

УДК 543 + 90 + 528.06

Д.Л. Цалев

Софийский университет имени Св. Климента Охридского, София, Болгария

НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИТИЧЕСКИХ ИЗМЕРЕНИЙ – КОРОТКИЙ ОБЗОР ОСОБЕННОСТЕЙ И ДОСТИЖЕНИЙ

Рассмотрены некоторые характерные особенности измерений в области аналитической химии («аналитических измерений»), которые связаны с качеством получаемой (химической) информации. Указаны многочисленные вклады в комбинированную неопределенность результатов аналитических определений на разных этапах анализа, включительно влияние предлабораторных этапов общего аналитического процесса – планирования, отбора проб, консервирования, сохранения и пробоподготовки, обработки и интерпретации результатов.

Ключевые слова: метрология, неопределенность, прослеживаемость, аналитическая химия, химические измерения.

Аналитические измерения

Существование и развитие современного общества немислимо без измерений, значительная часть которых являются аналитическими измерениями – по некоторым оценкам более чем 10^{12} анализов/год [1]. Аналитическая химия (АХ) – одна из основных химических наук и образовательных дисциплин. Роль АХ как метрологической дисциплины и роль качества получаемой информации особенно подчеркнуты в новых рекомендациях по обучению в курсах АХ и инструментальных методов анализа: в т.н. Рогашской декларации («Rogaška Declaration», 2005) – минимум 8 и 20 часов учебных занятий, соответственно в бакалаврской и магистерской степени [2]. Во втором издании европейского учебника АН (2004 г.) дано определение: «Аналитическая химия – метрологическая дисциплина, которая разрабатывает, оптимизирует и применяет процессы измерения, предназначенные для извлечения качественной (био)химической информации глобального и конкретного вида из природных и искусственных объектов или систем, для решения аналитических проблем, возникших из-за информационных потребностей» [3]. В последние годы существенно изменилась философия анализа как «Целостного аналитического процесса», который охватывает все этапы этой деятельности. Она является не только аналитической – от формулирования проблемы и ее совместного обсуждения аналитиком и заказчиком, посредством «Процесса химического измерения» до представления и толкования крайней информации [3]. При этом возрастает значение междисциплинарного подхода и меняется роль аналитика как «Специалиста который решает проблемы». Значительное внимание обращается на экономические аспекты анализа и качества. Некоторые оценки из недалекого прошлого, напр. для США и Германии,

указывали на ежегодные экономические потери порядка $\$5 \cdot 10^9$ из-за некачественных анализов. Для преодоления технических препятствий перед торговлей в условиях глобализации и для обеспечения прослеживаемости результатов измерений [4] и реалистической оценки неопределенности [5 – 8] аналитические лаборатории проводят свою деятельность в соответствии с рядом международных, европейских и национальных стандартов, направленных на регулирование, гармонизацию, стандартизацию, аккредитацию, контроля и обеспечение качества (соотв. QC и QA), как напр. ISO 9001, ISO 17025, «Хорошая (автоматизированная) лабораторная практика» (GLP; GALP) и др. [1,5 – 8]. Аналитические методы и процедуры подвергаются тщательной разработке, валидации, поверкам, модификациям в соответствии с требованиями науки и практики и развитием научно-технического прогресса; при необходимости подвергаются также повторной валидации.

Следующие особенности и затруднения характерны при аналитических измерениях:

1. Многостепенный характер методов (этапы пробоотбора (опробования); консервирования, транспорта и сохранения проб [8]; подготовка проб; разделение и концентрирование; калибровка; обработка результатов.

2. Длинная цепь прослеживаемости [1,4 – 6].

3. Ограниченное число абсолютных и первичных методов. Некоторые из этих методов анализа как гравиметрия и (селективная) титриметрия часто оказываются недостаточно чувствительными или избирательными для данного анализа, тогда как другие, более чувствительные первичные методы такие как кулонометрия или масс-спектрометрия с изотопным разбавлением оказываются дорогими, недоступными или имеют другие свои ограничения.

4. Недостаточная чувствительность и избирательность.

5. Матричные помехи, которые многообразны, характерны для каждого метода и трудно идентифицируемы [1,3].

6. Огромное многообразие матриц – в АХ “матрица” (matrix) это все в пробе, кроме определяемого компонента (в 10^3 – 10^{10} × избытке!).

7. Многофакторные вклады в бюджет неопределенности [1, 5, 6].

8. Ограниченный ассортимент матричных референтных материалов (matrix CRM, MRM) и их недостаточная коммутабельность и др.

В аккредитованных лабораториях необходимо обеспечивать прослеживаемость измерений, калибровку, тщательную валидацию аналитических методов испытания, оценку неопределенности результатов, внутренний контроль качества, применение референтных и сертифицированных референтных материалов (RM и CRM), участие в национальных и международных испытаниях на пригодность (PT) и другие методические, метрологические и организационные мероприятия [1, 9].

Неопределенность. Основные вклады в бюджете неопределенности

Неопределенность – основное понятие в современной метрологии и аналитической химии: “Неопределенность измерения” (или короче “неопределенность”, когда это подразумевается из контекста) – “Неотрицательный параметр, характеризующий дисперсию значений величины, присваиваемых измеряемой величине на основании используемой информации” [10]. Оценка неопределенности химических измерений – важная задача практиков-аналитиков в химических лабораториях. Количественная оценка неопределенности проходит через четыре основных этапа [1, 5, 6]: (1) Спецификация – Производят спецификацию измеряемой величины в виде математической зависимости (модели; аналитической функции); чаще всего это выходная величина (концентрация c) как функция входных величин x_i . Аналитическая функция имеет вид $c = f(x_1, x_2, x_3...)$. Этот этап исключительно важен для обеспечения прослеживаемости; (2) Идентификация – Идентифицируют возможные источники неопределенности. При аналитических измерениях входными величинами могут быть: показания измерительного прибора, масса, объемы, (аналитические) выходы, концентрации, чистота реактивов, атомные и молекулярные массы, факторы разбавления, температуры и др. Идентификацию облегчают и иллюстрируют при помощи диаграмм типа “причина – следствие”, названных также диаграммы Ishikawa или диаграммы типа “рыбья кость” (fishbone diagram); (3) Вычисления – Вычисляют отдельные стандартные неопределенности $u(x_i)$ или относительные

стандартные неопределенности $u(x_i)/x_i$; (4) Комбинирование – Соответствующие $u(x_i)$ или $u(x_i)/x_i$ комбинируют по четырем известным правилам распространения неопределенностей, соответственно при сумме или разности, при произведении или частном, при экспоненте или путем разделения уравнения на более простые случаи с проведением промежуточных вычислений и последующего комбинирования по уже знакомым предыдущим трем правилам [5]; наконец, вычисляют расширенную неопределенность $U=ku_c$, где коэффициент охвата $k=2$ –3 (типичное значение для аналитических целей $k=2$).

Короткие комментарии некоторых характеристик неопределенности [1,5]: Неопределенность – это критерий оценки качества результата измерений, а не метода или процедуры. Она отражает реальности: измерения несовершенны; у аналитика имеются как известное сомнение, так и уверенность в полученном результате, которое выражается через интервал $\pm U$ (\pm расширенная неопределенность). U характеризует прочность связей в цепи прослеживаемости и ожидаемое согласие между лабораториями, проводящими подобные измерения. Неопределенность может быть оценена количественно, выражается измеряемыми величинами (среднеквадратическими значениями или интервалами); при этом она может включать в себя вклад как случайных, так и систематических компонентов (напр. неопределенность коррекции неколичественного выхода (recovery $R < 1$); неопределенность коррекции идентифицированных систематических погрешностей, оцененных как смещение (‘bias’) и неопределенность смещения; неопределенность оцененного дрейфа во время измерений и др. Это дает возможность поиска источников погрешностей и оценки их вклада в общую (комбинированную) неопределенность (т.н. «бюджет неопределенности»). Составление оптимально сбалансированных бюджетов неопределенности дает обратную связь к наилучшему осознанию самих аналитических измерений и дает предпосылки для их улучшения и совершенствования. Неопределенность (как оценка) также имеет свою неопределенность – при идеальной оценке мы получили бы “истинную неопределенность”. При оценке неопределенности нет необходимости в знании принятого значения. Неопределенность или ее часть не может быть скорректирована, а только оценена. Оцененная комбинированная неопределенность относится только к охваченным этапам (напр., часто не оценивается вклад предлабораторных этапов – естественная изменчивость, гомогенность, стабильность, пробоотбор и др.). Неопределенность измерения сравнивается с целевой неопределенностью, напр. с заданной регулирующим органом, с договоренной с потребителем результатов и др.

Многочисленные источники неопределенности

даны в Руководствах Eurachem/CITAC, книгах и специализированных сайтах, напр. [1,5–8,12]; наиболее существенные из них собраны с короткими комментариями в следующем тексте, а более подробно – при характеристиках индивидуальных аналитических методов в книге-справочнике [1]. Некоторые источники неопределенности при аналитических измерениях (модифицировано из [1,5]) даны с дополнениями и короткими комментариями:

1. *Пробоотбор*. Предлабораторные этапы, соответственно их влияние на комбинированную неопределенность целостного исследования, часто остаются неучтенными, т.к. оказываются вне поля зрения аналитика испытательной лаборатории, а часто – вне области его компетентности и ответственности. В последнее время уже принято, что эти предлабораторные этапы могут иметь решающее влияние и вклад в комбинированную неопределенность [1,5,8], напр. при измерениях остаточных количеств пестицидов, афлатоксинов, плесеней, детергентов, горячих частиц, нефтяных разливов, следов элементов, химических форм/видов. Необходимо выяснение роли и вкладов: представительного и объективного пробоотбора; естественной изменчивости; временных тенденций, нестабильности и неомогенного распределения определяемых компонентов (напр. в природных и биологических пробах, клинических пробах, пищевых продуктах, пробах из рабочей и окружающей среды, твердых микропроб и др.); влияния консервирования, транспорта и сохранения проб; внешнего загрязнения, потерь и физико-химических трансформаций анализа. Все это требуют дополнительных, хорошо спланированных экспериментов и статистических методов дисперсионного анализа [8]. Другими эффектами при пробоотборе являются: влияние температуры; давления; избранная стратегия пробоотбора; стратификация (расслоение); седиментация суспендированных частиц; дифференциальная адсорбция на поверхности приспособлений и сосудов для пробоотбора; химическая и термическая нестабильность аналита и др.

2. *Подготовка проб*. Примерные вклады и влияние внешнего загрязнения, потерь и физико-химических превращений аналита, которые могут произойти при разных операциях, таких как напр.: гомогенизация; получение аналитической пробы; высушивание; измельчение; степень измельчения; взаимное загрязнение; нежелательный перенос определяемого компонента; неполное разложение матрицы; неполное извлечение аналита; растворение проб/осадков; экстракция; очистка; дериватизация; разбавление; предварительное концентрирование; влияние специфических химических видов, форм, степеней окисления и др.; помехи и матричные эффекты; неопределенность аналитических выходов (с/без коррекций среднего выхода; неопределен-

ность коррекции среднего выхода); влияние температуры на измерение объемов растворов; влияния входных величин на аналитические процессы (концентрация реактивов, температура, давление, скорость изменения параметров, pH, ионная сила и др.). В рекомендациях IUPAC [12] обобщены шесть источников неопределенности при оценке (аналитического) выхода: сходимость эксперимента; неопределенность значения для референтных материалов; неопределенность количества внесенных добавок; плохое (неадекватное) представление аналита, присутствующего в реальных пробах («native analyte») внесенной добавкой суррогатного вещества («surrogate substance»); плохая или ограниченная заменяемость («match» commutability) между экспериментальной матрицей и полным охватом возможных матриц; влияние уровня аналита/добавки на выход, а также отсутствие совершенного выравнивания уровней добавок или RM и уровней аналита в пробах [12].

3. *Использование сертифицированных референтных материалов (CRM)*. Прежде всего необходимо иметь в виду: неопределенность сертифицированного значения; заменяемость матрицы; формы аналита и его уровни концентрации, а также подобие заменяемого (commutability).

4. *Калибровка прибора*. Примерные вклады: неопределенность сертифицированного значения; неопределенность концентрации калибратора; чистота, химическая идентичность и коммутабельность химических видов определяемого компонента в рабочих эталонах для калибровки; прецизионность измерений; разрешение отсчетного устройства; дрейф чувствительности; дрейф нуля; частота обнуления и периодичность повторной калибровки; эффекты нелинейности; число и концентрационный диапазон применяемых эталонов для калибровки; алгоритм построения калибровочной кривой; неопределенность наклона и отреза регрессионного графика.

5. *Получение и измерение аналитического сигнала*. Некоторые вклады: чистота реактивов; изменение состава, давления, температуры, расхода газов и газовых смесей; коррекция холостого опыта; матричные эффекты; коррекции систематических эффектов (аддитивных помех; фона); влияние инструментальных параметров и их нестабильность; дрейф чувствительности; дрейф базовой линии; сходимость в серии и между сериями измерений; число повторных измерений; эффекты нежелательного переноса; гистерезис пробоподающего и/или отсчетного устройства; индивидуальные особенности оператора; аналитический выход; факторы разбавления.

6. *Обработка данных*. Усреднение (число повторных измерений; округление чисел или отбра-

ковки цифр комп'ютерної програмою; усунення індивідуальних результатів-промахів; время інтегрування; время замедлення измерений (delay time); время корекції основної лінії перед измерением; использованная статистика; использованная модель и алгоритм.

7. Представление результатов. Округление или отбрасывание цифр; неопределенность использованных констант; неопределенность атомных и молекулярных масс; неопределенность изотопных распространений; использованные предположения о статистических распределениях; нехарактерные или неожиданные распределения (Пуассона, несимметричное, двухмодальное и др.); оценка комбинированной и расширенной неопределенности; выбор доверительной вероятности и коэффициента охвата k .

8. Интерпретация результатов. Сопоставление с предельно-допустимыми концентрациями и параметрическими значениями; "пригодность для данной цели" («fitness for purpose») [1, 11].

Список литературы

1. Д. Цалев, В. Симеонов, Аналитические измерения, в Метрология и измерительная техника. Книга-справочник в 3 томах, под общей редакцией проф. д.т.н. Христо Радева, том 3, Софттрейд, София, 903 с., Глава 11, с. 93–348, 2012, ISBN 978-954-334-094-1 (на болг. языке).

2. T. Prohaska, E. Bulska, S. Duta, I. Leito, B. Magnusson, N. Majcen, E. Prichard, P. Robouch, M. Suchanek, P. Taylor, E. Vassileva, W. Wegscheider, Report of the 1st Academic Summer School for 'Metrology in Chemistry', held in Rogaska Slatina, Slovenia (6–9 July 2005), Anal. Bioanal. Chem., 385, 1031–1032, 2006.

3. R. Kellner, J.-M. Mermet, M. Otto, M. Valcarcel, H.M. Widmer (eds.), Analytical Chemistry. A Modern Approach to Analytical Science, 2nd edn, Wiley-VCH, Weinheim, 2004, pp. 1181, ISBN 3-527-30590-4.

4. Traceability in Chemical Measurement. A Guide to Achieving Comparable Results in Chemical Measurement, EURACHEM/CITAC Guide, 2003, pp. 37, www.eurachem.org.

5. S.L.R. Ellison, A. Williams (eds.), EURACHEM/CITAC Guide CG4 Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd edn., 2012, pp. 133, ISBN 978-0-948926-30-3, www.eurachem.org.

6. N. Majcen, P. Taylor (eds.), Practical Examples on Traceability, Measurement Uncertainty and Validation in Chemistry, Vol. 1, EUR Report 22791 EN, European Communities, Luxembourg, 2007, pp. 201.

7. Examples of Uncertainty Budgets for Chemical Analysis, University of Tartu, Estonia, http://www.ut.ee/katsekoda/GUM_examples/.

8. M.H. Ramsey, S.L.R. Ellison (eds.), Eurachem / EUROLAB/CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement Uncertainty Arising from Sampling: A Guide to Methods and Approaches, Eurachem, 2007, ISBN 978-0-948926-26-6, www.eurachem.org.

9. ISO/IEC 17025:2005, General Requirements for Competence of Testing and Calibration Laboratories, ISO, Geneva.

10. International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms VIM, 3rd edition, Final 2007-05-18, Vocabulaire international de métrologie – Concepts fondamentaux et généraux et termes associés VIM, 3e édition, Final 2007-05-18; Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM/WG 2), JCGM 200:2008; Международный словарь по метрологии: основные и общие понятия и соответствующие термины: пер с англ. и фр. / Всерос. науч.-исслед. ин-т метрологии им. Д. И. Менделеева, Белорус. гос. ин-т метрологии. — СПб.: НПО „Профессионал“, 2009 — 82 с., ISBN 978-5-91259-030-6.

11. B. Magnusson, U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd edn., 2014, pp. 62, ISBN 978-91-87461-59-0, www.eurachem.org.

12. M. Thompson, S.L.R. Ellison, A. Fejgelj, P. Willetts, R. Wood, Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement (Technical Report)", Pure Appl. Chem., 71, 337–348, 1999.

Поступила в редколлегию 22.12.2014

Рецензент: д-р техн. наук, проф. И.П. Захаров, Харьковский национальный университет радиоэлектроники, Харьков.

НЕВИЗНАЧЕНІСТЬ РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІТИЧНИХ ВИМІРЮВАНЬ – КОРОТКИЙ ОГЛЯД ОСОБЛИВОСТЕЙ І ДОСЯГНЕНЬ

Д.Л. Цалев

Розглянуті деякі характерні особливості вимірювань в області аналітичної хімії («аналітичних вимірювань»), які пов'язані з якістю отримуваної (хімічної) інформації. Вказані численні внески в комбіновану невизначеність результатів аналітичних вимірювань на різних етапах аналізу, включно вплив передлабораторних етапів загального аналітичного процесу – планування, відбору проб, консервації, збереження і пробопідготовки, обробки і інтерпретації результатів.

Ключові слова: метрологія, невизначеність, простежуваність, аналітична хімія, хімічні вимірювання.

UNCERTAINTY OF RESULTS OF ANALYTICAL MEASUREMENTS – A BRIEF OVERVIEW OF CHARACTERISTICS AND ADVANCES

D.L. Tsalev

Some characteristic features of measurements in the field of analytical chemistry ('analytical measurements') are considered with a view to quality of obtained (chemical) information. Numerous input parameters contributing to the combined uncertainty of analytical results at different analytical steps are pointed out, including effects of pre-laboratory stages of the total analytical process – study design, sampling, sample preservation and preparation, data treatment, and interpretation of results.

Keywords: metrology, uncertainty, traceability, analytical chemistry, chemical measurements.