsledky pomocí koeficientu výtěžnosti. Když je extrakční systém natolik mohutný, že extrahuje 90 % či více analytu z matrice, je pravděpodobné, že v extraktu bude přítomno mnoho dalších složek

matrice (koextrahované látky). To zvýší pravděpodobnost nesprávných výsledků způsobených interferenty, pokud ovšem následně nepoužijeme vydatný čisticí postup a vysoce selektivní detekční systém.

Tabulka 5.1. Obecné schéma stanovení analytů

ANORGANICKÝ ANALYT		ORGANICKÝ ANALYT	
1. Anorganická matrice		1. Anorganická matrice	
(a) Oddělte analyt od ostatních anorganických analytů klasickými metodami, chromatografií na iontoměničích nebo komplexačními reakcemi		(a) Oddělte analyt od matrice extrakcí rozpouštědlem	
(b) Použijte specifický detekční systém		(b) Stanovte analyt např. GC-MS (plynovou chromatografií-hmotnostní spektrometrií)	
2. Organická matrice		2. Organická matrice	
(a) Rozložte matrici oxidací (mineralizací suchou cestou nebo anorganickými kyselinami)		(a) Oddělte analyt od matrice, např. extrakcí rozpouštědlem nebo v pevné fázi	
(b) Oddělte a stanovte jako podle 1 výše		(b) Oddělte analyt od koextrahovaných látek destilací, rozdělovací chromatografií	
		(c) Podle potřeby zkoncentrujte analyt	
		(d) Stanovte analyt specifickým detekčním systémem	

5.1.5 Kvalifikace zařízení

Běžné postupy zabezpečení jakosti/prokazování jakosti vyžadují, aby byly vlastnosti všech přístrojů, nádobí, pecí, vodních lázní, muflových pecí, vah, atp. v pravidelných intervalech verifikovány pomocí návazných standardů. Kalibrace odměrných roztoků a činidel, sestrojování kalibračních křivek, atd. jsou součástí doporučeného postupu. Je však nezbytné vkládat kontrolní vzorky jakosti do každé šarže nebo sady vzorků a nespoléhat na kalibrační křivku sestrojenou v dřívějších cyklech.

Kontroly zařízení a testování vhodnosti systému jsou obzvláště důležité a musí se provádět v každé sadě nebo každodenně. Když se provádějí absolutní měření, musí mít spektroskopické přístroje vlnovou délku potvrzenou návazným kalibračním standardem, např. při stanovení koncentrace vitamínu A nebo roztoků aflatoxinů. Odezva fotometru také vyžaduje potvrzení, ačkoliv jedná-li se pouze o relativní měření, postačí zaznamenat odezvy získané s roztoky známých koncentrací.

Blízká infračervená spektroskopie v rozsahu $14\ 000\ \text{cm}^{-1}$ až $3\ 600\ \text{cm}^{-1}$ je speciální případ, neboť žádný matematický zákon nevystihuje interakci záření rozptýleného materiálem složeným z heterogenní distribuce absorbujících složek. Proto jsou

odečty na přístroji arbitrární a vyžadují kalibrovat proti testovacím roztokům známého složení. Technika může být nicméně použita k rychlému stanovení přísad v potravinách nebo v krmivech. Vlhkost, proteiny a oleje v zrní se pohotově a rychle stanoví, když se matrice kalibruje alternativními standardními postupy.

5.1.6 Vzorkování

Žádná analýza, ať je jakkoliv pečlivě prováděná, nebude správná pokud není zkoušený podíl odebraný k analýze doopravdy reprezentantem zkoušeného materiálu.

Přesvědčete se, že jste obeznámeni s problémy a nebezpečími nastíněnými v kapitole 3.

5.1.7 Ztráty a degradace

Analyty se mohou ztratit v různých stupních analytického postupu z mnoha příčin. Některé jsou uvedeny níže:

- a) degradací teplem, oxidací
- b) ztrátami způsobenými těkáním při rozkladu nebo odpařování
- c) ztrátami plynoucími z adsorpce na površích, např. na skle, kelímcích. To platí obzvláště pro stopovou analýzu
- d) neúplnou extrakcí analytu z matrice

V posledním případě to může být fyzikální problém vyplývající z nedostatečného pronikání extrakčního rozpouštědla do matrice. Jindy může neúplná výtěžnost analytu pramenit z chemických vazeb mezi analytem a složkami matrice. To je zejména významné při stanovení léčiv v tělních tkáních, kde je známo, že dochází k vazbě na proteiny. Problémy tohoto druhu jsou popsány v literatuře. Když se vyvíjí nový postup, je nezbytné prozkoumat extrakční krok, např. použitím stopovacích izotopů.

5.2 VALIDACE ANALYTICKÝCH METOD

Nyní, když již znáte problémy spojené s používáním nových postupů ke stanovení nových typů vzorků, je čas se zamyslet kolik problémů lze překonat. Několik preventivních opatření, které mohou analytici dělat pro zajištění validity svých výsledků, je popsáno v následujících oddílech.

5.2.1 Replikace

Provedení analýzy několikrát za sebou (protiklad k pouze jednou) zajistí dvě věci. Za prvé, že postup funguje správně, tj. že je schopen poskytnout opakovatelné výsledky, a že analytik postupu porozuměl a provádí správně jednotlivé operace. Za druhé, že není velká chyba vzorkování za předpokladu, že replikační analýzy se provádějí na samostatných podílech vzorku (tzn. samostatné navážky každého vzorku), nikoliv replikační analýzy alikvotních podílů finálního roztoku. Samozřejmě to nevyklučuje

možnost, že se analytik dopouští pokaždé stejné chyby při kalibraci nebo v síle činidla, například. Je to však asi jednoduchý a nejdůležitější krok validace v případech, kdy není dostupný certifikovaný referenční materiál (viz dále). Těžké je odpovědět na otázku co myslíme provedením analýzy několikrát? Pokud by se měla použít statistická analýza, pak se musíte o počtu doporučených opakování poradit s vhodnou učebnicí nebo normou jakosti, např. ČSN ISO 5725-2:1997, oddíl 5. Často se doporučuje deset *nezávislých* opakovaných měření, jež poskytnou dostatek informací k výpočtu standardní odchylky opakovatelnosti.

5.2.2 Testy výtěžnosti

Když jsou původ a složení analytu jasně definovány, měl by se provést test výtěžnosti. Při něm se přidá známé množství analytu ke vzorku (běžně známé jako spikování). Analýza se pak provede před přidavkem a po něm, takže je možno spočítat výši výtěžku. Když je koncentrace přidavku příliš vysoká, nemusí výtěžnost reprezentovat nativní analyt (kontaminant), tj. adsorpční místa v matrici se mohou vysytit a udávaná výtěžnost bude příliš vysoká.

Co se považuje za uspokojivou výtěžnost závisí na typu analýzy. Lze očekávat výtěžnosti kolem 100 % při stanovení koncentrací hlavních prvků ve vzorku horniny, zatímco 50 % je často to nejlepší čeho lze dosáhnout u některých stopových kontaminantů, např. pesticidů nebo residuů léčiv v tkáních.

Jak jsme se zmínili dříve, jsou některé analyty zabudované přirozeně do matrice (např. residua léčiv v tkáních) chemicky vázány na složky matrice. Může být zapotřebí stanovit jak volný tak celkový analyt, a z jejich rozdílů analyt vázaný. V takových případech pouhý přidavek (nebo ‚spike‘, jak se mu běžně říká) ke vzorku nebo slepému matricovému vzorku nenapodobuje to, co se vyskytuje ve skutečnosti, a proto nemůže sloužit ke skutečnému testování postupu. Obzvláště to platí, je-li přidávaný analyt rozpuštěn ve stejném rozpouštědle, jaké se používá pro extrakci a analýza proběhne bezprostředně po přidavku. Doporučuje se proto přidávat analyt k matrici a ponechat jej v kontaktu s ní několik hodin nebo lépe noc před extrakcí, aby mohlo dojít k interakcím mezi analytem a matricí. Pro některé obory existují speciální doporučení, pro matrice ze životního prostředí se obvykle používá tříúrovňové spikování. Zvolené koncentrace musí být uvnitř rozsahu použitého postupu.

Alternativou, která je zřídka kdy dosažitelná v praxi, je použití značených analytů s podobnými chemickými a fyzikálními vlastnostmi jako má stanovovaný analyt.

Když máte určit celkovou koncentraci několika blízce příbuzných sloučenin, např. stanovení tuků v potravinách, nevede spikování obvykle k použitelným výsledkům. Používají se jiné techniky, jak je popsáno dále. Když postup obsahuje počáteční extrakci rozpouštědlem, může se opakovat dvakrát nebo třikrát se stejným materiálem, abychom si ověřili, zda není možno získat z matrice další materiál.

Když byl koeficient výtěžnosti stanoven, můžeme jej použít dvěma způsoby. Uveďte nalezenou koncentraci analytu a spolu s ní výtěžnost, řekněme 80 %, nebo upravte nalezenou koncentraci koeficientem výtěžnosti. Řekněme, že jsme našli

10 mg.kg⁻¹ a výtěžnost je 80 %, potom přepočítaná koncentrace, představující analyt v matici, je 12,5 mg.kg⁻¹ ($10 \times 100/80 = 12,5$). Kteroukoliv možnost použijete, musíte sdělit zákazníkovi, co jste s výsledkem udělali.

5.2.3 Slepý vzorek

Jsou dva typy slepých zkoušek. Za první pouze vezmete činidla a s nimi projdete celý postup přesně tak, jak je to v postupu popsáno. Slouží to jako kontrola kontaminace činidel; obzvláště je to důležité ve stopové analýze. Za druhé slouží jako kontrola kontaminantů v laboratorním ovzduší a vybavení včetně nádobí. Na příklad při stanovení nízkých koncentrací boru v hnojivech se nesmí používat nové borosilikátové nádoby, z něhož se může bor vyluhovat kyselinami, použitými k extrakci vzorku. Dále některé detergenty obsahují boráty, proto se musí nádoby po umytí pečlivě oplachovat demineralizovanou vodou. Slepé zkoušky takové problémy zvýrazní. Vysoké hodnoty slepých zkoušek (v porovnání s hodnotou vzorku) je třeba vždy pečlivě prozkoumat.

Druhý typ slepého vzorku používá k pátrání po interferujících látkách slepý maticový materiál (pokud je dostupný). Jsou to látky které se koextrahují s analytem a nebývají odstraněny použitými technikami čištění. Navíc protože jsou jejich chemické a fyzikální vlastnosti tak podobné vlastnostem analytu, nebude se k nim detekční systém chovat rozdílně. Proto se používá tento postup, aby se zjistily případné interferující látky a ověřila schopnost postupu je odstranit.

5.2.4 Alternativní postupy

Po dokončení analýzy a získání výsledku bychom měli zvážit, zda by se stejný analyt nemohl stanovit jiným postupem. Přednostně by to měl být postup založený na zcela odlišném fyzikálně-chemickém principu. Můžeme na příklad stanovit vitamín v potravinách a) kolorimetrickým postupem a b) HPLC a doufat, že se výsledky obou postupů budou těsně shodovat.

V chromatografii se obvykle používají kolony s různou polaritou, což je lepší než spoléhat se na jediný retenční čas. Při HPLC je možno někdy provést analýzu jak s normální fází, tak i s reverzní fází. Používají-li se reakční systémy před nebo za kolonou, je dobře opakovat nástřik s vypnutým druhým čerpadlem, abychom ověřili, že původně získaný pík nezmizel nebo se nesnížil. Když poskytnou různé postupy zpracování a různé detekční systémy stejný výsledek, pak je takový výsledek mnohem důvěryhodnější.

5.2.5 Alternativní detekce

Po běžné extrakci a čištění je možno zkoumat konečný roztok různými detekčními systémy. Na příklad po separaci GC lze často detekovat frakce dvěma detektory, FID (plamenový ionizační detektor) a ECD (detektor elektronového záchytu). Jelikož jsou tyto dva systémy založeny na rozdílných fyzikálně-chemických principech, je odhalení interferujících sloučenin mnohem pravděpodobnější. V anorganické analýze

je koncové stanovení koncentrace prvku možné kolorimetricky, atomovou absorpční spektrometrií, ICP-OES apod.

5.2.6 Referenční materiály

Použití referenčního materiálu, který obsahuje známou, certifikovanou koncentraci analytu, je základním testem metody a analytika. Referenční materiál má být tak blízko chemickému složení vzorku jak jen to je možné a měl by obsahovat analyt přibližně ve stejné koncentraci, jaká je přítomna ve vzorku. Vhodný referenční materiál mnohdy neexistuje. Avšak i když není možné dosáhnout přesné shody mezi referenčním materiálem a vzorkem, je použití nejbližší dostupného lepší než nic.

Důležité je, aby referenční materiál prošel celým analytickým postupem. To poskytne skutečný obraz schopnosti metody a zařízení. Dále jsou referenční materiály diskutovány v oddílu 5.5.

5.3 DOBRÁ LABORATORNÍ PRÁCE

Dobrá laboratorní práce (nebo správná vědecká práce) je termín použitý k vyjádření, jak by chemici a jistě i ostatní vědci měli provádět své každodenní činnosti. Pokrývá všechny typy činností jako bezpečnost, uspořádání, čistotu, péči, pečlivost, organizovatelnost a ukázněnost. Chemik, který má a uplatňuje tyto vlastnosti, obdrží správné výsledky s větší pravděpodobností než ten, který je nemá.

Chemici, jejichž práce nese charakter dobré laboratorní práce, přesvědčují, že rozumí své práci od jejího počátku. Vždy budou zvládat to, co dělají.

5.3.1 Před zahájením analýzy

Předpokládejme, že jste dostali za úkol analyzovat sady vzorků určitým, validovaným postupem. Zjevně se nevrhnete do práce po hlavě, ale nejdříve musíte naplánovat co se musí udělat a kdy a co byste k tomu měli mít.

Před zahájením práce musí chemik:

- lokalizovat vzorky;
- přesvědčit se, že má k dispozici platný výtisk postupu;
- přečíst si postup, pokud jej zevrubně nezná;
- ověřit, že jsou všechny potřebné přístroje dostupné a v dobrém stavu, čisté a správně kalibrované;
- naplánovat sled činností a náplň každého kroku. Zjistit, které kroky jsou kritické, zda je třeba dokončit analytický postup v jednom dni bez přerušení. Složitost metody může například limitovat počet vzorků, jež je možno zpracovat v sérii. Sestrojte na podepření svého plánu jednoduchý harmonogram;

- uvážit všechna rizika související s postupem a s používáním některých činidel. Uvážit všechny činitele, které mohou ovlivnit výsledek, jako dřívější či současné analogické činnosti, které by mohly být zdrojem kontaminace. Rizika nebo kontaminace určují, ve které části laboratoře by se měla práce udělat. Práce může započít jen tehdy, když jsou potřebné digestoře, rukavicové boxy a čisté prostory použitelné;
- je pro práci vymezena dostatečná a čistá plocha na pracovním stole, takže je možno volně rozložit pracovní náčiní;
- chemik musí mít potřebné ochranné oblečení, obvykle postačí pracovní plášť a ochranné brýle;
- připadá-li v úvahu zvýšené riziko, může být nutný dozor. Ostatní personál musí být informován o možných problémech. Musí být připraveny předem speciální pomůcky pro první pomoc;
- ověřit, že je potřebné nádobí čisté, neporušené a podle potřeby kalibrované. Potřebné nádobí je nutné soustředit před zahájením práce. Zjistěte všechna zvláštní opatření, která se týkají čištění laboratorního skla nebo jiného vybavení, např. odměrné nádobí se po čištění nesmí sušit v sušárně, neboť to může vést k trvalé deformaci a ztrátě kalibrace;
- ověřit, že jsou zásoby činidel, kalibračních standardů a referenčních materiálů dostatečné a v odpovídajícím stupni čistoty. Činidla a vzorky pro kontrolu jakosti, které vyžadují přípravu, se musí připravit předem. Pokud máme zásobu připravených činidel, musíme ověřit, zda jsou ještě použitelná. Všechna činidla musí být správně označena;
- naplánovat postupy likvidace například použitých vzorků, činidel a kontaminovaných zařízení;
- naplánovat postupy očisty zařízení.

Zlatým pravidlem je, že musíte mít jasno co budete dělat ještě před začátkem a mít všechno potřebné připraveno k použití. Snažte se organizovat práci tak, abyste měli dostatek času udělat každou její část beze spěchu. Odhadněte, jak dlouho bude každá část trvat a identifikujte kritické stupně.

5.3.2 V průběhu analýzy

Když jednou práce začala, je třeba uvážit následující:

- zjistěte detaily o každém vzorku, jeho stav a odkazy na připojené doklady;
- ověřte ještě před otevřením vzorkovnic, že vzorky mají správnou teplotu;
- odeberte vzorky a zajistěte, aby byl každý dostatečně označen v každém kroku analýzy, aby byl sledovatelný zpět k původnímu vzorku;
- pokud se používá přístroj vícekrát pro různé vzorky, zajistěte potřebné čištění mezi každým použitím, abyste zamezili vzájemné kontaminaci;
- pokud postup nestanoví jinak, je správný sled činností: potřebná kalibrace; je-li kalibrace uspokojivá, proveďte kontroly jakosti; pokud jsou kontroly

jakosti uspokojivé, proveďte analýzy vzorků. Když se vzorky analyzují v sériích, jsou během série nutné pravidelné kontroly kalibrací a jakosti;

- postupujte přesně podle písemného popisu postupu. Nenechte se svést ke zkracování – vede jenom k problémům a nevyhnutelně prodlouží analýzu;
- nepospíchejte – spěch končí chybami. Správné naplánování snižuje potřebu pospíchat;
- zaznamenávejte srozumitelně pozorování, data a neobvyklé detaily postupu, tak jak se to doporučuje.

Hlavním bodem k zapamatování je, že správné plánování před zahájením práce, pečlivá a soustředěná práce minimalizují problémy.

5.3.3 Po analýze

Po dokončení práce je třeba učinit následující:

- ze získaných dat vypočítejte požadované odpovědi, přičemž hledejte obvyklé chyby jako je nesouhlas duplikátních vzorků, pozitivní výsledky tam, kde očekáváme negativní, atd.;
- kontrolujte přenosy dat a výpočty, s výhodou někým jiným než osobou, která pracovala na úkolu. Kontrolující osoba nemusí být nutně starší než analytik, avšak musí rozumět principům toho, co kontroluje. Analytici v jedné skupině mohou kontrolovat svou práci navzájem;
- vzorky se musí uchovávat alespoň do té doby, než bude napsána vyhovující zpráva. Vzorek se může uchovávat i déle podle zásad laboratoře, nebo se může vrátit zákazníkovi nebo zlikvidovat. Každá likvidace vzorku se musí řídit bezpečnostními pravidly v laboratoři (a ta musí vyhovovat národní legislativě týkající se bezpečnosti);
- oblast laboratoře používaná k práci, příslušné vybavení a přístroje se musí dekontaminovat, očistit a ponechat pro další práci vyčištěné. Činidla a roztoky známých koncentrací používané pro kalibraci se musí, v případě krátké životnosti, zlikvidovat s nutným ohledem na bezpečnost.

Posledním poučením, které zde uvádíme, je, že v každém pracovním stupni je zapotřebí opatrnosti. I tehdy se mohou vloudit do přepečlivě prováděných měření jednoduché chyby, lze je ale odhalit křížovou kontrolou. Nesouhlasné duplikátní analýzy mohou být dobrým vodítkem k problémům celého měřicího systému. Důležitou součástí každé práce je úklid každého předmětu po použití a uvědomění si všech rizik, která jste mohli svou činností vyvolat. V kostce, zanechte všechno tak, jak byste si to přáli nalézt.

5.4 KALIBRACE MĚŘENÍ

Kalibrování přístroje (viz oddíl 4.4.4.2) nebo vybavení (např. nádobí) představuje porovnání měřené veličiny s hodnotou reference. Na příklad abychom kalibrovali

odezvu spektrofotometru, vybereme vhodný referenční materiál a měříme za stanovených podmínek jeho odezvu a porovnáme naměřenou hodnotu s hodnotou uvedenou v literatuře. Někdy je zapotřebí několik měření, na příklad měření odezvy řady různých koncentrací. Z tohoto souboru výsledků lze sestavit kalibrační křivku (odezva proti koncentraci). Pak se měří odezva přístroje na neznámé množství a ke stanovení hodnoty neznámého množství se použije sestavená kalibrační křivka.

Rozsáhlé použití ve vědeckém společenství má kalibrace s použitím artefaktů nebo materiálů s dokonale definovanými vlastnostmi. Ve fyzikálních měřeních mají základní jednotky (délka, hmotnost, čas, elektrický proud, termodynamická teplota a svítivost) podporu v zavedeném systému mezinárodně uznávaných etalonů, známých jako *primární standardy*. Protože slovo *standard* má v tomto textu tak mnoho významů, budeme v tomto kontextu používat slova (*primární*) *kalibrační standard* (ve smyslu kalibrant, etalon). Tyto kalibrační standardy se používají pro kalibraci materiálů s obtížněji definovanými vlastnostmi – těm říkáme *sekundární kalibrační standardy*, *přenosné kalibrační standardy* a *pracovní kalibrační standardy*. Pracovní kalibrační standardy se používají ke kalibraci měřicích přístrojů, používaných ke stanovení koncentrace určitého zkoušeného materiálu. Protože byl každý kalibrační standard porovnán se standardem postaveným v řetězci výše, každý s uvedenou nejistotou, je možné vztáhnout nejistotu měření přímo zpět k primárnímu kalibračnímu standardu. Tato schopnost odkazovat zpět k jedinému kalibračnímu standardu je známa jako *návaznost*. Kdekoliv je to možné, měla by měření vykazovat návaznost k národním kalibračním standardům. To je obvykle zřetelné u fyzikálních měření, ale u chemických měření se uznává, že to může být problematické.

Uvažte následující příklad:

Když vyzveme skupinu osob aby změřila délku nějaké čáry, každý svým vlastním pravítkem, získá každá osoba pravděpodobně trochu odlišnou odpověď, i když všichni pečlivě dodrželi postup měření. Příčina je ve způsobech, jimiž se pravítka vyrábějí a opatřují stupnicí. Pravítka mohou být ze dřeva, plastu nebo oceli, a každé z nich se mění se změnou atmosférických podmínek jinak. Pokud by ovšem mohla každá osoba porovnat stupnici svého pravítka s uznávaným „standardním“ pravítkem, aby mohla upravit výsledek svého měření korekčním faktorem, byly by pravděpodobně výsledky mnohem těsnější.

To byl jednoduchý příklad kalibrace. „Standardní“ pravítko je referencí, k níž mohou být ostatní pravítka vztažena nebo kalibrována. Měření každé osoby je proto navázané na „standardní“ pravítko. Použití kalibrace a návaznosti ke „standardnímu“ pravítku zlepšuje *porovnatelnost* měření.

Fyzikální kalibrace, např. hmotnosti, se v chemických měřeních používá běžně, zvláště používají-li se přístroje. Ke kalibrování se používá vhodný fyzikální standard a v mnoha případech je docela jednoduchá. Analytik má s chemickou kalibrací mnohem větší problémy.

Základní jednotka chemických měření je *mol* – *látkové množství*. V podmínkách praxe je téměř nemožné izolovat mol čisté sloučeniny. Sloučeniny s čistotou lepší než 99,9 % jsou vzácné. Jiným problémem je, že není vždy možné oddělit analyt od matrice a výkonnost chemického měření může na matici záviset – určitá odezva na

určité množství izolované chemikálie se může lišit od odezvy na stejné množství chemikálie v přítomnosti jiných chemických látek. Pokud lze izolovat všechny sledovaný analyt od doprovodné matrice vzorku, pak se může ke kalibraci použít čistá chemická látka. Míra, do níž se získat („vytěžit“) analyt z matrice vzorku, se určila jako součást postupu validace metody.

Chemické kalibrace proto dosahujeme dvěma cestami: za prvé použitím čistých chemických sloučenin, a za druhé použitím typických matric v nichž je množství přítomného analytu dostatečně určeno. Takové materiály jsou známy jako *matricové referenční materiály*.

5.5 CHEMICKÉ KALIBRAČNÍ STANDARDY A REFERENČNÍ MATERIÁLY

5.5.1 Referenční materiály

V předešlém oddílu jsme v tématu kalibrací uvedli koncepci používání chemických sloučenin (chemických kalibračních standardů) ke kalibracím. V tomto okamžiku bude vhodné uvést několik definic. Vůbec nejvíce jsou uznávané definice publikované Mezinárodní organizací pro standardizaci (ISO). Pokyn ISO/IEC 30:1992 uvádí následující:

Referenční materiál (nebo *RM*): Materiál nebo látka, jejíž jedna nebo více hodnot vlastností je dostatečně homogenní a dobře stanovená, aby mohl(a) být použit(a) ke kalibraci přístroje, posouzení měřicí metody nebo k přiřazení hodnot materiálům.

Certifikovaný referenční materiál (nebo *CRM*): Referenční materiál doprovázený certifikátem, jehož jedna nebo více vlastností jsou certifikovány postupem, který vytváří návaznost na správnou realizaci jednotky, v níž jsou hodnoty vlastností vyjádřeny, a jehož každá certifikovaná hodnota je doprovázena nejistotou na uvedené hladině spolehlivosti.

Chemické látky, používané ke kalibracím, jsou obvykle jednotlivé chemikálie s dobře charakterizovanou čistotou.

Certifikované referenční materiály mají pět hlavních způsobů použití:

- kalibraci a verifikaci měřicích procesů za běžných podmínek,
- interní kontrolu jakosti a programy zabezpečení jakosti,
- ověření správného používání normovaných metod,
- vývoj a validaci nových postupů měření,
- definování hodnot jiných materiálů, které se mohou používat jako sekundární kalibrační standardy.

Vývoj a charakterizace certifikovaných referenčních materiálů je nákladný proces. Proto se snahy o používání referenčních materiálů obvykle soustřeďují více na počáteční validaci postupu; málokdy je ekonomické používat referenční materiál pro rutinní kontroly jakosti, může se však použít ke ‚kalibrování‘ jiných, lacinějších sekundárních materiálů, které se mohou používat ke každodenním kontrolám jakosti.

5.5.2 Chemické kalibrační standardy

Chemické látky (chemické kalibrační standardy) se mohou ke kalibracím používat dvěma způsoby. Mohou se použít ‚externě‘, kdy se měří izolovaně od ostatních vzorků, nebo ‚interně‘, kdy se přidává ke vzorku kalibrační standard a kalibrační standard plus vzorek se měří jako jeden obohacený vzorek.

Četnost kalibrací se může značně lišit. Na jedné straně se mohou provádět jako pravidelná zkouška výkonnosti přístroje, jako druhý extrém se mohou provádět s každou sérií vzorků nebo dokonce s každým vzorkem samostatně.

5.5.3 Externí kalibrace

Zahrnuje používání jednoho nebo více kalibračních standardů připravených ve známé koncentraci. Koncentrace analytu se kvantifikují tak, že se standardy analyzují se vzorkem. Chemické kalibrační standardy v jedné koncentraci lze používat ke zjištění velikosti odezvy přístroje (očekávaná změna měřeného signálu proti změně koncentrace analytu). Chemické kalibrační standardy v několika koncentracích (obvykle nejméně pět včetně slepého vzorku) se používají k sestrojení kalibrační křivky. Odezva na danou koncentraci se proto rovná směrnici křivky v daném bodě. Když je křivka sestrojena, může se použít ke stanovení koncentrace analytu ve vzorcích odčtením z křivky v bodě odpovídajícím naměřené odezvě. Při používání těchto křivek pamatujte, že nesmíme předpokládat, že křivka prochází bodem 0,0, pokud neprokážeme měřením slepého vzorku, že tomu tak je. Výpočet koncentrací z kalibrační závislosti je možné pouze v koncentračním rozsahu mezi nejvyšší a nejnižší koncentrací kalibračního standardu. Nesnažte se extrapolovat na žádnou stranu za konec rozsahu. Pamatujte, že jsou výsledky nejpřesnější uprostřed křivky.

Použití externích kalibračních standardů je vhodné pro mnoho aplikací. Ideálně by měly mít chemické kalibrační standardy matici odpovídající vzorku, což zajistí, že jejich odezva na měřicí proces je stejná jako u vzorků. Někdy mají příprava vzorků a měřicí proces své vnitřní chyby, které mohou působit ztráty analytu. V takových případech by, pokud je to jen možné, měl být chemický kalibrační standard podroben stejným procesům jako vzorky, takže se ztráty projeví shodně u vzorků i u standardu. Někdy se projeví velké chyby, když se dávkuje vzorek nebo standard přímo do měřicího stupně. Příkladem je ruční dávkování malého objemu do kapilárního plynového chromatografu. Dávkovat opakovaně stejný objem vyžaduje velkou zručnost. Není neobvyklá 10% až 50% variabilita. Problém se odstraní, když je standard přítomen přímo ve vzorku. Poměr analytu k standardu pak již nezávisí na velikosti nebo technice nástřiku. Tyto problémy se většinou odstraní použitím vnitřní kalibrace.

5.5.4 Vnitřní kalibrace

Zahrnuje přidání chemického kalibračního standardu přímo do vzorku, takže se standard a vzorek měří fakticky současně. Vnitřním standardem může být buď přímo analyt nebo blízká látka. Ta se obvykle vybírá tak, aby nebyla přítomna ve vzorku, ale aby se chovala v měřicím procesu podobně jako analyt. Pakliže se příbuzná látka přidá v počátečním stádiu měřicího procesu, jsou všechny ztráty v průběhu procesu stejně pravděpodobné jak u standardu tak u analytu. Proto není třeba upravovat výsledky např. z důvodu nízké výtěžnosti. Příbuzná sloučenina přidaná ke standardu a vzorku se používá např. proto, aby se předešlo problémům s variabilitou dávkovaných objemů.

Některé postupy používají postup známý jako „standardní přídavek“. Znamená to, že je vnitřní standard stejný jako analyt. Přidává se známé množství k roztoku vzorku. Je jasné, že když je vnitřní standard stejný jako analyt, pak abychom stanovili hladinu analytu ve vzorku musíme měřit vzorek dvakrát; jednou bez standardu a jednou s přidaným standardem. Přídavek standardu, který je stejný jako analyt, se také nazývá „spikování“. V takovém případě je koncentrace původního analytu X dána následující rovnicí:

$$X = \left[\frac{(Y A C)}{\{B - (D A)\}} \right]$$

kde Y je koncentrace přidaného vnitřního standardu,

A je odezva neznámé koncentrace analytu

B je celková odezva neznámé koncentrace analytu plus přidaného standardu,

$$C = \frac{(\text{objem}_{\text{standard}})}{(\text{objem}_{\text{vzorek}} + \text{objem}_{\text{standard}})}$$

$$D = \frac{(\text{objem}_{\text{vzorek}})}{(\text{objem}_{\text{vzorek}} + \text{objem}_{\text{standard}})}$$

Vnitřní standardy se běžně používají ve vysokých koncentracích a přidávají se v malých objemech v porovnání s objemem vzorku. V těchto případech, kdy je objem vzorku mnohem větší než objem přidávaného standardu, přechází C na C' :

$$C' = \frac{(\text{objem}_{\text{standard}})}{(\text{objem}_{\text{vzorek}})}$$

Tím se zjednoduší výraz pro X , protože D se blíží 1.

$$X = \left[\frac{(Y A C')}{(B - A)} \right]$$

C' je ve skutečnosti ředící faktor kalibračního standardu.

Žádná z uvedených kalibračních technik nezohledňuje rozdílné chování vzorku a standardu způsobené maticovými efekty vzorku nebo různým stavem analytu ve vzorku a ve standardu. Ideálně by měl projít standard stejným analytickým procesem jako vzorky, přesto ale, pokud je analyt zadržován pevně v matici vzorku, nemusí být při analytickém postupu jeho uvolnění úplné. To je třeba si při návrhu analytického postupu pamatovat. Někdy je třeba provést vhodnou detailní studii výtěžnosti, abychom ověřili, jak snadno je analyt z matrice uvolnitelný.

Přídavek (spikování) vzorku roztokem sledovaného analytu je také účinný způsob potvrzení přítomnosti analytu. Při plynové nebo kapalinové chromatografii není neobvyklé, že matrice vzorku ovlivní chromatografii tím, že způsobí změny retenčního času píku analytu a standardu. Nemusí být proto jisté, jestli je pozorovaný pík vzorku vyvolán analytem nebo nějakým jiným artefaktem. Spikováním vzorku standardem analytu a změřením retenčního času obohaceného píku to lze potvrdit.

5.6 ŘÍZENÍ JAKOSTI

Řízení jakosti se týká opatření používaných k zabezpečení jakosti výsledků. Použité úkony se různí podle konkrétní aplikace. Je to možno ilustrovat na jednoduché metodě stanovení obsahu jodu v tabletách. Metoda je velmi jednoduchá. Odebere se známá hmotnost každého vzorku a izoluje se jod, který se pak titruje thiosíranem sodným o známé koncentraci. Konec titrace se určí škrobovým indikátorem.

Mezi opatření, která lze použít k zajištění spolehlivých výsledků, patří následující:

- kalibrování roztoku thiosíranu na uznávaný primární standard, aby byla známa jeho přesná koncentrace;
- titrování slepých vzorků činidel – titrace činidel použitých ve stupni zpracování, avšak bez přítomnosti vzorku. To prokáže, zda nebude reagovat s thiosíranem sodným jiná látka než jod;
- titrování vzorků obsahujících známá množství jodu, abychom zjistili, zda se dosahuje 100 % výtěžnosti;
- analýza duplikátních vzorků, abychom ověřili, zda jsou výsledky konsistentní.

Jaké kroky řízení jakosti ve skutečnosti podniknete odvisí od analytického problému, který máte řešit. K výběru připadají v úvahu následující opatření:

- blanky
- kontrolní vzorky jakosti
- opakované vzorky
- slepé vzorky
- referenční materiály
- výtěžnosti

Ještě dříve než rozhodnete o detailech, je vhodné krátce uvážit proč je řízení jakosti zapotřebí. Používá se jako prostředek ke kontrole práce, abychom zjistili, zda analytický systém funguje správně. Když provedeme vícekrát stejné měření, nemůžeme očekávat, že pokaždé dostaneme přesně stejnou odezvu. Mezi odezvami bude určitá variabilita, pocházející z malých (a přijatelných) variací analytického systému. Řízení jakosti se používá ke sledování, zda jsou pozorované fluktuace výsledků přijatelné a způsobené očekávanou variabilitou metody, nebo zda je vyvolala nějaká nepříjemná změna. Opakované měření kontrolního vzorku jakosti (viz oddíl 5.6.2) patří mezi nejčastěji používaný systém monitorování. Statistickou teorii řízení jakosti se zabývá podrobněji oddíl 6.2 o regulačních diagramech.

5.6.1 Slepé vzorky

Slepé vzorky (blanky) se používají jako prostředek ke zjištění, která část měření neodpovídá měřené veličině. Ideálně by měl být blank svým složením tak blízký složení vzorků jak je to jen možné, avšak bez analytu. Na příklad můžete rozpustit vzorek v dusičné kyselině abyste v něm mohli analyzovat stopu mědi a niklu atomovou absorpční spektrometrií. Stejně jako obsahuje vzorek stopy těchto kovů, je docela možné, že i samotná kyselina obsahuje stopy stejných kovů. Při slepém stanovení by se proto měla analyzovat samotná kyselina – bez přítomnosti vzorku. Ideálně by se měla ověřit všechna činidla, která se použijí při zpracování vzorku, abychom se ujistili, že neovlivňují měření. Analýze všech činidel bez vzorku se říká slepý vzorek (činidel) [reagent blank].

5.6.2 Vzorky řízení jakosti

Vzorky řízení jakosti (QC) se používají jako prostředek studia změn uvnitř série a mezi sériemi během určité analýzy. Kontrolní vzorky jsou referenční materiály, tj. materiály, které byly plně charakterizovány buď v laboratoři nebo třetí stranou a které jsou statisticky homogenní. Od typického kontrolního vzorku se vyžaduje stabilita, homogenita, dostupnost ve velkém množství postačujícím pro delší časové období zaručujícím kontinuitu, a aby složením odpovídal běžným zkoušeným vzorkům. Stabilita musí zaručit, že variabilita výsledků analýzy je způsobena variabilitou analytického postupu a ne složením kontrolního vzorku. Variace výsledků měření kontrolního vzorku se běžně sledují v regulačním diagramu, viz oddíl 6.2.

5.6.3 Opakované vzorky

Opakované vzorky nepředstavují natolik formální kontrolu jako konvenční kontrolní vzorky jakosti. V analytickém procesu se mohou vzorky analyzovat jednou, dvakrát, třikrát, atd. Opakovaný vzorek je normální vzorek, později opakovaný buď ve stejné sérii vzorků nebo popřípadě v jiné. Studuje se variabilita mezi dvěma sadami výsledků s cílem ověřit, že je v rozumně přijatelném rozmezí. Variabilita vyšší než očekávaná (například variabilita větší než udaná opakovatelnost postupu) indikuje, že je v analytickém systému pravděpodobně chyba. Analytik to zjistí, používá-li pravidelně opakované vzorky.

5.6.4 Tajné kontrolní vzorky

Tajné kontrolní vzorky jsou typem opakovaného vzorku, který se vkládá do analytické série aniž by o něm analytik věděl – analytik může vědět, že jsou tajné kontrolní vzorky přítomny, neví ale, které to jsou. Tajné kontrolní vzorky může doručit zákazník, aby zkontroloval laboratoř, nebo management laboratoře, aby zkontroloval určitý systém. Výsledky tajných kontrolních vzorků se zpracují stejně jako výsledky opakovaných vzorků – zákazník nebo manažer vyhodnotí soubory výsledků jak je uvedeno v oddílu 5.6.3 aby zjistil, zda je pozorovaná variabilita přijatelná.

5.6.5 Chemické kalibrační standardy a přídavky (spiky)

Chemické kalibrační standardy mají v chemické analýze dvě využití. Na prvním místě se mohou používat k ověření, že přístroj pracuje každodenně správně. Tento typ testu se obvykle nevztahuje na konkrétní vzorky a je přísně vzato spíše prokazováním jakosti než řízením jakosti. Za druhé se chemické kalibrační standardy používají ke kalibraci odezvy přístroje. Mohou se měřit odděleně od vzorků (externí kalibrační standardy) nebo jako součást vzorku (interní kalibrační standardy). Zabývali jsme se tím v oddílu 5.5.

6 Práce s daty a zprávami

6.1 ŘÍZENÍ DOKUMENTACE

Dokumentace je důležitým prvkem managementu laboratoře. Dokumentů je několik typů. Zahrnují všechny činnosti, tj. organizační schémata, standardní operační postupy, seznamy přístrojů, instrukce a záznamy vztahující se k určitému vzorku nebo smlouvě. Taková dokumentace se týká každého prvku laboratorní činnosti. Ukazuje, co se událo, co se děje a co se podle očekávání má stát. Dohromady představují záznam událostí. Dobrý systém vedení dokumentace je základní součástí dobře vedené laboratoře a je základem účinného systému jakosti.

6.1.1 Záznamy

ZÁZNAM je kousek informace uchovávaný trvale nebo dočasně na nějakém médiu (jako je papír, fotografický film, počítač, video nebo audiopáska). Pro účely tohoto popisu netvoří záznam mluvené slovo, pokud není nějakým způsobem zaznamenáno. V následujícím pokynu se diskuse zaměří na papírové záznamy (stále převažující typ). Na ostatní typy záznamů se však vztahují stejné principy.

Účelem záznamu je umožnit vyhledání nezkreslené informace podle potřeby. Záznamy musí být takové, aby v budoucnu mohl kdokoliv přesně vysledovat co se dělalo.

Záznamy se používají v laboratořích z mnoha důvodů: monitorování, kontrolování, komunikování a dokazování.

Druhy záznamů, které se nacházejí v laboratoři, odpovídají čtyřem typickým činnostem:

- **nakupování** – objednávky, faktury, dodací listy, seznamy, účetní doklady,
- **laboratorní postupy** – analytické metody, pravidla kalibrování přístrojů, postupy údržby a čištění, záznamy o školení, postupy pro zaznamenávání stížností zákazníků, řízení jakosti,
- **komunikace mezi laboratoří a zákazníkem** – požadavky na analýzy, odhady nákladů, pracovní příkazy, analytické zprávy, faktury,

- **analytická činnost** – laboratorní deníky a listy, analytická data, regulační diagramy, záznamy o kalibracích.

Jak jsme se zmínili výše, je zjevně mnoho typů záznamů pro mnoho různých účelů. Abychom měli jistotu, že záznamy plní účelně svou funkci, je zapotřebí systém pro jejich vytváření, identifikaci, kopírování, používání, odstraňování, změny, uchovávání a archivování. Ve věku široce používaného počítačového zpracovávání textu je vytvoření takového systému relativně snadné.

6.1.2 Tvorba dokumentů

Laboratoř musí zajistit, aby stanovila pro každý typ dokumentu pravidla, vymežující správný a nesprávný způsob jeho tvorby. Je to nutné proto, aby se dodržela shoda mezi jednotlivými typy a aby dokumenty vždy obsahovaly potřebnou míru informací ve formě, jíž lze snadno porozumět. Takovému způsobu vytváření dokumentů, jež nazýváme ‚formát‘ nebo ‚uspořádání‘, dáváme přednost. Pokud byste požádali několik osob, aby dokumentovaly určitý postup, zděsili byste se, jak rozdílné výsledky byste obdrželi. Je to proto, že různí lidé mají zcela odlišný pohled na to, co považují za důležité a co je pro ně samozřejmé. Vytvořit dobré a srozumitelné postupy nebo záznamy, které by mohl kdokoliiv další používat, je problém. Abychom to uměli dělat dobře, je zapotřebí školení a praxe. Práce s předem odsouhlasenými formáty tento proces zjednoduší.

Správně uspořádat obsah dokumentu je jednak důležité, jednak obvykle docela obtížné. Je vhodné ponechat vytváření určitých typů dokumentů na určitých ‚expertních‘ osobách. Například analytické metody a postupy se musí psát tak, aby byl obsah snadno pochopitelný. Informace v těchto postupech sdělované musí být bezpečné, jednoznačné a dostatečně podrobné, aby kdokoliiv postup používá pochopil, co se od něho požaduje.

Za vytváření určitého dokumentu, na příklad dokumentace postupů, může odpovídat více jednotlivců. Aby se zaručila jednotnost, pověřuje se běžně jedna osoba souhrnnou odpovědností za vydávání dokumentu v použitelném tvaru.

Pro laboratoř je pohodlné navrhnout, vydat a používat k zaznamenávání výsledků, pozorování a dalších analytických dat předem vytištěné formuláře. Má to řadu výhod. Zajistí to jednotnost, s jakou se zaznamenávají výsledky a provádějí výpočty, usnadní školení personálu, zjednoduší to kontroly a odhalování chyb.

6.1.3 Identifikace dokumentů

Důležitou součástí každého systému řízení dokumentace je schopnost učinit záznam a poznat co to je, co obsahuje, kdo jej vytvořil a kdy, jestli měl příslušné oprávnění, zda je obsah stále platný, stupeň zabezpečení, právo ke kopírování a celistvost.

Většinu z toho lze splnit umístěním jednoduché identifikace na každou stránku. Zbytek splní katalogy a seznamy.

Katalogy dokumentů se používají k soupisu jejich historie, k identifikaci platné verze, kdo je oprávněn vytvářet a doplňovat konkrétní typ dokumentu, atd.

Každá stránka dokumentu musí nést následující informaci:

- název (obvykle plný titul na první stránce a zkrácený tvar na následujících stránkách),
- číslo verze,
- datum,
- číslo stránky (z celkového počtu – DŮLEŽITÉ),
- stupeň zabezpečení.

Navíc musí mít titulní stránka podrobnosti o

- zákazu kopírování,
- schvalující osobě,
- rozdělovník,
- číslo kopie (celkový počet výtisků).

Zmíněné detaily lze snadno vložit pomocí textového editoru.

6.1.4 Kopírování dokumentů

Tento oddíl by se měl spíše jmenovat zákaz kopírování! Když si někdo dělá kopie dokumentů bez oprávnění, je to recept na chaos. Obzvláště to platí, pokud se základní dokumenty pravidelně revidují. Rozmyslete si následující příklad.

V laboratoři se používá deset samostatně číslovaných kopií postupu, které se přechovávají centrálně v zásuvce. Analytik si pro své pohodlí udělá několik neschválených kopií postupu. Postup zastará a vydá se jeho novela, zastaralé oficiální verze se vyjmou ze zásuvky a na jejich místo se vloží 10 výtisků novely. Toto vše se odehraje, když je analytik s fotokopii na dovolené. Fotokopie zastaralé verze se neodstraní, protože jenom onen analytik ví, kde jsou. Po návratu z dovolené pokračuje analytik v práci podle staré verze a blaženě ignoruje novelu. V tom okamžiku se používají dvě verze postupu.

Z tohoto příkladu plynou různá poučení. Kromě nutnosti mít na dokumentech zákaz kopírování je třeba uplatňovat pokyny, které zajistí dodržování zákazu. Analogicky může být vhodné omezit přístup ke kopírovacím zařízením.

6.1.5 Řízení dokumentace

Toto jen podtrhuje lekci z předchozího oddílu. Systém používání různých dokumentů se musí definovat v doplňkových instrukcích, které se vydávají podle potřeby. Za to, že se používá správná verze dokumentu, odpovídá uživatel. Odstraňovat nebo měnit

dokumenty smí jenom osoba s potřebnou pravomocí. Pokud tak učiní, musí zajistit, aby se oznámení o změnách dostalo k uživatelům. Záznamy často obsahují důvěrné informace, což lze zvýraznit vhodným označením stránek. Uživatelé odpovídají za zachování této důvěrnosti, tj. že citlivé dokumenty se nebudou povalovat tak, aby si je mohly nepovolané osoby přečíst.

6.1.6 Ukládání a archivace dokumentů

Prostory, v nichž se dokumenty uchovávají, musí splňovat požadavky na zachování důvěrnosti, celistvosti a racionálního vyhledávání. Je třeba myslet na náchylnost dokumentů k poškození ohněm (a teplem), zaplavením (a vlhkem), elektrickým nebo magnetickým polem, prachem, rozpouštědly, slunečním nebo jiným zářením.

6.2 GRAFY

Pokud se výsledky nějakých měření zaznamenávají v delším časovém intervalu, vzniká mnoho dat. Takové monitorování má význam jen tehdy, když lze získané výsledky interpretovat. Jedním z neúčinnějších způsobů nahlížení na data je sestavení regulačního diagramu. Uživatel může v diagramu definovat varovné a regulační meze, které slouží jako „poplašný zvonec“ v okamžiku, kdy se systém vymyká regulaci. Regulační diagram je jednoduše graf, do něhož se v časovém sledu vynášejí hodnoty něčeho, co měříme, na příklad po sobě jdoucí hodnoty získané měřením kontrolních vzorků jakosti. Vynesením těchto informací do diagramu dostaneme graf, z něhož lze pohotově hodnotit fluktuace měřené veličiny.

Tato knížka má jenom omezenou možnost popsat regulační diagramy a statistickou teorii, na níž jsou založeny. Dále jsou stručně popsány některé jednoduché aplikace spolu se zjednodušeným vysvětlením statistiky. Pro podrobnější informace se zainteresovaný čtenář odkazuje na specialisované knihy o tomto předmětu, normy jakosti nebo některé texty zabývající se obecnými problémy¹⁻³.

Jak jsme se již zmínili, následná měření vlastnosti určitým postupem vykazují přirozenou variabilitu vyplývající z postupu. Soubor výsledků neboli *populace* má střední hodnotu neboli *průměr* a hodnoty jsou nejčastěji rozděleny symetricky kolem průměru *normálním* neboli *Gaussovým rozdělením*. Distribuci hodnot kolem průměru určuje *směrodatná odchylka*. Statisticky je pro člena populace nepravděpodobné (5% pravděpodobnost), aby se vyskytoval ve větší vzdálenosti od průměru než 2 směrodatné odchylky a velmi nepravděpodobné (0,3% pravděpodobnost), aby se vyskytoval ve větší vzdálenosti od průměru než 3 směrodatné odchylky. Proto bude vždy 95 % ležet uvnitř ± 2 standardních odchylek od střední hodnoty, 99,7 % bude ležet uvnitř ± 3 standardních odchylek od střední hodnoty. Každé další měření se musí chovat stejně a ležet uvnitř těchto hranic. Pokud tomu tak není, nastala pravděpodobně v měřicím systému nějaká změna, která významně změnila jeho výkonnost a způsobila posunutí průměru nebo zvětšení směrodatné odchylky. Účelem grafu je tuto změnu zviditelnit. Rozhodnout, zda je nebo není tato změna významná, musí uživatel.

6.2.1 Shewhartův regulační diagram

Je to nejjednodušší typ regulačního diagramu. Nejčastěji se používá k monitorování každodenních variací analytického procesu. Děje se tak sledováním kolísání referenčního vzorku nebo kontrolního vzorku jakosti, které se tímto postupem měří. Naměřené hodnoty se vynášejí na pořadnici (osu y) proti času nebo proti pořadí vzorku na úsečce (osa x). Naměřená hodnota na ose y může být vyjádřena jako absolutní hodnota nebo jako rozdíl od cílové hodnoty. Kontrolní vzorek je typický pro obvykle měřené vzorky daným postupem, je stálý a dostupný ve větším množství. Tento vzorek se měří ve vhodných intervalech v sériích zkoušených vzorků. Pokud je kolísání výsledků kontrolních vzorků uspokojivé, lze rozumně předpokládat, že jsou naměřené výsledky skutečných vzorků také přijatelné.

Abychom zjistili, co je přijatelné, změříme kontrolní vzorek několikrát (za různých podmínek, které sledují každodenní variabilitu) a ze získaných dat vypočítáme střední hodnotu nebo průměr kontrolních vzorků a s ním spojenou směrodatnou odchylku. Průměr se může použít většinou jako cílová hodnota Shewhartova diagramu, tj. hodnota, o níž usilujeme. Směrodatná odchylka se použije k určení varovných a regulačních mezí v grafu.

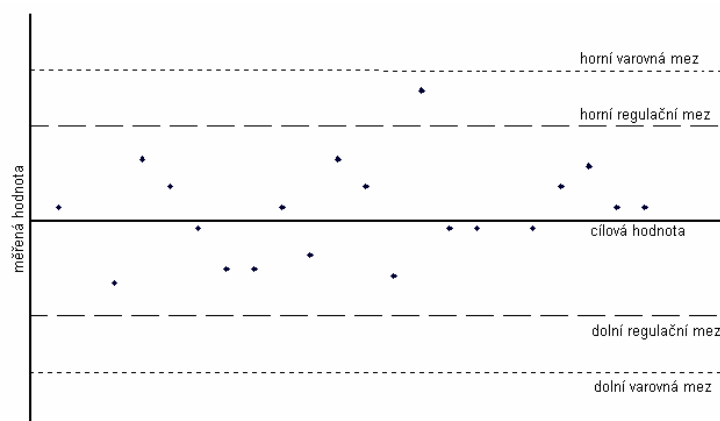
Když je graf sestaven, vynášejí se do něj každý den výsledky kontrolních vzorků a sleduje se, jestli nedochází k nežádoucím tendencím jako je posun, nebo zda se výsledek neocitnul vně varovných nebo regulačních mezí.

Na obrázku 6.2 jsou příklady čtyř typů dat: a) data s normální variabilitou, b) jako a), ale posunutá, c) pozvolný posun, d) stupňovitá změna. Pro jednoduchost byly varovné a regulační meze přikresleny jenom do obrázku 6.2a.

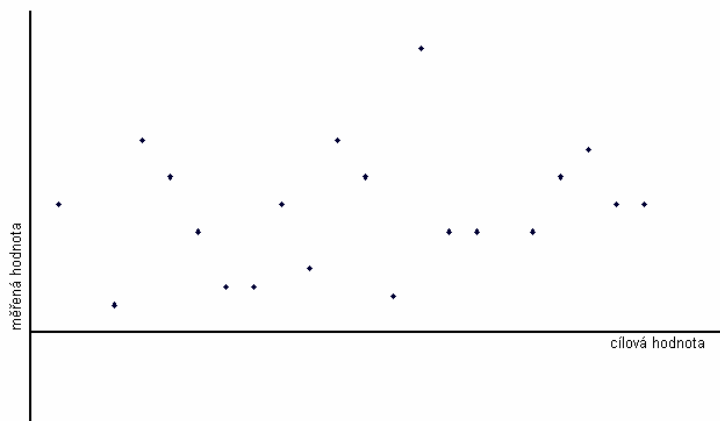
Varovné meze se obvykle umísťují do vzdálenosti ± 2 směrodatné odchylky a regulační meze do vzdálenosti ± 3 směrodatné odchylky. Když se vynáší průměr n hodnot, přecházejí meze na $\frac{2\sigma}{\sqrt{n}}$ a $\frac{3\sigma}{\sqrt{n}}$. Ze statistických pravidel popsanych dříve

bychom očekávali, že jen velmi málo členů populace (3 z 1000) padne vně regulačních mezí a 1 z 20 padne mezi varovné a regulační meze. Při používání regulačního diagramu musí uživatel reagovat na každý bod, který padne vně regulačních mezí a být ostražitý, když bod překročí varovné meze.

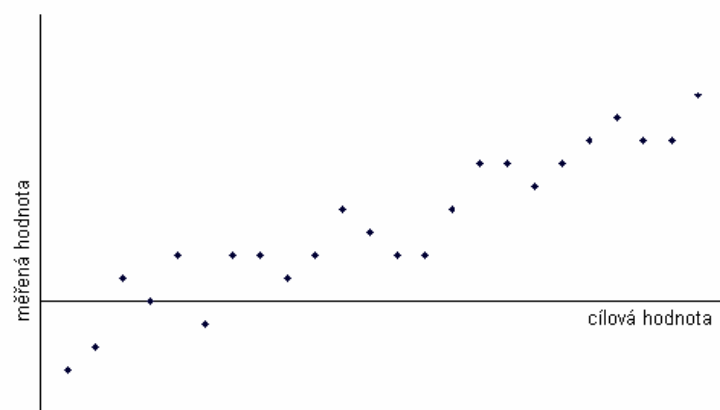
Obrázek 6.2a. *Shewhartův diagram s kontrolními body v okolí cílové hodnoty*



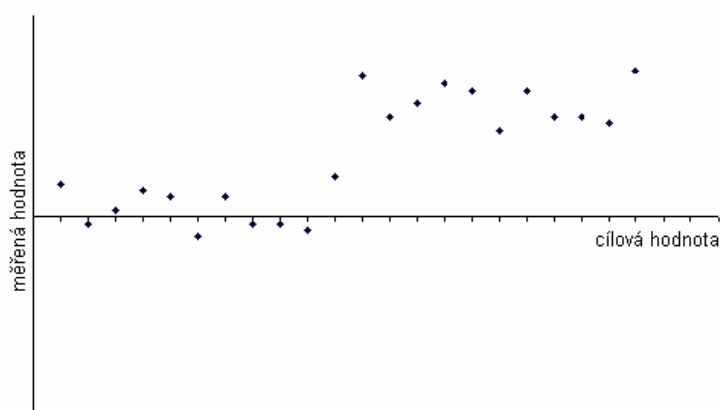
Obrázek 6.2b. *Shewhartův diagram s daty odchýlenými od cílové hodnoty*



Obrázek 6.2c. *Shewhartův diagram s vychylujícími se daty*



Obrázek 6.2d. *Shewhartův diagram se stupňovitou změnou*



V ČSN ISO 8258:1994 Shewhartovy regulační diagramy jsou tři vodička, podle nichž se určí abnormalita. Tyto tři typy jsou

- i) tři následující body jsou vně varovných mezí, ale uvnitř regulačních mezí;
- ii) dva následující body jsou vně varovných mezí, ale uvnitř regulačních mezí na stejné straně od cílové hodnoty;
- iii) deset následujících bodů je na stejné straně od cílové hodnoty;
- iv) podle ISO 8258 připadají v úvahu kromě výše uvedených i další jevy.

6.2.2 Diagram pohyblivých průměrů

Jednou z nevýhod Shewhartova diagramu je, že nevyniknou postupné odchylky nebo náhlé stupňovité změny od vlastního přirozeného kolísání postupu. Částečně to odstraňuje odlišný graf nazývaný diagram pohyblivých průměrů, pro nějž se průměrují přirozená kolísání mezi vynášením bodů, takže jsou zjevné jenom významné změny. Funguje na základě průměrů následných hodnot (typicky 4).

Jako příklad následuje diagram pohyblivých průměrů s průměry vždy ze 4 hodnot ($n = 4$).

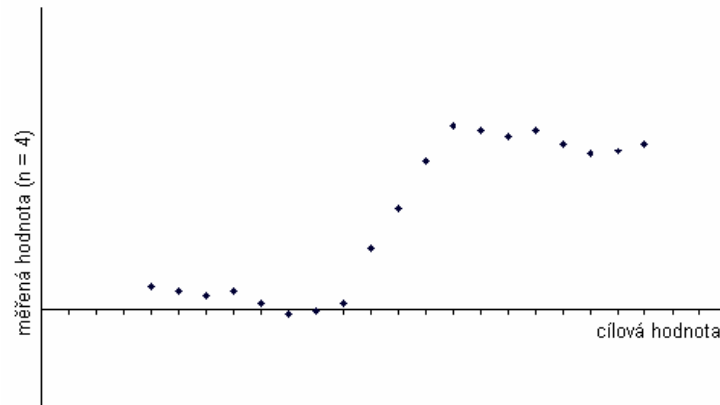
Měření: 1, 2, 3 a 4 se zprůměrují a vynesou jako první bod,
2, 3, 4 a 5 se zprůměrují a vynesou jako druhý bod,
3, 4, 5 a 6 se zprůměrují a vynesou jako třetí bod,
4, 5, 6 a 7 se zprůměrují a vynesou jako čtvrtý bod,
5, 6, 7 a 8 se zprůměrují a vynesou jako pátý bod,
a tak dále...

Na obrázku 6.2e byla vynesena stejná data s nežádoucí stupňovitou změnou jako na obrázku 6.2d, avšak do diagramu pohyblivých průměrů ($n = 4$). Porovnejte obrázky 6.2d a 6.2e. Náhlá změna na druhém obrázku vynikne proti kolísání na pozadí mnohem zřetelněji.

Hodnotu n lze měnit tak, aby co nejvíce vyhovovala. Čím větší n , tím lepší vyhlazení dat, avšak tím déle trvá, než se projeví významné změny. Takže uživatel musí pro

určitou aplikaci vyvažovat čas potřebný ke zvýraznění změny a potřebnou míru vyhlazení.

Obrázek 6.2e. Diagram pohyblivého průměru ($n = 4$) – stejná data jako na obr. 6.2d



Do Shewhartova diagramu se vynáší kolísání jednotlivých měření. Diagram je možno také použít k vynášení průměrů více měření za předpokladu, že je pro každý bod použit průměr ze stejného počtu měření. Stejně jako u diagramu pohyblivých průměrů to vyvolává efekt dalšího vyhlazení systému tím, že se odstraní některá náhodná kolísání.

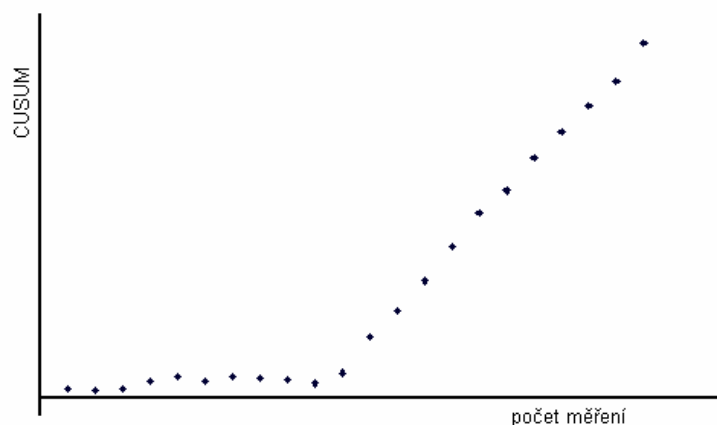
Jelikož se odstraní některé výkyvy ještě před vynesemím bodů do diagramu, je třeba změnit varovné a regulační meze, pokud mají mít pro monitorování dat nějaký praktický význam. Průměrováním n hodnot před vynesemím do grafu se efektivně zmenšila směrodatná odchylka \sqrt{n} -krát. Důsledkem je, že se regulační a varovné meze volí $\pm 3\sqrt{n}$, resp. $\pm 2\sqrt{n}$ jednotek směrodatné odchylky.

6.2.3 Diagram CUSUM

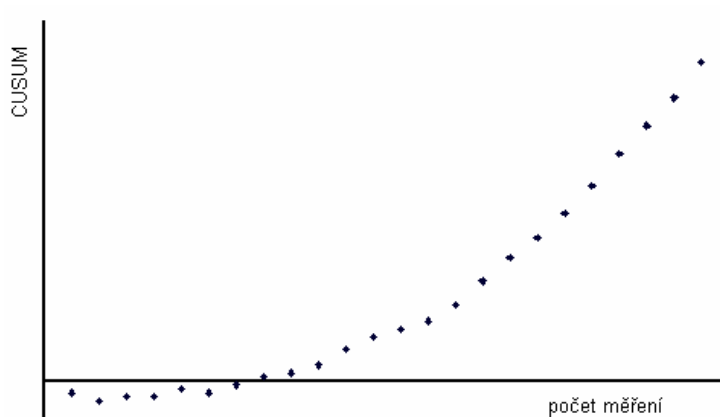
Diagram pro kumulované součty CUSUM používá všechna data a proto je to nejlepší způsob jak detekovat malé změny průměru. Uvažujte proces, pro nějž je známa cílová hodnota T . Pro každé nové měření se počítá rozdíl mezi ním a T a přidá se k průběžnému součtu (kumulativní sumě, zkráceně CUSUM!). Průběžný součet se vynáší proti pořadovému číslu měření. Podrobnosti lze najít v jiných textech.^{1,2}

Když systém pracuje tak, že je pracovní průměr blízko stanovené nebo cílové hodnoty, bude gradient CUSUM blízky nule. Gradient +ve znamená pracovní průměr větší než cílová hodnota, a -ve gradient znamená opak. Náhlá změna v souboru dat se objeví v diagramu CUSUM jako náhlá změna gradientu (viz obr. 6.2f). Pozvolný posun systému způsobí malé ale stále změny průměru. Do CUSUM se to přenáší jako konstantně se měnící gradient, tj. křivka (viz obr. 6.2g).

Obrázek 6.2f. *Náhlá změna v grafu CUSUM*

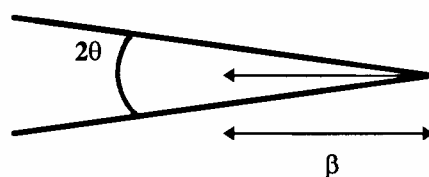


Obrázek 6.2g. *Posun v grafu CUSUM*

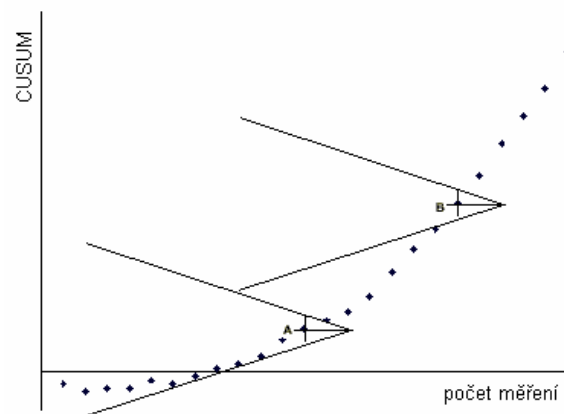


Pro určení zda jsou nebo nejsou data CUSUM pod kontrolou jsou konvenční varovné a regulační meze nepoužitelné. Místo toho se používá ‚V-masky‘. Obvykle se kreslí na průsvitný materiál tak, aby se mohla přikládat na diagram CUSUM. Diagram s V-maskou je zobrazen na obr. 6.2h. Data na grafu CUSUM se vyšetřují po překrytí maskou s levou stranou úsečky β (šipka) postupně zarovnanou s každým bodem. Úsečka β je stále rovnoběžná s osou x . Systém je pod kontrolou, dokud leží předcházející body mezi rameny masky. Když předcházející body padnou vně ramen masky, je systém mimo kontrolu. Obrázek 6.2i ilustruje použití V-masky na datech, u nichž došlo k posunutí.

Obrázek 6.2h. *V-masky k interpretaci diagramů CUSUM*



Obrázek 6.2i. Ilustrace použití V-masky na diagramu CUSUM



Na obrázku 6.2i je V-maska ve dvou různých situacích. Ke dni A zjevně leží všechny předcházející body uvnitř ramen masky – data jsou proto pod kontrolou. K datu bodu B leží některé předcházející body pod nižším ramenem masky a indikují tak, že ke dni B nebyl systém pod statistickou kontrolou.

Kontrolní meze jsou tak definovány délkou úsečky β a rameny svírajícími úhel Θ , a proto se musí volit pečlivě. Měřítka osy x a y mají také na výběr β a Θ významný vliv. Stupnice horizontální osy musí představovat jednotlivá měření a svislá osa intervaly 2σ (σ je směrodatná odchylka souboru), pokud jsou použita data z jednotlivých měření. Pokud se pokaždé použije průměr z n opakovaných měření, pak přechází interval na $2\sigma/\sqrt{n}$. V praxi je možné sestrojít masku, která poskytne stejnou statistickou pravděpodobnost kontroly jako konvenční regulační/varovné meze. S použitím navrženého měřítka bude mít ve V-masce úsečka β 2 jednotky délky horizontální osy a 2Θ přibližně 44° . Délka ramen v horizontálním směru je 12 jednotek. Takové hodnoty odpovídají Shewhartovu diagramu¹. Body uvnitř masky indikují, že je systém pod kontrolou, body vně masky ukazují, že je mimo kontrolu.

6.3 VYKAZOVÁNÍ VÝSLEDKŮ

Když jednou analytické výsledky vznikly, je nezbytně nutná určitá manipulace s nimi, aby se převedly na informaci srozumitelnou zákazníkovi. Analytik vydávající zprávu musí prostudovat a zpracovat značné a různorodé informace, aby z nich vytvořil několik závěrečných odpovědí. Data z referenčních materiálů a kalibračních standardů se používají k sestrojení kalibračních křivek nebo ke kalibraci odezvy přístrojů. Vzorky řízení jakosti se musely vynést do regulačních diagramů, aby se zjistilo, zda systém v době, kdy se prováděla měření, pracoval uspokojivě. Údaje získané měření vzorků se kvantifikují porovnáním s kalibračními standardy a zavedou se příslušné korekce na hodnoty slepých měření. Mohou se hledat daremná data kontrolami, založenými na vzájemném porovnávání zprávy a výsledků. Je vhodné, aby někdo nezávislý překontroloval přenosy dat a výpočty alespoň u části dat. Konečně se musí výsledky vyjádřovat se správným počtem platných číslic nebo desetinných míst a s vhodnou mírou nejistoty.

Je smutné, alespoň pokud se věnovala získávání dat veliká péče, aby byla promrhána chybami v průběhu přípravy zprávy. Výpočty a příprava zprávy jsou mnohem snazší, když se data zaznamenávají hned napoprvé zřetelně.

Když jsme obdrželi finální odpovědi a vytvořili další závěry nebo posudky, může se složením těchto informací sestavit zpráva pro zákazníka.

Základem dobré zprávy je poskytnout informaci jasně a jednoznačně způsobem, který vyhovuje zákazníkovi. Přirozeným požadavkem je proto vystihnout potřebu zákazníka. Zákazníci analytických služeb mají rozličné profily. Na jedné straně nemusí mít zákazník žádné vědecké znalosti a dodá vzorek k analýze pro potvrzení nebo vyvrácení jednoduché specifikace. V takovém případě zní požadovaná analytikova odpověď ano či ne. Jako druhý extrém může být zákazníkem jiný analytik který plně rozumí pozadí zkoušky, ale nemá potřebné zdroje k jejímu provedení. V takovém případě může zákazník požadovat kopie všech údajů generovaných v průběhu zkoušky, aby mohl překontrolovat původní výpočty nebo provést další. Mezi těmito dvěma extrémy se zjevně nachází další různé typy zákazníků s různou mírou odborných znalostí o zkoušce a o náležitostech požadované zprávy. V každém případě, když zákazník zakázku odsouhlasil, by se měla dopředu dohodnout úroveň odevzdaných informací. Pokud nebyl formát zprávy dohodnut, pak je třeba dát pozor, aby nebyla zpráva ‚vycpána‘ nepotřebnými informacemi, které by mohly zákazníka zmást. Podejte zákazníkovi informace nezbytné k odpovědi na přímý problém a dejte mu najevo, že další informace může obdržet, pokud si to bude přát.

Když pracuje laboratoř podle nějaké normy jakosti, může mít stanoveny požadavky na úroveň informací zahrnutých do zprávy zákazníkovi. V případech, kdy by taková úroveň mohla zákazníka mást, je normálně možné se souhlasu zákazníka a dozoru nad dodržováním normy jakosti poskytnout zjednodušenou zprávu za předpokladu, že jsou všechny informace dostupné a mohou být předány na požádání.

Obecně by měla být analytická zpráva sestavena z několika nebo všech následujících informací.

- podrobnosti o analyzující laboratoři,
- jednoznačné označení zprávy,
- podrobnosti o zákazníkovi,
- datum přijetí vzorků,
- podrobnosti o vzorcích včetně referenčního čísla, popisu, množství a stavu, v němž byl přijat,
- datum analýzy vzorků,
- odkaz na provedené zkoušky,
- podrobnosti o zvláštnostech,
- analytické výsledky včetně mezí spolehlivosti (připadají-li v úvahu),
- podrobnosti o likvidaci,

- meze stanovitelnosti,
- údaje o výtěžnosti,
- údaje opakovatelnosti,
- podpis analytika vystavujícího zprávu a datum vystavení.

6.4 NEJISTOTA MĚŘENÍ

6.4.1 Definice nejistoty

6.4.1.1 Proces měření

Obecně platí, že když se provádí nějaké kvantitativní měření, je získaná hodnota pouze aproximací *skutečné (pravdivé)* hodnoty měřené vlastnosti. K této odchylce od ideality přispívá mnoho faktorů, které lze shrnout takto:

- nedokonalosti měřicího zařízení,
- nedokonalosti měřicího postupu,
- vlivy operátora a laboratoře.

Výsledkem kvantitativní chemické měření samo o sobě nekončí. Nepřichází spontánně a proto má vždy nějaký důvod. Lze jej na příklad použít při kontrole technických parametrů výrobků nebo zákonných limitů, nebo pro stanovení výtěžku reakce nebo k ohodnocení peněžní hodnoty.

Je zřejmé, že pokud mají být chemická měření důvěryhodná, musí mít nějaký indikátor jakosti. Takový indikátor musí

- mít obecnou použitelnost,
- být konzistentní,
- být kvantifikovatelný,
- mít jednoznačný a jasný význam.

Indikátor jenž splňuje tato kritéria je *nejistota měření*.

6.4.1.2 Definice nejistoty

Nejistota měření⁴ je definována jako

parametr přidružený k výsledku měření, který charakterizuje rozptýlení hodnot, které mohou být důvodně prisuzovány k měřené veličině.

Tato definice vlastně říká, že výsledek kvantitativního měření nelze řádně vyjádřit jako jedinou hodnotu, např. $\text{pH} = 3,7$. Nemůžeme si být jisti, že jediná hodnota získaná na konci měřicího procesu je *skutečná hodnota*. Ve skutečnosti můžeme svému výsledku více věřit, jestliže bereme získanou hodnotu jako odhad, což není tak silné tvrzení. Pochopitelně pouhé nižší postavení našeho výsledku tímto způsobem tomu, kdo jej hodlá používat, moc nepomůže. Potenciálního uživatele našeho výsledku bude hlavně zajímat *skutečná hodnota* měřené veličiny. *Skutečná hodnota* je však hypotetická představa, protože, jak bylo vysvětleno v oddílu 6.4.1.1, ji nelze měřit. To nejlepší co můžeme učinit je oznámit rozmezí hodnot soustředěných okolo našeho odhadu a prohlásit, že skutečná hodnota leží někde uvnitř tohoto rozsahu. Proto musíme uvést např. $\text{pH} = 3,7 \pm 0,2$. Celá nejistota měření je o výpočtu rozmezí 0,2.

6.4.1.3 Chyby

Nejistota a chyba jsou dvě rozdílné koncepce a nesmějí se zaměňovat.

Chyba⁴ je definována jako

výsledek měření minus skutečná hodnota měřené veličiny
(veličiny, kterou měříme).

Protože skutečné hodnoty nemohou být známy přesně, vyplývá z uvedené definice, že ani chyby nemohou být přesně známy.

Chyby se obvykle dělí na *náhodné* a *systematické*.

6.4.1.4 Náhodná chyba

Náhodná chyba vzniká jako důsledek možných variabilit faktorů, které ovlivňují hodnotu měřené veličiny, které jsou ale mimo vliv osoby, která měření provádí. Takové jevy jako je elektrický šum a teplotní vlivy přispívají k tomuto typu chyby. Na tento typ chyby nelze korigovat jednotlivý výsledek. Protože by se měl součet náhodných chyb při velkém počtu měření blížit nule, lze tuto chybu snižovat opakovanými měřeními.

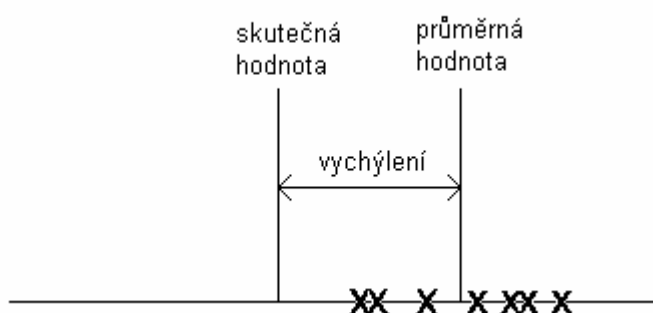
6.4.1.5 Systematická chyba

V protikladu k náhodné chybě je systematická chyba neboli bias konstantní nebo se mění v řadě měření předvídatelně. Tato chyba se od náhodné chyby liší zejména v tom, že ji nelze zmenšit opakovaným měřením. Pokud ji zjistíme, lze ji korigovat. Korekce však nemůže být dokonalá, protože přesná hodnota systematické chyby bude nutně doprovázena nejistotou. Příkladem mohou být slepá stanovení, používaná velmi často v analytické chemii k určení příspěvku činidel k měřené odezvě při absenci stanovované složky. Hodnota tohoto slepého stanovení se odečte od změřených hodnot vzorku a standardu ještě před výpočtem konečného výsledku. Pokud jsme neodečetli od našich měření hodnotu slepého stanovení (za předpokladu, že je nenulová), způsobilo by to v konečném výsledku systematickou chybu.

Je-li hodnota systematické chyby známa nebo ji lze vypočítat, musí se provést korekce. Je málo pravděpodobné, že by provedená korekce byla přesná a proto je třeba určit míru její případné nepřesnosti. Tento odhad se použije ve výpočtu nejistoty.

Obrázek 6.4a ilustruje rozdíl mezi těmito dvěma typy chyb. Znázorňuje sedm opakovaných měření vzorku, označených křížky. Vliv náhodné chyby nedovolí, aby byla měření shodná. Ani jedno měření ani jejich průměr se neshodují se skutečnou hodnotou kvůli přítomnosti systematické chyby (vychýlení, bias). Všimněte si ale, že u několika výsledků se může jevit přítomnost vychýlení jako důsledek náhodné chyby.

Obr. 6.4a. Skutečná hodnota, měřená hodnota a vychýlení (bias)



Chyba je představována jedinou hodnotou a ukazuje, jak daleko od sebe leží skutečná hodnota a jednotlivé měření. Protože se při určitém měření může uplatnit více než jeden druh chyby, nestačí chyby samy o sobě k popisu jakosti výsledku měření. Na druhou stranu nejistota koncentruje všechny známé chyby do jednoho jediného rozmezí.

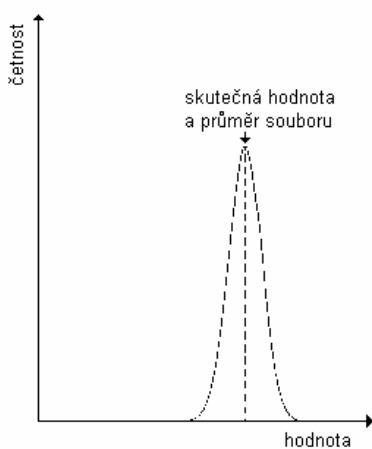
6.4.1.6 Správnost a přesnost

Správnost a přesnost jsou další dva pojmy, které se často zaměňují, ale které mají v souvislosti s měřením zcela samostatné a rozdílné významy. Byly již zmíněny v kapitole 4. Rozdíly mezi nimi ilustrují obrázky 6.4b až 6.4e. Z ilustrací vyplývá, že *správnost* je mírou polohy. Vypovídá, jak je výsledek měření blízko předpokládané skutečné hodnotě. Na druhou stranu *přesnost* je mírou rozložení nebo disperse souboru výsledků. Přesnost se vztahuje k souboru opakovaných měření a říká, jak je soubor rozložen kolem střední hodnoty, **nezávisle na tom, kde se střední hodnota vůči skutečné hodnotě nachází.**

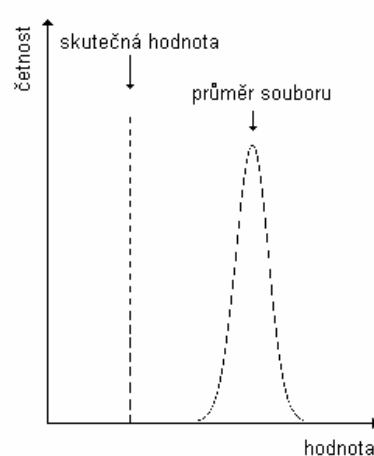
Další dva pojmy, s nimiž se při zpracování chemických dat setkáte, byly též popsány v kapitole 4. Jsou to *opakovatelnost* a *reprodukovatelnost*. Obě jsou mírou přesnosti a obě se mohou snadno zaměnit.

Obr. 6.4b až 6.4e. *Vztah mezi správností, vychýlením (bias) a přesností*

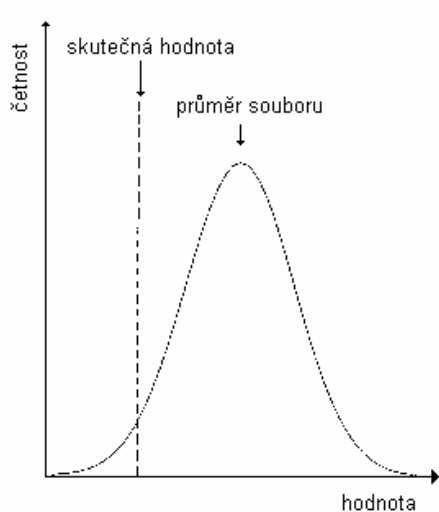
(b) Nevychýlený, přesný



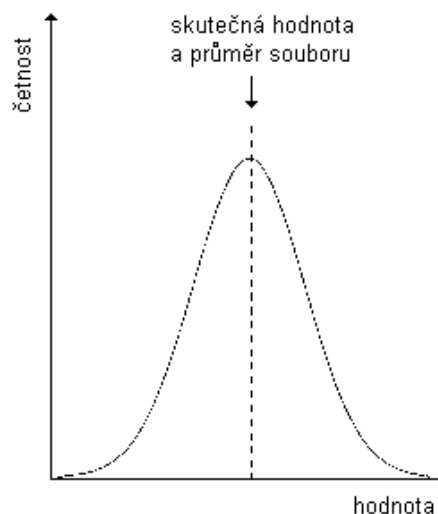
(c) Vychýlený, přesný



(d) Vychýlený, nepřesný



(e) Nevychýlený, nepřesný



6.4.2 Vyhodnocení nejistoty

6.4.1.2 Možné chyby ve výpočtu

Analýza nejistoty spočívá v kvantifikaci a kombinování chyb. Je proto důležité, aby proces analyzování nejistoty sám nepřispíval k chybám.

Abychom se vyhnuli zavedení a šíření vlastních chyb, je nutné ponechat v mezivýpočtech dostatečný počet desetinných míst. Počet platných číslic v konečné

výsledné nejistotě se musí přirozeně upravit tak, aby citlivě vyjádřil vlastní přesnost vstupních dat. Obecná zásada říká, že výsledek výpočtu nemůže být přesnější než nejméně přesná složka výpočtu. Zavedená konvence zní takto:

Při sčítání a odečítání určuje počet platných číslic výsledku veličina s nejmenším počtem platných číslic za desetinnou čárkou. Na příklad $873,123 + 37,9 = 911,023$; jelikož je 37,9 udáno pouze na jedno desetinné místo, nemůže být výsledek přičtení 37,9 k čemukoliv významný na více než jedno desetinné místo. Proto se výsledek tohoto výpočtu napíše jako 911,0.

Při násobení a dělení určuje počet platných číslic výsledku veličina s nejmenším počtem platných číslic. Na příklad $1234,5 \times 3,142 = 3878,799$; 1234,5 má *pět* významných číslic a 3,142 má *čtyři* významné číslice, proto se výsledek tohoto výpočtu napíše se *čtyřmi* významnými číslicemi jako 3879.

Z toho co bylo řečeno by mělo být zřejmé, že nejlepší způsob výpočtů kombinovaných nejistot je použití počítače nebo kalkulatoru s několika paměťmi, aby bylo možno ukládat mezivýpočty s vysokým stupněm numerické přesnosti. Když musíte zapisovat mezivýpočty na papír, pak je vyhodnocujte a zapisujte o dvě až tři desetinná místa delší než je krajní nutnost.

6.4.2.2 Systematický přístup

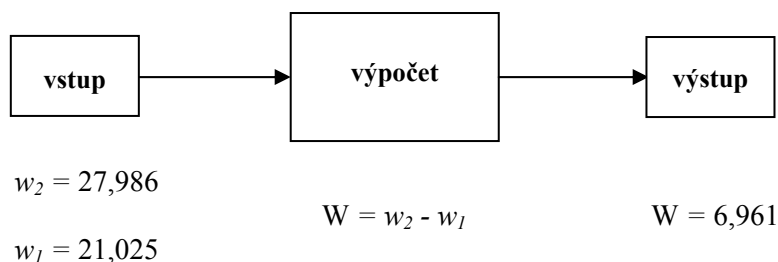
Vyhodnocení nejistoty je zcela jednoduché a nemělo by působit velké obtíže. Následující postup odhadu nejistoty člení tento proces na čtyři snadno proveditelné bloky. Lze je shrnout takto:

- specifikace
- identifikace
- kvantifikace
- kombinace

Tyto čtyři fáze budou popsány postupně.

6.4.2.3 Specifikace

Obr. 6.4f. Model výpočtu



Výsledek chemického měření je možno považovat za výsledný produkt procesu, který transformuje sadu vstupních dat na výstupní data. Obrázek 6.4f znázorňuje

tento proces pro případ diferenčního vážení. Vycházíme z toho, co chceme dosáhnout, tj. hodnotu W . Definujeme ji jako výstupní hodnotu problému a dále postupujeme pozpátku. Musíme najít matematický model, to je vzorec nebo rovnici, která nám poskytne hodnotu W . V tomto příkladu je model velmi jednoduchý a v mnoha dalších případech s nimiž se setkáte bude možno najít modely, které nebudou o moc složitější. Ve skutečnosti závisí úspěšnost tohoto přístupu na rozložení komplexních výrazů na jednodušší podjednotky. Z obrázku vidíte, že hodnota W , kterou hledáme, závisí pouze na dvou proměnných w_1 a w_2 . Tyto dvě proměnné w_1 a w_2 tvoří vstupní údaje a když jednou pro ně získáme vhodné hodnoty, lze výsledek měření snadno vypočítat. Obecně může být zapotřebí získat z modelu obdobným postupem jednu nebo více vstupních hodnot. Nejistota w_1 a w_2 zjevně tvoří nejistotu W a v zásadě je to její hodnota, kterou potřebujeme.

6.4.2.4 Identifikace

Pro každou z proměnných modelu nebo dílčího modelu se musí sestavit seznam proměnných přiřazených ke každé z nich. Seznam musí sestávat pouze z popisů nejistot; aktuální hodnoty se přiřadí později. V tomto kroku je třeba zaznamenat všechny příslušející zdroje nejistoty. Nemusí být všechny významné, to se může ověřit až v dalším kroku, ale je třeba je zaznamenat proto, aby bylo možno dále vyhodnotit jejich významnost. Seznam bude potřebný i později, pokud by došlo k modifikacím postupu.

Některé typické zdroje nejistoty jsou uvedeny níže.

Vlivy vzorku

Podíl materiálu určený k měření nemusí věrně reprezentovat zkoušený materiál. Samotný proces odběru vzorků nejvíce přispívá k nejistotě analytického měření, a velmi často jej má analytik nejméně pod kontrolou.

Výtěžnost analytu z komplexní matrice mohou ovlivnit ostatní složky matrice.

Fyzikální nebo chemická forma může být příčinou neúplné výtěžnosti analytu. Na příklad může být prvek přítomen ve vzorku ve více oxidačních stupních a být proto neúplně stanoven postupem, který vyžaduje, aby byl pouze v jednom určitém stupni (speciační efekty).

Stabilita vzorku/analytu se může měnit v průběhu analýzy změnami teplotního režimu nebo fotolytickými jevy.

Vychýlení (bias) operátora

Soustavně vysoký nebo nízký odečet měřidla nebo stupnice.
Barvoslepost.

Podmínky měření

Používání odměrného nádobí při jiné teplotě než při jaké bylo kalibrováno.

Čistota činidel

Čistotu chemikálií obvykle udávají výrobci jako *ne méně než* udaná hodnota. Jakékoliv domněnky o stupni čistoty zavádějí prvek nejistoty. Původ nečistoty může být též důležitý; na příklad stopy kyseliny mohou v principu ovlivnit výsledek titrace.

Vliv výpočtu

Volba nevhodného kalibračního modelu. Například pokus o proložení přímky ve své podstatě nelineárními daty.

Aproximace algoritmů.

Odříznutí koncových číslic nebo nesprávné zaokrouhlení mezivýpočtů může vést k nepřesnostem konečného výsledku.

Úvahy o faktorech, které mohou ovlivnit pravdivost vašeho měření jsou bezesporu nejdůležitějším krokem při stanovení celkové nejistoty, protože co neznáte nemůžete měřit. Je třeba dodat, že obvykle není nutné vyhodnocovat nejistotu měření pro každý jednotlivý krok analytického postupu. Řada složek přispívajících k celkové nejistotě se může sloučit. Podrobnosti se vymykají rozsahu tohoto textu.

6.4.2.5 Kvantifikace

Nyní je třeba nejistoty, identifikované v předchozím textu, kvantifikovat. K tomu existují dva hlavní přístupy: experimentální práce a odhad.

Příspěvek jednotlivého vlivu k nejistotě se vyjadřuje numericky jako jeho *standardní nejistota*. Termín *standardní nejistota* je analogický statistickému termínu *směrodatná odchylka*. Pokud hovoříme o náhodných vlivech, je opravdu standardní nejistota ekvivalentní směrodatné odchylce. Protože ale nelze počítat směrodatnou odchylku systematického vlivu na jakékoliv úrovni statistické určitosti, je výhodnější mít pro popis distribuce hodnot s tímto jevem spojených jiný termín. Standardní nejistoty se používají ke kvantifikaci jak náhodných tak systematických vlivů a lze je pomocí relativně jednoduchých pravidel kombinovat.

Standardní nejistotu pocházející z náhodných jevů stanovujeme z experimentů opakovatelnosti a kvantitativně ji vyjadřujeme v pojmech směrodatné odchylky souboru naměřených hodnot. Představte si na příklad soubor opakovaných vážení, provedených za účelem stanovení náhodné chyby spojené s vážením. Jestliže je skutečná hmotnost váženého objektu 10 g přesně, potom by mohly být získány následující hodnoty:

10,0001; 10,0000; 10,0002; 10,0002; 10,0001;
10,0000; 10,0001; 10,0000; 10,0002; 10,0000

V tomto souboru je 10 hodnot.

Střední hodnota je 10,00009.

Směrodatná odchylka je $s = 0,000087559$.

Vypočtená směrodatná odchylka se nyní považuje za standardní nejistotu a vyjádří se jako

$$u(w) = 0,000087559$$

kde $u(w)$ představuje standardní nejistotu vážení.

Poznámka: Některé kapesní kalkulátory a počítače mají při použití vestavěných statistických funkcí potíže s výše znázorněnými výpočty. Nejste-li schopni získat uvedené výsledky, zkuste kódovat data odečtením 10 a násobením 10^4 . Transformovaný soubor dat pak bude

$$1, 0, 2, 2, 1, 0, 1, 0, 2, 0$$

Průměr tohoto transformovaného souboru je 0,9 a směrodatná odchylka je 0,87559. Abychom dostali hodnoty původního souboru, musíme provést transformační operace obráceně. To znamená dělit 10^4 a pouze k průměru přičíst 10.

Obvykle je moudré otestovat statistické funkce svého počítačového zařízení na datech s velmi malou variabilitou, jaká jsou uvedena výše, protože mnohé kalkulátory v závislosti na použitých algoritmech mohou zcela selhat nebo trpět závažným nedostatkem vnitřní přesnosti.

Když není experimentální vyhodnocení praktické, musí se standardní nejistoty odhadovat s pomocí jakékoliv dostupné relevantní informace o variabilitě sledované veličiny. V mnoha případech se musí posoudit, jakou hodnotu standardní nejistotě přiřadit. Úvahy jednotlivých osob o vhodné hodnotě se od sebe mohou natě lišit. Nicméně musíme být schopni napsat nějaké číslo. Pro takovéto případy lze použít dva zdroje informací.

Zdroje informací

Pro mnoho zdrojů nejistoty spojené se zařízením nebo materiály lze najít informaci o nejistotě v kalibračních certifikátech nebo v katalogích dodavatelů.

Na příklad je v katalogu dodavatele uvedeno, že má odměrná baňka na 250 ml maximální chybu $\pm 0,15$ ml. Můžeme předpokládat, že výrobce testoval mnoho odměrek tohoto typu. Je také pravděpodobné, že chyby objemu zjištěné výrobcem mají normální rozdělení. Za tohoto předpokladu jsou malé chyby udávaného objemu pravděpodobnější než velké. Výrobce neuvádí ke svému odhadu maximální chyby úroveň spolehlivosti. Rozumně můžeme předpokládat úroveň spolehlivosti 95 %, což odpovídá dvěma směrodatným odchylkám normálního rozdělení. Z toho vyplývá, že číslo $\pm 0,15$ představuje dvě směrodatné odchylky. Standardní nejistota spojená s objemem baňky $u(V)$ je tedy

$$u(V) = \pm 0,15/2 = \pm 0,075$$

V jiném případě nemáme žádný důvod věřit, že je malá chyba mnohem pravděpodobnější než velká. V takovém případě bude pravoúhlá distribuce vhodnějším modelem. Pro takové distribuce se získá standardní nejistota dělením chyby $\sqrt{3}$.

Je dána měřená vlastnost P se systematickou chybou $\pm 0,28$, o níž jsme rozhodli, že má pravoúhlé rozdělení. Standardní nejistota je dána

$$u(P) = 0,28/\sqrt{3} = \pm 0,16$$

Dřívější studie jsou druhým potenciálním zdrojem informací. Publikované údaje o mezilaboratorních studiích týkajících se stejných nebo podobných systémů jsou vhodným zdrojem informací, neboť kombinují chyby operátora a vlivy prostředí.

6.4.2.6 Slučování nejistot

Všechny standardní nejistoty jednotlivých zdrojů variability (nyní vyjádřené jako směrodatné odchylky) se nyní musí sloučit do celkové nejistoty měření. Pro slučování nejistot platí tři jednoduchá pravidla. Pokrývají většinu situací, s nimiž se v praxi můžete setkat. Všechny vycházejí z obecné rovnice obsahující parciální derivace. Obecná rovnice, která je uvedena na konci této kapitoly, se musí použít v případech, na něž se nevztahují ona tři jednoduchá pravidla popsaná dále.

Pravidlo 1

V modelech obsahujících pouze součet nebo rozdíl veličin, např.

$$y = a + b + c + \dots$$

je kombinovaná nejistota dána

$$u(y) = \left[u(a)^2 + u(b)^2 + u(c)^2 + \dots \right]^{\frac{1}{2}}$$

Pravidlo 2

V modelech obsahujících pouze součin nebo podíl, např.

$$y = abc \quad \text{nebo} \quad y = a/bc$$

je kombinovaná nejistota dána

$$u(y) = y \left\{ \left[\frac{u(a)}{a} \right]^2 + \left[\frac{u(b)}{b} \right]^2 + \left[\frac{u(c)}{c} \right]^2 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Pravidlo 3

V modelech s exponentem, např.

$$y = a^n$$

kde a je měřená hodnota a n je konstantní, je standardní nejistota dána

$$u(y) = \frac{nyu(a)}{a}$$

Někdy může být pravidlo 3 zbytečné, protože rovnici typu

$$y = a^n$$

lze napsat jako

$y = aaa\dots$ (tj. n -krát násobení sebou samým).

To je pak speciální případ pravidla 2 s $b = a$ a $c = a$... rovno a . Poskytne tedy pravidlo 2 stejný výsledek jako pravidlo 3? Lze ukázat, že je rozdíl ve výpočtu $u(y)$ nejdříve podle pravidla 3 a pak podle pravidla 2, dosadíme-li $a = 3,72$, $u(a) = 0,19$, $n = 3$.

Jak jste poznali, tato dvě pravidla neposkytují stejný výsledek; pravidlo 3 dává 7,89 proti 4,55 s pravidlem 2. Příčina rozdílu je, že pravidlo 2 je určeno pro nezávislé proměnné přispívající k výsledku. Může se stát, že hodnoty těchto proměnných jsou stejné a případně (i když s menší pravděpodobností) jsou také stejné nejistoty s nimi spojené. Na druhou stranu pravidlo 3 je určeno pro případy, kdy se jednotlivá proměnná několikrát násobí sama sebou, jinými slovy **ta samá** proměnná násobena sama sebou n -krát a nikoliv příležitostná rovnost jinak různých proměnných.

V souvislosti s těmito pravidly je třeba zaznamenat několik věcí:

1. V modelech obsahujících jenom součet nebo rozdíl veličin vstupují do výpočtu kombinované nejistoty pouze nejistoty měřených hodnot. Měřené hodnoty nejsou pro tento účel zapotřebí.
2. Kombinovaná nejistota podle pravidla 2 je vždy větší než největší standardní nejistota, která přispívá k výsledku. Toto je užitečná kontrola výpočtu.
3. Pokud je jedna z nejistot mnohem větší než všechny ostatní, je kombinovaná nejistota téměř stejná jako tato standardní nejistota.
4. V modelech obsahujících pouze násobek nebo podíl se k výpočtu kombinované nejistoty používají jak měřené hodnoty tak jejich nejistoty.
5. U pravidla 2 nelze činit žádná užitečná porovnání velikosti kombinované nejistoty s jejími složkami standardních nejistot.

Pokud nelze váš model měření redukovat na kombinace tří jednoduchých pravidel uvedených výše, pak musíte použít obecnou rovnici uvedenou dále.

Uvažujte měřenou veličinu y , která je funkcí několika proměnných. Modelem je $y = f(p, q, \dots)$. Obecná rovnice kombinování nejistot je

$$\frac{u_y}{y} = \left[\left(\frac{\partial y}{\partial p} \right)^2 \times \left(\frac{u(p)}{y} \right)^2 + \left(\frac{\partial y}{\partial q} \right)^2 \times \left(\frac{u(q)}{y} \right)^2 + \dots \right]^{\frac{1}{2}}$$

6.4.2.7 Rozšířená nejistota

Kombinování standardních nejistot s použitím vhodných pravidel skončí u jediného čísla, kombinované standardní nejistoty. Přeměnili jsme všechny distribuce přispívajících chyb, ať již normální nebo pravouhlé, na ekvivalentní normální distribuce a kombinovali jsme je jedním nebo druhým způsobem. Kombinovaná standardní nejistota odpovídá **jedné** směrodatné odchylce normálního rozdělení. V normálním rozdělení pokrývá jedna směrodatná odchylka 68,7 % hodnot z distribuce. Podle úmluvy se bere, že správná hodnota leží uvnitř intervalu nejistoty s pravděpodobností 95 %. To odpovídá přibližně **dvěma** směrodatným odchylkám (ve skutečnosti 1,96). Abychom přizpůsobili udávanou nejistotu měření s užívanou praxí, musíme ji násobit dvěma. Faktor 2 je znám jako **faktor rozšíření***. Pokud musíme být obzvláště opatrní, lze použít faktor rozšíření tři, což poskytuje hladinu spolehlivosti 99,7 %.

Poznámka: Faktor rozšíření se používá pouze s **konečným** výsledkem.

Měřili jsme například obsah cholesterolu ve vzorku tuku a našli 120 mg ve 100 g tuku. Pokud byla zjištěna standardní nejistota $u(c) = 5,3$ mg na 100 g, získáme rozšířenou nejistotu násobením standardní nejistoty faktorem rozšíření $k = 2$. Zaokrouhlením na dvě platné číslice dává $U(c) = 11$ mg na 100 g. To se zapíše jako

Koncentrace cholesterolu je $120 \text{ mg} \pm 11 \text{ mg}$ na 100 g tuku, kde je uvedená nejistota založena na standardní nejistotě násobené faktorem rozšíření $k = 2$ na hladině spolehlivosti přibližně 95 %.

6.4.3 Využívání nejistoty

6.4.3.1 Interpretace výsledků

Jestliže je koncepce nejistoty vhodnou mírou jakosti, jak ji lze prakticky využít?

Osoba odpovědná za přijímání nebo odmítání šarží nějakého materiálu používaného ve výrobním procesu rozhoduje na základě jeho chemické analýzy. Jedním z kritérií pro přijetí je, že koncentrace sloučeniny X v materiálu nesmí překročit stanovenou úroveň. Z laboratoře přichází řada zpráv týkajících se různých šarží materiálu. Obrázky 6.4g až 6.4k ukazují některé z možných výstupů. Na těchto obrázcích představuje M naměřenou koncentraci sloučeniny X a $-u$ a $+u$ představují dolní a horní mez nejistoty. Referenční hodnota, která se nesmí překročit, je označena R . Vzpomeňte si, že nejistota je definována jako rozsah hodnot, o nichž se předpokládá, že uvnitř leží měřená veličina. Co se týká uvažovaného výsledku, znamená to, že skutečná hodnota může být kdekoliv v rozmezí od $-u$ do $+u$.

Pohlédneme-li na obr. 6.4g, vidíme, že naměřená hodnota M je menší než referenční hodnota R . Když nyní posouváme M až se bude krýt s horní mezí rozsahu nejistoty

* Anglický termín *coverage factor* bývá někdy nevhodně překládán jako *faktor pokrytí* (pozn. překl.).

$+u$, vidíme, že M je stále menší než R . Vidíme tedy, že M nebo jiná hodnota z obklopujícího intervalu nejistoty je menší než R . Proto můžeme tuto šarži materiálu přijmout.

Další případ popisuje obr. 6.4h. Tak jako v předchozím případě je naměřená hodnota M menší než referenční hodnota R . Tentokrát ale, když posunujeme M k horní mezi $+u$ vidíme, že M je větší než R . V tomto případě, přestože je naměřená hodnota menší než referenční hodnota, nemůžeme prohlásit, že je koncentrace sloučeniny X menší než referenční hodnota, protože vliv nejistoty měření způsobil, že skutečná hodnota M může překročit R . Proto musíme tuto šarži materiálu odmítnout.

Třetí případ může být zobrazen situací na obr. 6.4i. Zde se naměřená hodnota M rovná referenční hodnotě R . V dobách před připojováním odhadů nejistoty k výsledkům by se vzhledem k hraničnímu výsledku pravděpodobně požadovalo opakování analýzy. Jindy mohl tento výsledek projít, protože přísně vzato splňuje kritérium aby M nepřekročilo R . Když však posouváme M směrem k $+u$, horní mezi pravděpodobných skutečných hodnot, je M větší než R . Tuto šarži materiálu proto musíme také odmítnout.

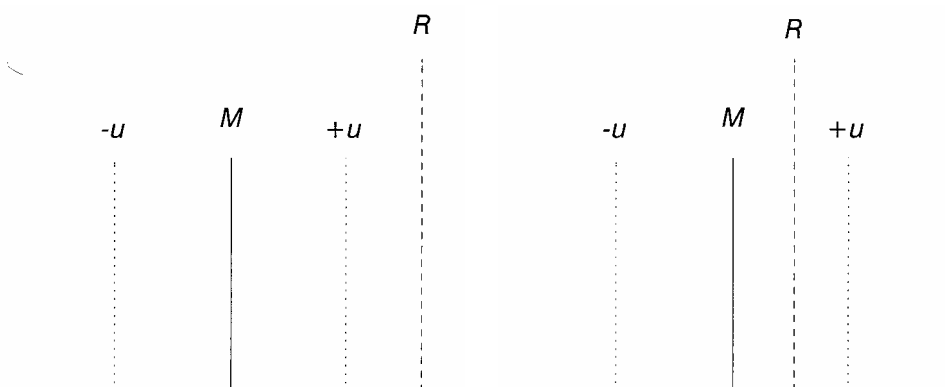
Další dvě zprávy na stole mohou popisovat typ výsledků znázorněných na obr. 6.4j a 6.4k. V obou těchto případech překračuje naměřená hodnota M referenční hodnotu R a posouváním M k horní hranici $+u$ se jenom tento rozdíl zvětšuje. Tyto šarže musíme také odmítnout.

Jestliže kritériem přijetí zde bylo, že M musí být větší než R , pak přirozeně platí výše uvedené argumenty obráceně, když posuzujeme vůči dolní hranici nejistoty $-u$.

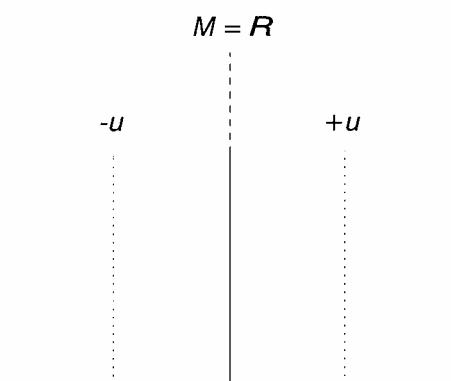
Obr. 6.4g až k. Vztahy mezi referenční hodnotou (R) a naměřenou hodnotou (M) včetně mezí

(g) $M < R, M + u(M) < R$

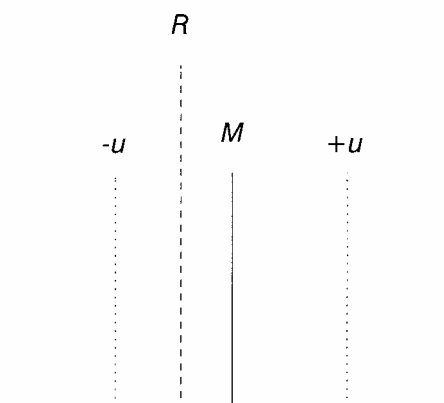
(h) $M < R, M + u(M) > R$



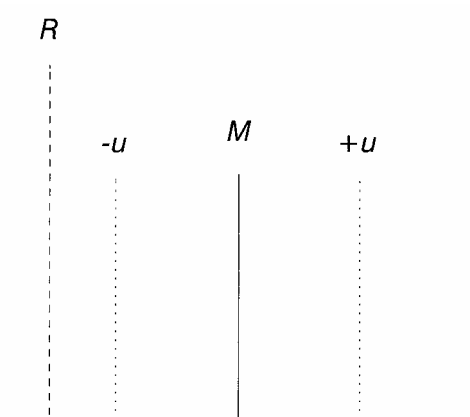
(i) $M = R$



(j) $M > R, M - u(M) < R$



(k) $M > R, M - u(M) > R$



Když porovnáváme s limity, platí jednoduché pravidlo: pokud spadá referenční hodnota dovnitř hranic nejistoty naměřené hodnoty, pak měřený objekt neprošel zkouškou.

6.4.4.2 Zlepšování jakosti výsledků

Další použití hodnot nejistoty spočívá v jejím potenciálu zlepšovat experimentální postupy. Abychom odhadli nejistotu měření, musíme sestavit seznam standardních nejistot proměnných z modelu měření. Chceme-li zlepšit jakost měření, musíme hledat složku, která přispívá největší nejistotou. Pokud je to dominantní složka, pak jakékoliv pokusy o zlepšení jiných částí měřicího systému budou pouhým mrháním času. Snížením rozsahu této nejistoty dosáhne naše snažení největšího zisku.

6.5 LITERATURA

1. Farrant T.: Practical Statistics for the Analytical Scientist. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1997. ISBN 0 85404. Dobrý pracovní návod.
2. Miller J. C., Miller J. N.: Statistics for Analytical Chemistry, 3rd ed., Ellis Horwood Ltd., London 1993, ISBN 0 13 030990. Obecná učebnice.

3. Montgomery D. C.: Introduction to Statistical Quality Control, 2nd ed., Wiley, New York 1991. Podrobný popis všech aspektů řízení jakosti.
4. International vocabulary of basic and general terms in metrology, ISO, Genève 1993.
[ČSN 01 0115 Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii. ČSNI, Praha 1996.]

7 Porovnávání vaší laboratoře s jinými

7.1 JAK SE VY A VAŠE LABORATOŘ POMĚŘUJETE S KONKURENCÍ?

Když pracuje laboratoř soustavně na vysoké úrovni jakosti, jsou kolísání výsledků, které tvoří, náhodná a lze je statisticky předpovídat. Meze stanovitelnosti a kvantifikace jsou známy a zůstávají konstantní. Jsou položeny pevné základy pro důvěru ve výsledky. Nicméně nejistota spojená s výsledkem nemá žádný význam, pokud se laboratoř nenachází ve statisticky regulovaném stavu. Další opatření se musí uplatňovat k zajištění správnosti a reprodukovatelnosti výsledků. Pro ustavení správnosti se musí používat certifikované referenční materiály (CRM). Aby plnily svůj účel, musí se CRM shodovat se zkušebními vzorky v matici a také jejich složení se musí blížit složení zkušebnímu vzorku.

Dříve než laboratoř přistoupí k mezilaboratorním porovnáním, je vhodné zkontrolovat výkonnost v rámci laboratoře. V laboratoři provádějící rutinní analýzy se musí pravidelně kontrolovat používané postupy a výkonnost analytiků. To lze uskutečnit používáním certifikovaných referenčních materiálů nebo interních referenčních materiálů a používáním kontrolních diagramů. Tím se prokáže, zda jsou získávané výsledky přijatelné a též se zviditelní případné problémy v okamžiku jejich vzniku. Nazývá se to interní řízení jakosti laboratoře.

7.2 MEZILABORATORNÍ STUDIE

Jsou dva typy mezilaboratorních studií. Jedna testuje výkonnost laboratoře, druhá výkonnost postupu (výkonnost laboratoře se považuje za uspokojivou do té doby, než se prokáže opak).

Když laboratoř přijala všechna opatření potřebná k dosahování správných výsledků, měla by prokázat svou výkonnost účastí v mezilaboratorních programech, navržených k testování výkonnosti. Takové programy přinášejí více informací než ‚slepé pokusy‘, tj. zařazení referenčního materiálu nebo vzorků analyzovaných již dříve do série ‚nových‘ vzorků.

Mezilaboratorní studie zaměřené na testování výkonnosti laboratoře se nazývají zkoušení způsobilosti. Několik laboratoří analyzuje společný materiál, který distribuovala centrální laboratoř, odpovědná též za shromáždění dat a jejich vyhodnocení. Takové studie jsou zvláště užitečné pro odhalování systematických chyb.

Zúčastněné laboratoře používají své vlastní metody s rozdílnými postupy přípravy vzorků, separačními technikami a koncovým stanovením. K objasňování problémů pak přispívají technické diskuse účastníků a porovnání výsledků na semináři.

7.3 PROGRAMY ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI

Programy zkoušení způsobilosti se zaměřují na testování způsobilosti pracovníků v analytické laboratoři. Mohou být racionálním podkladem při výběru některé laboratoře k určité práci a k vyloučení jiných. Laboratořím účastnícím se programu se předají vzorky a vyzvou se, aby analyzovaly jednu nebo více složek postupy, které pro stanovení určených analytů běžně používají. Důležité je, že hodnocení způsobilosti se vyjadřuje v pojmech skóre, které lze snadno interpretovat statistickými termíny.

System hodnocení musí být též použitelný v různých situacích. Zvláště jej musíte být schopni použít v rozmezí koncentrací. Laboratoř bývá někdy vyzvána, aby stanovila koncentraci analytu řekněme v 5 %, 10 % a 15 % koncentraci. Pro každou koncentraci bude přijatelná jiná směrodatná odchylka.

V zásadě existují dva hlavní typy programů zkoušení způsobilosti.

Za prvé jsou to ty, které měří úroveň způsobilosti skupiny laboratoří provádějících velmi specifické analýzy, např. olovo v krvi nebo počet vláken asbestu na membránovém filtru.

Za druhé jsou to ty, které posuzují způsobilost laboratoře pro určitou oblast nebo typ analýz. Vzhledem k velkému počtu kombinací analyt-matrice není možno použít zevrubné testování. Místo toho se vybere reprezentativní průřez analýzami (např. stopové kovy atomovou absorpční spektrometrií nebo detekce drog HPLC).

7.3.1 Organizování programů zkoušení způsobilosti

Bez ohledu na typ se program zkoušení způsobilosti obvykle organizuje jako sled zřejmých kroků.

Koordinující orgán stanoví pravidla průběhu testů a postupy interpretace dat. Seznámí s nimi účastníky, aby přesně porozuměli jak program proběhne a jak se budou jejich výsledky vyhodnocovat.

Materiály se vybírají tak, aby pokud možno co nejvíce reprezentovaly běžně analyzovaný materiál, co se týká matrice a koncentračního rozsahu analytu. Před distribucí se u materiálu musí testovat homogenita, neboť úspěšná interpretace všech

dat z testu je na tomto předpokladu jednoznačně založena – každá jednotlivá šarže zkušebního materiálu se musí kontrolovat, což obvykle provede jedna expertní laboratoř. Důležitým aspektem je přesnost, aby se všechny dílčí vzorky blížily jak jen to je možné stejnému složení. Nehomogenita může vždy vznikat i po distribuci materiálu sedimentací a separací. Proto, pokud se má z materiálu dodaného organizátorem k analýze analyzovat dílčí vzorek, je důležité celý vzorek před odběrem dílčího vzorku k analýze opět homogenizovat.

Experimentálně nebyl zjišťován optimální interval opakování programu. Jednoměsíční četnost jednotlivých kol určitého typu analýzy je maximum, které ještě může být efektivní. Je třeba brát v úvahu náklady na programy zkoušení způsobilosti v parametrech analytika času, ceny materiálů a vyrušení z jiné práce.

Po dokončení analýz vzorků podá laboratoř zprávu o výsledcích koordinátorovi, jenž pro každou laboratoř vytvoří skóre. Koordinátor seznámí účastníky s výsledky co nejdříve po uzavěrci výsledků, aby mohli reagovat na případné problémy. Výsledky se obvykle předávají jako počítačové sestavy, které obsahují podrobné informace o výkonnosti účastníka a o jeho pořadí, počtu odlehých výsledků, celkové distribuci výsledků a podobně.

Během počátečních kol programů dochází obvykle k významnému celkovému zlepšení výkonnosti, i když u některých laboratořích nemusí být trvalé – dosáhnou dobrých výsledků v jednom kole, ale nejsou schopny je udržet delší dobu, což napovídá, že nemají zavedený odpovídající systém jakosti. Postupy pro tyto programy jsou popsány ve velmi užitečném harmonizovaném protokolu (Horwitz¹ 1988). Ten se však nezabývá širšími problémy jako jsou náklady a výsledné přínosy.

7.3.2 Hodnocení testů způsobilosti

Běžně používaný systém hodnocení způsobilosti laboratoře v testech způsobilosti je **z-skóre**.

z-Skóre je definováno

$$z = \left| \frac{x_i - A}{s} \right|$$

kde x_i je naměřená hodnota koncentrace analytu, A je „skutečná“ hodnota koncentrace analytu, s je zvolená směrodatná odchylka. Organizátoři musí určit pro tuto rovnici dva parametry, A a s .

Odhad „skutečné“ hodnoty A

K odhadu hodnoty A lze dospět třemi cestami.

- (i) Přídavkem známého množství analytu k matici, která jej neobsahuje. Tato metoda je v mnoha případech zcela vyhovující, obzvláště pokud potřebujeme spíše než koncentraci celkové množství analytu. Jestliže potřebujeme připravit koncentraci v řádu jedna k milionu, pak musí být známo přesné množství

matrice, do něhož přidáváme analyt, stejně jako přesné množství přídatku. Pokud se použije pro analýzy jenom část, pak musíme vědět, že je analyt rozmístěn pravidelně (tj. že je homogenní).

- (ii) Použití konsensuální hodnoty vytvořené skupinou expertních laboratoří s použitím nejlepších dostupných metod. Je to pravděpodobně postup nejbližší k získání skutečných hodnot zkoušených materiálů, leč může být také hodně nákladný.
- (iii) Použití konsensuální hodnoty vytvořené v každém kole zkoušení způsobilosti a založené na výsledcích účastníků. Tento přístup je zjevně nejlevnější cestou k získání odhadu skutečné hodnoty jako průměru výsledků zkoušek. Problémy však vznikají když se účastníci neshodnou nebo je jejich průměr vychýlený z důvodu chybné metodiky. Jsou známy případy, kdy hodnota která se jevila jako odlehlá byla ve skutečnosti správnou hodnotou.

Odhad směrodatné odchylky s

K přijatelnému odhadu hodnoty směrodatné odchylky vedou tři cesty.

- (i) Použití cílové směrodatné odchylky, která charakterizuje analyt při dané koncentraci. Tento přístup má výhodu v tom, že lze porovnávat výsledky různých běhů programu.
- (ii) Výpočet směrodatné odchylky z výsledků dodaných všemi laboratořemi v programu.
- (iii) Pokud je to možné, použijte směrodatnou odchylku z mezilaboratorních testů, kde všichni účastníci testu používali stejný postup.

Význam z

Předpokládáme-li, že mají analytické výsledky normální rozdělení s průměrem μ a rozpětím $\pm 3s$, pak hodnoty z mají též přibližně normální distribuci, ale s průměrem nula a směrodatnou odchylkou jedna. Ze statistického hlediska lze vytvořit meze absolutní hodnoty z . Požadujeme-li 95% spolehlivost svých výsledků, pak jsou meze přijatelných hodnot $z +2$ až -2 .

Proto je hodnocení na základě z -skóre

$ z \leq 2$	uspokojivé
$2 \leq z < 3$	problematické
$ z > 3$	neuspokojivé

$|z|$ představuje absolutní hodnoty z , tzn. ignoruje $+$ a $-$.

7.4 MEZILABORATORNÍ STUDIE POSTUPU A CERTIFIKAČNÍ SCHÉMATA

Mezilaboratorní studie postupu je jiná forma mezilaboratorních testů. Je to studie výkonnosti postupu, není to studie výkonnosti laboratoře. Každá laboratoř použije k analýze identických podílů homogenního materiálu stanovený postup. Pak je možné odhadnout pro tento analytický postup výkonnostní charakteristiky. Mezilaboratorní studie postupu lze použít při vývoji legislativních analytických metod. Vlády, obchodní sdružení nebo normalizační orgány požadují pro určitý analyt v určité matici zavádění standardních postupů. Sestaví se k tomu pracovní skupina expertů v této oblasti a seznam laboratoří, které se této studii účastní. Pracovní skupina určí koordinátora a začne organizovat mezilaboratorní studii. Sled událostí pro takovou studii je uveden dále.

- (i) Text navrženého postupu se rozešle všem účastníkům.
- (ii) Zpět koordinátorovi se odešlou připomínky k postupu.
- (iii) Revidovaný text postupu a vzorky se pošlou účastníkům spolu s jasnými instrukcemi k účasti.
- (iv) Účastníci analyzují vzorky.
- (v) Výsledky se odešlou koordinátorovi ke statistické analýze.
- (vi) Zpráva o studii se pošle účastníkům.
- (vii) Koordinátor po konzultaci s účastníky podá konečný návrh postupu.

Kroky (ii) až (vi) může být nutné opakovat až do shodného souhlasu s uspokojivým postupem.

Certifikační studie je jiný typ mezilaboratorní studie. Jejím účelem je poskytnout referenční hodnotu koncentrace analytu v navrženém referenčním materiálu. Pro certifikační analýzy platí přísná pravidla, stanovená v Pokynu ISO 35: „Certifikovaná hodnota musí být správným odhadem skutečné hodnoty se spolehlivým odhadem nejistoty, vyhovující požadavkům koncového uživatele“. Certifikace primárních kalibračních standardů, jako jsou čisté sloučeniny a kalibrační roztoky, se opírá o identifikaci, posouzení čistoty a stechiometrie a o gravimetrické metody. Matricové CRM nelze certifikovat na podkladě přímých gravimetrických metod, neboť vzorky se musí analyzovat po úplné transformaci nebo odstranění matrice. V tom případě existují tři možné přístupy:

- (i) certifikace v jedné laboratoři používající tak zvanou definitivní metodu např. dvěma nebo více nezávislými analytiky;
- (ii) certifikace v jedné laboratoři používající dvě nebo více tak zvaných referenčních metod dvěma nebo více nezávislými analytiky;
- (iii) certifikace mezilaboratorní studií používající dvě nebo více různých metod pokud možno zahrnujících i definitivní metodu.

Ve všech případech se musí využívat pouze laboratoře s vysokou a prokázanou jakostí.

Přístupy (i) a (ii) uvedené výše, které používají definitivní metody v jediné laboratoři, nevylučují riziko, že se v této laboratoři vyskytne systematická chyba. Proto je doporučené následné potvrzení mezilaboratorních studií. Pro některé

chemické parametry existují takzvané přímé* metody, které nepotřebují externí kalibraci, např. gravimetrie, titrimetrie atd., nebo metody definitivní. Isotopová zředovací hmotnostní spektrometrie (IDMS) s elektrotermickou ionizací může sloužit jako definitivní metoda. Avšak certifikace matricových referenčních materiálů nějakou definitivní metodou, např. IDMS, neposkytne uživateli, který nepoužívá tuto metodu v každodenní praxi, přiměřený odhad nejistoty, jakou dosáhne jinými metodami. Navíc jsou u definitivních metod oblasti použití velmi omezené co se matrice a certifikovaných hodnot vlastností týká.

Mezilaboratorní certifikační studie jsou organizovány podle stejných zásad jako jiné mezilaboratorní studie, ale zahrnují pouze vysoce specializované laboratoře. Organizátoři studií musí také prokázat schopnosti takové studie organizovat. Požaduje se, aby ověřovali spolehlivost účastníků tím, že se účastní programů postupného zdokonalování. Tento přístup používá BCR** pro všechny referenční materiály, u nichž se mají poprvé certifikovat nové hodnoty vlastností matricového materiálu.

7.5 ZÁVĚR

Zlepšení jakosti analytických výsledků vyžaduje dokonalé seznámení se s postupem a možnými výskytmi chyb. K tomu musíte rozumět chemii, která je použita v metodice počínaje extrakcí až po konečné stanovení. Použití referenčních materiálů v průběhu validace zaručí, že jsou vaše výsledky návazné. Návazný v této souvislosti znamená, že váš konečný výsledek může být vztažen k uznávanému standardu, stejně jako může být délka vztažena k etalonu metru. Tato návaznost zahrnuje též kalibraci používaných zařízení.

System jakosti v laboratoři požaduje, aby byl postup popsán a aby byly správně připraveny všechny dokumenty, ale je na vás jako na analytikovi, abyste se správně řídili celým souborem postupů.

Myslete také na potřeby zákazníka a poskytněte službu, která je jakostní s ohledem na správnost, návaznost, spolehlivost a rychlost, s úplnými záznamy o vzorku od předání zákazníkem po konečný výsledek.

7.6 LITERATURA

1. Horwitz W.: Pure and Applied Chemistry **60**, 855–864 (1988).

* Obvykle se jim říká *primární metody* (pozn. překl.).

** Community Bureau of Reference, certifikační orgán Evropských společenství (pozn. překl.).

8 Řízení jakosti

8.1 SYSTÉM JAKOSTI A PŘÍRUČKA JAKOSTI

Postupem času si každá zkušební laboratoř vypracuje soubor postupů jako pomůcku, napomáhající při práci. Některé laboratorní postupy jsou v písemné formě, jiné znají určití pracovníci. Některé se považují za ‚všeobecné znalosti‘ – nebo si alespoň všichni myslí, že jimi jsou, dokud někdo něco neudělá špatně, protože nezná správný postup! To může skončit tak, že se management laboratoře rozhodne na formálním systému dokumentování všech činností. Ten je pak základem systému jakosti.

Proto se musí podrobnosti laboratorního systému jakosti popsat tak, aby každý v laboratoři věděl co systém představuje a co se od něj očekává. Dokumentem nejvyšší úrovně je příručka jakosti. Ve většině laboratoří je systém stanovený příručkou jakosti podepřen celou řadou dalších, podrobnějších dokumentů jakosti, jako jsou na příklad požadavky na způsobilost zařízení, kalibrační postupy a standardní operační postupy.

Když se laboratoř rozhodne, že napíše příručku jakosti, vynesou proces přesného formulování ‚co je to systém jakosti‘ a příprava příručky na světlo různé nedůslednosti, rozdíly mezi praxí v laboratoři a představami a pravděpodobně odhalí některé činnosti, které se vůbec neprovádějí. Když se jednou tyto problémy prodiskutují a sepíší se odsouhlasené postupy, bude mít personál referenční knihu – příručku jakosti – na kterou se může obracet když si potřebuje ověřit, jak se má něco vykonat.

8.2 PŘÍNOSY A CENA ZAVEDENÍ SYSTÉMU JAKOSTI

Není pochyb o tom, že laboratoř, která provozuje řádně zavedený a funkční systém jakosti, bude mít nějaké další provozní náklady v porovnání s laboratoří, která takový systém neprovozuje. Tyto vyšší náklady se proto musejí odrazit v cenách laboratorních služeb. Je však mnoho přínosů, které přijetí systému jakosti vyvolá. Na ty se běžně pohlíží jako protiváhu nákladů. Stále více laboratoří stojí před nutností zavést a akreditovat z obchodních důvodů systém zabezpečení jakosti, jenž vyhoví požadavků rozmanitých zákazníků.

8.2.1 Přínosy systému jakosti

Čím je laboratoř větší, čím déle působí a čím složitější jsou její postupy, tím je pravděpodobnější, že začne docházet k nedorozuměním a chybám. I v malých laboratořích může nepřítomnost člena pracovního týmu, který je na dovolené nebo onemocněl, způsobit zmatek. Jsou-li pracovní postupy popsány jako součást systému jakosti tak, aby se k nim mohl personál odvolávat, množství takových chyb se sníží.

Když laboratoř zjistí, že vydala nesprávné výsledky, je vystavena nepříjemnému výhledu, že bude muset zákazníkům sdělit co se přihodilo a nabídnout nové analýzy dotčených vzorků. Může být také postavena před požadavky na náhradu škody způsobené v důsledku činností, založených na chybných výsledcích laboratoře. Jestliže zajistíme, aby řádně pracující systém minimalizoval výskyt chyb, znamená to minimalizování počtu případů, kdy je nutno vynaložit další práci k nápravě důsledků chyb. To vede v laboratoři k významným úsporám.

Tuto koncepci ‚komplexní jakosti‘ neboli ‚správně hned napoprvé‘ nyní široce přejímá průmysl. Každý, kdo se setkal s problémy vyvolanými chybnými výrobky od automobilu po topinkovač, ocení výhody tohoto přístupu vedoucího ke zlepšení dojmu, jímž zákazník firmu vnímá. Každá organizace, která si buduje pověst výrobce spolehlivých výrobků, má značnou výhodu před konkurenčními organizacemi, jejichž výrobky jsou známy svou nespolehlivostí, ať jsou jejich reklamní projevy jakkoliv strhující.

Další pozitivní přínos pro laboratoře spočívá v tom, že zákazníci stále častěji žádají důkaz spolehlivosti jejich výsledků. Nejjednodušší cestou je trvat na tom, aby každá laboratoř ucházející se o zakázku byla akreditována u akreditačního orgánu. Jestliže laboratoř zavedla systém jakosti a nechala si jej posoudit a akreditovat externím akreditačním orgánem, může toto uznání svého standardu používat jako pozitivní reklamu svých služeb.

Z důvodu nákladů a rizik trvá stále více zákazníků laboratoří na tom, aby každá laboratoř, která pro ně pracuje, měla uznaný systém jakosti ve shodě s normami jakosti.

8.2.2 Náklady systému jakosti

Se zaváděním systému jakosti však souvisejí mnohé náklady. Některé představují okamžité výdaje laboratoře, ale většina vyplývá z potřeby převést některé lidské zdroje z práce pro zákazníka na interní činnosti zabezpečování jakosti. Pro většinu laboratoří platí „time is money“, proto se musí dopady na zdroje předvídat a včlenit do rozpočtu.

Proces formalizování laboratorních postupů do systému jakosti a jeho dokumentování v příručce jakosti je náročný na čas. Výsledkem je jednotná, srozumitelná struktura, která se snadno řídí a je mnohem efektivnější.

Zpočátku jsou zapotřebí zdroje na dosažení shody se systémem jakosti a na jeho popsání v příručce jakosti. Následují náklady na práci s udržováním systému jakosti

v aktuálním stavu. Zahrnuje to náklady na manažera jakosti, který spravuje systém jakosti a provádí periodické kontroly jeho funkce. V některých organizacích může manažer jakosti nést odpovědnost za určitou oblast analytických činností. Tuto práci pak musí kontrolovat jiná určená osoba.

Laboratoř musí provozovat svůj vlastní interní systém zabezpečení jakosti jako součást systému jakosti. To obvykle zahrnuje vzorky řízení jakosti (jak interní slepé vzorky, tak účast v externích programech zkoušení způsobilosti), opakované analýzy, regulační diagramy, validování postupů, pořízení a používání vhodných referenčních materiálů a pravidelné analýzy slepých a referenčních vzorků. Všechny tyto zásadní činnosti představují pro laboratoř další náklady nad náklady pouhých analýz vzorků.

Konečně hodlá-li být laboratoř akreditována externí organizací, pak různé třetí strany – akreditační orgány – též účtují poplatky za posouzení systému jakosti laboratoře.

Odhad celkových nákladů na všechny tyto činnosti je značně proměnlivý a je těžké jej kvantifikovat. Obvykle se uvádí, že zvýšení provozních nákladů činí 5 % až 10 % celkových nákladů. Jejich oprávněnost se zdůvodňuje kombinací úspor snížením výskytu chyb, jednodušší organizační strukturou jež se snáze řídí, výhodou lepšího obrazu laboratoře v očích současných i potenciálních zákazníků.

8.3 AUDITY JAKOSTI A PROVĚŘOVÁNÍ SYSTÉMU JAKOSTI

Systém a postupy auditů a prověrek jakosti jsou samostatným požadavkem normy ČSN EN ISO/IEC 17 025¹. Představují kritický prvek každého systému jakosti.

První a nejdůležitější věc, kterou musíme o auditu jakosti a prověřování systému jakosti vědět je, že jsou to dvě zcela odlišné činnosti. Začneme proto jejich definicemi.

Interní audit jakosti (QA) Audit jakosti je kontinuální proces kontrolování systémů jakosti používaných v laboratoři s cílem ověřit, zda jsou systémy účinné, dokumentované a dodržované personálem. Z vašeho pohledu takový audit jakosti kontroluje, zda jste svou práci provedli tak, jak je uvedeno v písemných laboratorních postupech. Za audit jakosti odpovídá manažer jakosti, i pokud audit sám neprovádí.

Prověřování systému jakosti (QSR) Prověřování systému jakosti je periodické přezkušování systémů jakosti laboratoře, zda jsou stále přiměřené. Za prověřování systému jakosti odpovídá management laboratoře.

Laboratoře, které se ucházejí o externí akreditaci, musí obě činnosti plánovat a mít je popsané, aby mohly prokázat, že obě provádějí.

8.3.1 Význam interních auditů jakosti a prověřování systému jakosti

(neboli ‚Proč nestačí externí akreditace‘)

Žádná laboratoř nemůže spoléhat výhradně na periodická posuzování externím orgánem a mít tak jistotu, že průběžně dodržuje normy jakosti. Je k tomu několik důvodů.

- (i) Posuzování třetí stranou je vždy výběrové zkoušení. Provádějí je posuzovatelé, kteří jsou experty v dané pracovní oblasti, ale nemusejí znát některé detaily posuzovaných postupů. I když posuzovatelé dělají co mohou, nelze zaručit, že odkryjí všechny možné problémy laboratoře. Zjištění externích posuzovatelů je třeba spíše než jako pouhé případy neshody s normou chápat jako indikaci typů činnosti, které musí laboratoř znovu prověřit.
- (ii) Externí akreditace je něco jako zdravotní prohlídka – platí v den konání, tj. poskytuje ‚snímek‘ určitého dne. Pokud se provádějí posuzování třetí stranou ročně nebo každý druhý rok, je dost času na to, aby se věci v období mezi návštěvami pokazily.
- (iii) Ve velkých laboratořích, kde se provádějí tucty nebo i stovky různých typů analýz, je další, interní systém kontroly systému jakosti obzvláště důležitý. Externí tým posuzovatelů má při každé návštěvě naději detailně prohlédnout a posoudit relativně malý počet analýz, takže mezi opětným detailním externím prověřením analýzy mohou uplynout roky.
- (iv) Laboratoře nemusí přihlásit v rámci externí akreditace všechny analýzy, které provádějí. Pokud chtějí prokázat dodržování jakosti i v těchto dalších oblastech své činnosti, je interní audit jakosti jedinou dostupnou možností.

Laboratoř proto musí pro ověřování svého systému jakosti nezbytně používat vlastní interní audity, aby prokázala, že dodržuje normy jakosti. Rámcem pro toto interní posuzování norem jakosti jsou interní audity jakosti a prověřování systému jakosti.

Když pracuje systém auditů a prověřování uspokojivě, může management laboratoře očekávat, že externí posouzení vysloví důvěru v systémy, které sám zkontroloval. Externí proces posuzování se spíše podobá konzultaci se zasvěcenou diskusí mezi externími auditory a personálem laboratoře o současných nejlepších zkušenostech v udržování a zlepšování jakosti.

Aby laboratoř udržela a zlepšovala jakost provozu, musí průběžně testovat a opětovně prověřovat svůj systém jakosti. Systematický a pravidelný proces interních auditů jakosti a přezkoumání jakosti představuje strukturovanou cestu k dosažení tohoto cíle. Důležitým rysem přezkoumávání systému jakosti je angažovanost managementu, shoda o tématech předkládaných k diskusi a zaznamenávání celého procesu přezkoumání.

Když jsme byli vyzdvihli důležitost auditu jakosti a přezkoumání systému jakosti, zaměříme se nyní podrobně na každý z nich abychom viděli, jak se provádějí prakticky.

8.3.2 Rozsah interních auditů jakosti

Je třeba kontrolovat všechny aspekty laboratorní činnosti, které mohou ovlivnit validitu konečného výsledku. Zahrnuje to mimo jiné na příklad dokumentaci, vybavení, kalibrace, postupy, materiály, uchovávání záznamů a kontrolu řízení jakosti. Některé aspekty však jsou mimo rozsah auditu. Ochranu a bezpečnost obvykle upravuje jiný typ auditování.

Příklad některých hledisek, které se musí posuzovat jako součást interního auditu jakosti, uvádí tabulka 8.3.

Tabulka 8.3. Typické položky auditu jakosti

Oblast	Co by měl auditor hledat
Personál	Záznamy o školení
Prostředí	Vyhovuje laboratorní prostředí prováděné práci?
Vybavení	Požívané vybavení vyhovuje účelu, je podle potřeby dostatečně udržované a kalibrované?
Metody a postupy	Postupy jsou plně dokumentované, dostatečně validované a schválené k používání?
Chemické a fyzikální etalony	Jsou k dispozici standardy a další materiály potřebné ke zkouškám?
Řízení jakosti	Ke každé zkoušce je řízení jakosti na dostatečné úrovni
Řízení vzorků	Existuje funkční dokumentovaný systém příjmu vzorků, identifikace vzorků a požadovaných analýz, evidence postupu analýzy, vystavení zprávy a osud vzorku?
Záznamy	Pracovní sešity/listy a další záznamy obsahují údaj o datu zkoušky, analytikovi, analytu, detailech vzorku, pozorováních, řízení jakosti, všechny průběžné výpočty, záznamy o přístrojích a platná kalibrační data?
Zpráva o zkoušce	Informace ve zprávách se kryjí s požadavky platné normy managementu jakosti?

Aby mohli auditoři účinně plnit svou funkci, musí nezbytně rozumět podstatě prováděných zkoušek. Auditoři proto musí mít přístup k relevantní dokumentaci ještě před auditem, aby se mohli seznámit s principy a praktickými detaily auditovaných analýz.

Posuzovatel nebo auditor ví, že i když se dokumentované postupy používají přesně podle předpisu, nemusí ve skutečnosti vyhovovat analyzovaným vzorkům. Na příklad postup vyvinutý a validovaný pro analýzu vody, při němž se dosahuje téměř 100 % výtěžnosti analytu, by mohl být použit na vzorky kalu, kdy je výtěžnost kolem 10 %, aniž by kdokoliv ověřil, že jsou analyty z tohoto nového substrátu skutečně dostupné. To podtrhuje nutnost zajistit ‚vhodnost pro daný účel‘ a zejména validaci postupů pro konkrétní typ vzorku.

Podobně se někdy zjišťuje, že malé obměny postupu odběru vzorků před počátkem analýzy způsobí neplatnost analytického výsledku. Je proto nezbytné úplně

pochopení analytického přístupu, aby auditor takovéto neshody rozeznal. Řadu těchto příkladů jsme podrobně diskutovali v předcházejících kapitolách.

8.3.3 Vertikální audit

Vedle podrobných kontrol postupů podle kontrolního seznamu* má obzvláštní význam ‚stopovací audit‘. Je to ‚vertikální audit‘ a znamená chronologické zkoumání všech záznamů týkajících se určitého vzorku, který prošel laboratoří, od okamžiku převzetí přes různé analýzy až po zprávu o výsledcích a jeho případnou likvidaci. Těmto vertikálním auditům se proto také někdy říká ‚od narození do smrti‘.

Tento typ auditu historie vzorku, při němž se vyžadují všechny záznamy, grafy, spektra, výpočty, atd., které se měly vytvořit, často osvětlí problémy, které ‚horizontální audit‘ určitých činností neodhalí. Na příklad ukáže na přístroj, který není uveden jako součást postupu, a který proto nemusel být zahrnut v kalibračních postupech.

Auditor by měl přepočítat všechna prvotní data a zopakovat všechny výpočty, aby se přesvědčil, že jsou udávané výsledky správné. Vedle toho, že přezkoušení primárních dat pomůže najít chyby, často ukáže na neoprávněné výroky o detekčním limitu a nejistotě měření.

8.3.4 Přezkoumání systému jakosti

Přezkoumání systému jakosti je schůze, na níž management laboratoře posoudí všechny aspekty systému jakosti laboratoře. Rozhodne se, zda jsou nutné nějaké změny buď proto, že jsou nutná zlepšení, nebo aby se odrazily provozní změny jako jsou nové techniky nebo zrušení některé oblasti činnosti.

8.4 ODPOVĚDNOST PERSONÁLU ZA JAKOST

Odpovědnost za udržování, používání a zlepšování systému jakosti laboratoře spočívá na každém pracovníkovi laboratoře. Systém jakosti laboratoře může být skutečně spolehlivý jen když každý plní v systému svou úlohu. Podíváme se teď, jak mohou různé skupiny v laboratoři přispívat k celkové efektivnosti systému jakosti.

8.4.1 Odpovědnost managementu laboratoře za jakost

Management laboratoře nese primární odpovědnost za rozhodování o politice jakosti a o výběru vhodné normy (nebo norem) jakosti, jíž by měli ve své laboratoři zavést. Volba systému jakosti by měla vyhovovat účelu jak z pohledu laboratoře, tak z pohledu jejích zákazníků. Management musí uvolnit zdroje potřebné k zavedení systému jakosti včetně jmenování vhodné osoby pro manažera jakosti laboratoře.

* I v češtině se s oblibou používá původní výraz *check-list* (pozn. překl.).

System jakosti laboratoře se popíše ve formě příručky jakosti a management ji pak musí schválit jako písemný dokument, jímž se politika jakosti uvede do praxe.

Dále má management stálou povinnost pravidelně přezkoumávat systém jakosti laboratoře, aby zjišťoval, zda stále vyhovuje pracovnímu programu v laboratoři. To se obvykle uskuteční na schůzi o přezkoumání systému jakosti, i když se v průběhu roku nejspíše zabýval řadou problémů spojených s jakostí.

Konečná odpovědnost managementu je poskytovat na potřebné úrovni zdroje potřebné pro udržování systému jakosti.

8.4.2 Odpovědnost manažera jakosti

Manažer jakosti působí jako ohnisko problémů v laboratoři. Manažer jakosti odpovídá za to, že je personál seznámen s odpovídajícími normami jakosti. Tato osoba také odpovídá za sepsání a udržování příručky jakosti, která stanovuje, jak se systém jakosti používá v praxi.

Manažer jakosti musí organizovat laboratorní systém auditů jakosti a zajistit, aby se všechny problémy zjištěné při auditu napravily ve stanoveném termínu.

Manažer jakosti pak připravuje všechny potřebné materiály pro rozhodování na schůzi o přezkoumávání systému jakosti a zajišťuje, aby se všechna rozhodnutí z této schůze uskutečnila.

V laboratoři akreditované nezávislým akreditačním orgánem odpovídá manažer též za spolupráci s akreditačním orgánem a za potřebné kroky k periodickým kontrolním návštěvám laboratoře.

8.4.3 Odpovědnosti jednotlivých zaměstnanců laboratoře

Veškerý personál laboratoře odpovídá za to, že je seznámen se systémem jakosti, jak je popsán v příručce jakosti a v doprovázející dokumentaci.

Očekává se od něj, že se budou řídit postupy popsány v příručce jakosti. To však neznamená, že se stanou pouhými roboty bez svobody volby nebo bez možnosti projevit se. Naopak, musí používat své praktické znalosti a zkušenosti a navrhnout zlepšení systému laboratoře tak, aby odrážel změny v požadavcích zákazníků, zdokonalení technického vybavení a další změny, které pravidelně v analytické práci nastávají. Vždy je třeba mít na mysli, že normy jakosti nemají bránit změnám, na druhou stranu ale vyžadují, aby ke změnám docházelo strukturovaným způsobem. Změna je požadavek trvalý v každém dynamickém systému, leč když se zavádí nahodile, může způsobit nedorozumění a chyby. Každý systém jakosti proto musí být schopen přijmout změny vedoucí ke zdokonalení provozu laboratoře, musí však zajistit, aby byly změny uváženy, schváleny, dokumentovány a zavedeny řízeným způsobem.

8.5 LITERATURA

1. ČSN EN ISO/IEC 17 025 (01 5253) Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří.

9 Laboratorní normy a schémata zkoušení způsobilosti

9.1 TYPY NOREM JAKOSTI PRO LABORATOŘE

Normy, které popisují standardy jakosti v analytických laboratořích, lze rozdělit do tří hlavních skupin:

- Normy založené na dřívějším, přepracovaném Pokynu ISO 25 (ČSN EN ISO/IEC 17 025 Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří a ČSN EN ISO/IEC 15 189 Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na jakost a způsobilost).
- Série norem ČSN EN ISO 9000.
- Zásady správné laboratorní praxe OECD

ČSN EN ISO/IEC 17 025 a podobné normy

Norma *ČSN EN ISO/IEC 17 025:2001* Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří popisuje nejen systém jakosti, ale i požadavky na odbornou způsobilost laboratoří a způsoby, jimiž se odborná způsobilost dosahuje a prokazuje.

Norma *ČSN EN ISO/IEC 15 189:2004* Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na jakost a způsobilost uvádí požadavky na způsobilost a jakost zdravotnických laboratoří. Služby zdravotnické laboratoře jsou základem péče o pacienta a laboratoř proto musí být připravena splnit požadavky všech pacientů i klinického personálu odpovědného za péči o tyto pacienty. Tyto služby zahrnují organizaci příjmu, identifikaci a přípravu pacienta, odběr, dopravu, skladování, zpracování a vyšetřování klinických vzorků, následné ověření, interpretaci, předkládání zpráv a poradenskou činnost, a navíc hodnocení bezpečnosti a etiky práce zdravotnické laboratoře.

Obě normy mají strukturu, prvky a terminologii převzaté z norem řady ISO 9000 z devadesátých let. Vazba na nová, zcela přepracovaná vydání ISO 9000:2000 se proto projeví až po jejich připravované novelizaci.

Série norem ISO 9000

ČSN EN ISO 9000 ed. 2:2002 Systémy managementu jakosti - Základy, zásady a slovník

Série ISO 9000 představuje normy pro management jakosti, používané organizacemi vyrábějícími nebo prodávajícími výrobky nebo služby. ČSN EN ISO 9000 popisuje základy a zásady systémů managementu jakosti, které jsou předmětem norem souboru ISO 9000:2000, a definuje související termíny.

ČSN EN ISO 9001 ed. 2:2002 Systémy managementu jakosti – Požadavky

V této normě jsou specifikovány požadavky na systém managementu jakosti v případech, kdy organizace potřebuje prokázat svoji schopnost trvale poskytovat výrobek, který splňuje požadavky zákazníka a příslušné požadavky předpisů, kdy má v úmyslu zvyšovat spokojenost zákazníka, a to efektivní aplikací tohoto systému, včetně procesů pro jeho neustálé zlepšování.

ČSN EN ISO 9004 ed. 2:2002 Systémy managementu jakosti - Směrnice pro zlepšování výkonnosti

Tato norma poskytuje směrnice nad rámec požadavků uvedených v ISO 9001, aby se vzala v úvahu jak efektivnost, tak účinnost systému managementu jakosti a tedy potenciál pro zlepšování výkonnosti organizace. Ve srovnání s ISO 9001 jsou cíle, týkající se spokojenosti zákazníka a jakosti výrobku rozšířeny tak, aby zahrnovaly spokojenost zainteresovaných stran a výkonnost organizace. Norma je použitelná pro procesy organizace, takže zásady managementu jakosti, sloužící jako základ, lze rozvinout v celé organizaci. Záměrem této normy je dosažení pokračujícího zlepšování měřeného spokojeností zákazníků a jiných zainteresovaných stran. Tato norma obsahuje návod a doporučení a není určena pro účely certifikace, pro vypracování předpisů nebo pro smluvní účely, ani jako pokyn pro uplatňování ISO 9001.

S uvedenými normami souvisí i další normy, použitelné v managementu jakosti, např.

ČSN ISO 10 005:1997 Management jakosti - Směrnice pro plány jakosti; *ČSN EN ISO 10 012:2003* Systémy managementu měření – Požadavky na procesy měření a měřicí vybavení; *ČSN ISO 10 015:2001* Management jakosti – Směrnice pro výcvik.

Zásady správné laboratorní praxe

Zákon 356/2003 Sb., Zákon o chemických látkách a chemických přípravcích a o změně některých zákonů

Vyhláška Ministerstva životního prostředí č. 219/2004 Sb., o zásadách správné laboratorní praxe. Překlad dokumentu „Rozhodnutí rady OECD“ [C(97)186/Final]

Zákon č. 79/1997 Sb., o léčivech a o změnách a doplnění některých dalších zákonů ve znění pozdějších předpisů

Zákon č. 552/1991 Sb., o státní kontrole

Vyhláška Ministerstva zdravotnictví a Ministerstva zemědělství č. 504/2000 Sb., kterou se stanoví správná laboratorní praxe v oblasti léčiv. Překlad dokumentu „Rozhodnutí rady OECD“ [C(97)186/Final]

Zásady správné laboratorní praxe OECD:
<http://webdomino1.oecd.org/comnet/env/GoodLab.nsf>

- No 1: OECD Principles on Good Laboratory Practice
- No 2: Revised Guides for Compliance Monitoring Procedures for Good Laboratory Practice
- No 3: Revised Guidance for the Conduct of Laboratory Inspections and Study Audit
- No 4: Quality Assurance and GLP
- No 5: Compliance of Laboratory Suppliers with GLP Principles
- No 6: The Application of the GLP Principles to Field Studies
- No 7: The Application of the GLP Principles to Short&Term Studies
- No 8: The Role and Responsibilities of the Study Director in GLP Studies
- No 9: Guidance for the Preparation of GLP Inspection Reports
- No 10: The Application of the Principles of GLP to Computerised Systems
- No 11: The Role and Responsibility of the Sponsor in the Application of the Principles of GLP
- No 12: Requesting and Carrying Out Inspections and Study Audits in Another Country
- No 13: The Application of the OECD Principles of GLP to the Organisation and Management of Multi-Site Studies

Zkoušení způsobilosti

[http://www.cai.cz/www/cia/np.nsf/assetkey/mpzcz.pdf/\\$FILE/mpzcz.pdf](http://www.cai.cz/www/cia/np.nsf/assetkey/mpzcz.pdf/$FILE/mpzcz.pdf)
<http://www.cmi.cz/index.php?lang=1&act=111>
<http://aslab.vuv.cz>
<http://www.sekk.cz>

Evropská databáze organizátorů programů zkoušení způsobilosti
<http://www.eptis.bam.de/>

EURACHEM-ČR, řada příruček Kvalimetrie
<http://www.eurachem.cz>

- Kvalimetrie 8. Základy metrologie v chemii. Praha 1998.
- Kvalimetrie 9. Vhodnost analytických metod pro daný účel. Laboratorní příručka pro validaci metod a související činnosti. Praha 1999.
- Kvalimetrie 10. Jakost v analytické laboratoři 2000. Praha 2000.
- Kvalimetrie 11. Stanovení nejistoty analytického měření (překlad rozšířeného anglického vydání z r. 2000). Praha 2001.
- Kvalimetrie 12. Průvodce jakostí v analytické chemii. Pomůcka k akreditaci (překlad anglického vydání *Guide to Quality in Analytical Chemistry. An Aid to Accreditation* z r. 2002). Praha 2003.
- Kvalimetrie 13. Kolektiv autorů: Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. Praha 2003.

Kvalimetrie 14. Příručka EURCHEM/CITAC: Návaznost chemických měření.
K. Bičovský, J. Dempír, L. Dohnal, B. Friedecký, J. Kratochvíla,
J. Kučera, Z. Plzák: Používání referenčních materiálů v chemické
analýze. Metodická příručka. Praha 2004.

Rejstřík

audit			
interní	109, 111		
jakosti	109		
vertikální	112		
bezpečnost	56		
bias	<i>viz</i> chyba systematická		
celkový management jakosti	<i>viz</i> TQM		
certifikovaný referenční materiál	70		
dokumentace	76		
řízení	79		
etalon molu	19		
faktor pokrytí	<i>viz</i> poznámka na str. 97		
faktor rozšíření	<i>viz</i> nejistota		
chyba	88		
náhodná	88		
odběru vzorků	21		
systematická	88		
interference	61		
jakost	11		
kalibrace	50		
externí	71		
přístroje	69		
vnitřní	72		
kalibrační standard	75		
kontaminace	48, 61		
kvalifikace	60, 62		
limit			
detekce	<i>viz</i> mez detekce		
stanovitelnosti	<i>viz</i> mez stanovitelnosti		
manažer jakosti	108, 113		
mez			
detekce	39		
kvantifikace	<i>viz</i> mez stanovitelnosti		
stanovitelnosti	40		
mezilaboratorní studie	101		
návaznost	69		
nejistota			
faktor rozšíření	97		
kvantifikace	93		
měření	87		
odhad	91		
rozšířená	97		
standardní	93		
vzorkování	27		
zdroje	92		
zdroje informací	94		
normy jakosti	115		
obaly	54		
odpovědnost za jakost	112		
opakovatelnost	41		
ověření	50		
politika jakosti	112		
prokazování jakosti	17		
prostředí	48		
prověřování systému jakosti	109		
přesnost	41, 89		
mezilehlá	41		
přezkoumání systému jakosti	112		
příručka jakosti	107		
referenční materiál	66, 70		
regulační diagram	58, 79		
CUSUM	83		
pohyblivých průměrů	82		
Shewhartův	80		
reprodukovatelnost	41		
robot	113		
robustnost	10, 61		
řízení jakosti	17, 73, 101		
specifičnost	43		
správnost	40, 89		
standard primární, sekundární	69		
systém jakosti	17, 107		
náklady	108		
systém zabezpečování jakosti	109		
TQM	18		
validace	38		
výsledky			
interpretace	98		
porovnání s limity	100		
výtěžnost	64		
vzorek			
dílčí	28		
manipulace	30		
náhodný výběr	23		
opakovaný	74		
reprezentativní	22		
řízení jakosti	74, 109		
selektivní	23		
slepý	65, 74		
slepý kontrolní	75		
směsný	23		
stabilita	29		
úprava	34		
velikost	42		
vzorkování	20, 21		
konstanta	28		
nejistota	27		
strategie	23		
zařízení			
kvalifikace	62		
záznamy	76		
zkoušení způsobilosti	102		
programy	102		
značení chemikálií	52		
z-skóre	103		