

УДК 621.317

Н.Г. Проданчук, А.Е. Подрушняк, Т.Л. Макаручук, Т.В. Забродская, А.В. Коваль, Ю.В. Мехова

**ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ МЕТОДИК И НЕОПРЕДЕЛЕННОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ
МЕТОДАМИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА, ПРИМЕНЯЕМЫМИ
ДЛЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ
ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ И СОПУТСТВУЮЩИХ МАТЕРИАЛОВ**

Приведена информация о проведении валидации методов количественного химического анализа, используемых в Институте экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя для санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов и сопутствующих материалов. Рассмотрены основные источники неопределенности результатов измерений с применением количественного химического анализа. В качестве примера приведены результаты вычисления неопределенности при определении массовой концентрации бутилового спирта в пищевых продуктах методом газожидкостной хроматографии.

метод количественного химического анализа, санитарно-эпидемиологическая экспертиза

Испытательный центр Института экологии и токсикологии им. Л.И. Медведя аккредитован на компетентность согласно требованиям ДСТУ ISO/IEC 17025 [1]. Одним из требований этого стандарта является предоставление результатов в соответствии с концепцией неопределенности результатов измерений. В процессе оценивания пригодности (валидации) методик для использования с целью проведения санитарно-эпидемиологической экспертизы пищевых продуктов по показателям качества и безопасности нами получены необходимые параметры эффективности 74 методик, оценены внутрилабораторная сходимость, внутрилабораторная воспроизводимость и правильность методик выполнения измерений, основанных на использовании хроматографических (газо-жидкостная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография,

тонкослойная хроматография), атомно-абсорбционного, фото-метрического, титриметрического, гравиметрического методов, а также методов инфракрасной спектроскопии и инверсионно-вольтамперометрического анализа.

Большинство применяемых в Испытательном центре Института методик выполнения измерений используют результаты косвенных совокупных измерений, получаемых с помощью градуировочных зависимостей. Статистическая обработка результатов проводится согласно ISO 8466, ч. 1, ч. 2 [2]. Кроме линейной и квадратичной регрессии, для случая неравноточных измерений (неоднородность дисперсий) нами разработана программа построения взвешенной регрессии.

Ниже приведен план проведения эксперимента по валидации методики выполнения измерений:

1. Определение селективности методики.
2. Выявление грубых ошибок в результатах измерений.
3. Проверка однородности дисперсий.
4. Определение линейного диапазона.
5. Построение градуировочной зависимости.
6. Определение минимального детектируемого количества и предела количественного определения исследуемого вещества.
7. Определение доверительного интервала результатов, вычисленных по градуировочному графику.
8. Определение случайной составляющей погрешности измерений.
9. Оценка меры правильности методики.
10. Определение показателей ВОК:
 - внутрилабораторной сходимости;
 - внутрилабораторной воспроизводимости;
 - точности.
11. Выявление и анализ источников составляющих неопределенности.
12. Оценивание стандартной неопределенности отдельных составляющих.
13. Оценка суммарной стандартной неопределенности.
14. Оценка расширенной неопределенности результатов измерений.
15. Анализ результатов.
16. Выводы.

В процессе проведения валидации подтверждены имеющиеся и дополнительно получены недостающие метрологические характеристики стандартизованных методик и стандартизованных методик с расширенной сферой применения, а также установлены величины погрешности и неопределенности для разработанных в Институте методик.

Для вычисления неопределенности результатов измерений мы воспользовались рекомендациями, изложенными во втором издании Руководства ЕВ-РАХИМ/СИТАК «Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях» [3] и вычислили суммарные стандартные и расширенные неопределенности для ряда методик экспериментально-расчетным методом по типу А и по типу В.

Для большинства используемых с целью санитарно-эпидемиологической экспертизы методик основными источниками неопределенности являются неопределенности, связанные с определением массы (навески пробы, навески стандартного вещества); определением объемов, степенью чистоты стандартных образцов, приготовлением градуировочных растворов, измерением высот (площадей) хроматографических пиков, с установлением меры правильности (recovery) методики, с построением градуировочной зависимости по методу наименьших квадратов, с пробоотбором (неоднородность пробы).

Анализ полученных результатов позволил сделать вывод о том, что наибольший вклад в неопределенность вносят неопределенности, связанные с измерением линейных размеров хроматографических пиков для концентраций аналита в нижней части рабочего диапазона; с построением градуировочной зависимости; с приготовлением градуировочных растворов.

По-видимому, относительно большой вклад в неопределенность результатов измерений неопределенности, связанной с приготовлением стандартных растворов, обусловлен тем, что он оценивается по типу В, т.е. по теоретическим значениям неопределенностей, которые, как правило, выше получаемых экспериментальным путем.

В качестве иллюстрации приведенных соображений ниже представлен фрагмент протокола валидации методики выполнения измерений массовой концентрации бутилового спирта в пищевых продуктах методом газожидкостной хроматографии.

Расчет результата измерения массовой концентрации бутилового спирта (ρ , мг/дм³) проводят с помощью стандартного раствора по формуле:

$$\rho = \frac{C h_2}{h_1},$$

где C – массовая концентрация стандартного раствора, мг/дм³; h_2 – высота пика пробы (мм); h_1 – высота пика стандарта (мм).

Однако анализ стадий эксперимента показывает, что неопределенности, связанные с приготовлением вытяжек, определением объема водных вытяжек, временем и температурой выдерживания вытяжек в термостате, время и температура экспозиции вытяжки из исследуемого образца в герметически закрытой емкости (метод АРП) в общем случае также могут вносить существенный вклад в неопределенность результата.

Определение составляющих неопределенности проиллюстрировано на рис. 1 с помощью диаграммы «причина-следствие» – диаграммы Исикавы. Параметры, входящие в уравнение, с помощью которого осуществляется расчет результатов измерения массовой концентрации бутилового спирта, составляют основные «ветви» диаграммы. Другие факторы добавлены в процессе последовательного анализа каждой стадии аналитической процедуры.

На диаграмме V_1 – объем отобранной определенной части водной вытяжки (по методике 10 см³); V_2 – объем паровой фазы, отобранной для хроматографирования (по методике 5 см³); t_1 – время выдерживания емкости с вытяжкой в термостате (3 суток при температуре 40 °С); t_2 – время экспозиции (по методике 30 мин при температуре (95 ± 2) °С); C – массовая концентрация стандартного раствора, мг/дм³; h_1 – высота пика стандарта (мм); h_2 – высота пика пробы (мм).

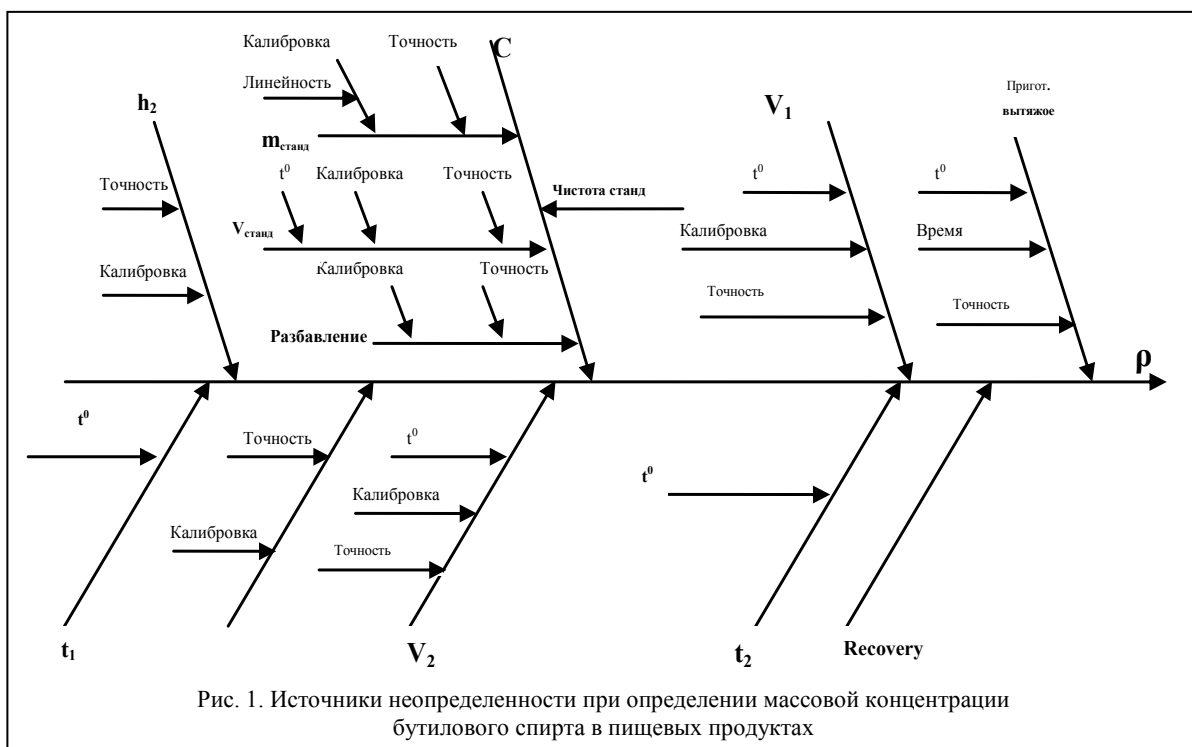


Рис. 1. Источники неопределенности при определении массовой концентрации бутилового спирта в пищевых продуктах

Для эксперимента необходимо приготовить стандартные растворы с массовыми концентрациями:

0,25 мг/мл; 0,5 мг/мл;

0,75 мг/мл; 1,0 мг/мл.

Для вычисления неопределенности, связанной с этим, и для выбора оптимального, с точки зрения величины неопределенности, способа приготовления стандартных растворов, нами рассмотрены три способа, которые отличаются друг от друга последовательностью операций разбавления, объемом используемой мерной посуды (мерные колбы различной емкости, пипетки разного исполнения с разными способами отсчета измеряемого объема и т.п.).

Проведенный нами анализ расчетов неопределенностей приготовления стандартных растворов разными способами показал, что значения неопределенности приготовления стандартных растворов одним из способов несколько выше значений не-

определенностей при применении двух других способов, которые не демонстрируют существенных преимуществ с точки зрения значения стандартной неопределенности массовой концентрации стандартных растворов, что позволяет использовать на практике тот из них, который окажется наиболее удобным для конкретного выполнения.

Бюджеты неопределенностей для проб с предполагаемыми массовыми концентрациями бутилового спирта, близкими к 0,25 и 1,0 мг/мл, представлены в табл. 1 и 2, соответственно.

Соответствующие диаграммы Паретто представлены на рис. 2 и 3.

Сопоставление полученных нами в процессе валидации значений неопределенностей показало, что, как правило, значения неопределенности существенно превышают значения погрешности результатов измерений.

Таблица 1

Бюджет неопределенности для пробы с предполагаемой массовой концентрацией бутилового спирта, близкой к 0.25 мг/мл

Обозначение	Наименование	Значение	Стандартная неопределенность	Относительная стандартная неопределенность
C	Массовая концентрация станд. раствора	0,25 мг/мл	0,0043 мг/мл	0,0172
V ₁	Объем части водной вытяжки	10 см ³	0,064 см ³	0,0064
V ₂	Объем паровой фазы	5 см ³	0,08 см ³	0,016
t	Время выдержив. вытяжки в термостате	72 ч	0,06 ч	0,0008
t ⁰	Температура выдерж. вытяжки	40 ⁰	0,001 ⁰	0,000025
h ₁	Высота хроматограф. пика стандарта	9 мм	0,29 мм	0,032
h ₂	Высота хроматограф. пика пробы	10 мм	0,29 мм	0,029
Rec	Значение возвращения	100,28	0,162%	0,00162

Бюджет неопределенности для пробы с предполагаемой массовой концентрацией
бутилового спирта, близкой к 1,0 мкг/мл

Обозначение	Наименование	Значение	Стандартная неопределенность	Относительная стандартная неопределенность
C	Массовая концентрация станд.раствора	1,0 мкг/мл	0,0153 мкг/мл	0,0153
V ₁	Объем части водной вытяжки	10 см ³	0,064 см ³	0,0064
V ₂	Объем паровой фазы	5 см ³	0,08 см ³	0,016
t	Время выдержив. вытяжки в термостате	72 ч	0,06 ч	0,0008
t ⁰	Температура выдерж. вытяжки	40 ⁰	0,001 ⁰	0,000025
h ₁	Высота хроматограф. пика стандарта	43 мм	0,29 мм	0,0067
h ₂	Высота хроматограф. пика пробы	44 мм	0,29 мм	0,0066
Rec	Значение возвращения	100,28	0,162%	0,00162

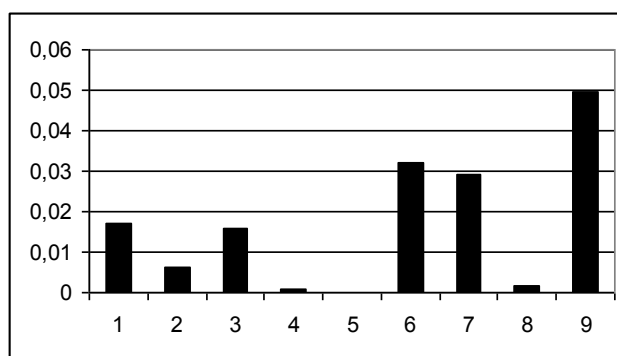


Рис. 2. Вклады в суммарную неопределенность (0,25 мкг/мл)

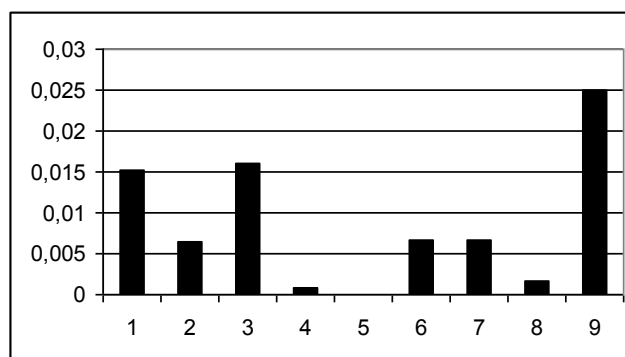


Рис. 3. Вклады в суммарную неопределенность (1,0 мкг/мл)

В дальнейшем мы планируем продолжить работу по вычислению погрешностей и неопределенностей результатов измерений методик, с помощью применяющихся для санитарно-эпидемиологической экспертизы методик и их сопоставление.

ЛИТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO/IEC 17025-2001 «Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій»

2. ISO 8466 – 1:1990(E). Качество воды – Калибровка и оценка аналитических методов и определение рабочих характеристик. Статистическая обработка линейной калибровочной функции.

3. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК. – Второе издание, 2000 г.

Поступила 2.04.2006

Рецензент: канд. техн. наук, доц. А.Б. Егоров, Харьковский национальный университет радиоэлектроники.