

Kvantifikacija nesigurnosti analitičkih mjerenja

Pipunić, Mario

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:754692>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2023-02-07**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Mario Pipunić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Mario Pipunić

KVANTIFIKACIJA NESIGURNOSTI ANALITIČKIH MJERENJA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: doc. dr. sc. Šime Ukić

Članovi ispitnog povjerenstva: doc. dr. sc. Šime Ukić

prof. dr. sc. Tomislav Bolanča

doc. dr.sc. Dragana Vuk

Zagreb, rujan 2017.

Zahvaljujem svojem mentoru, doc. dr. sc. Šimi Ukiću na nesebičnoj pomoći, volji i strpljenju tijekom izrade završnog rada.

Također zahvaljujem svojim roditeljima i bratu koji su mi bili podrška za vrijeme studija.

Sažetak

Mjerna nesigurnost se definira kao sumnja u valjanost mjernog rezultata. Razlog određivanja mjerne nesigurnosti može biti kalibracija mjernih instrumenata, ocjena uspješnosti provedenog mjernog testa, ali i razumijevanje rezultata dobivenih analizama te poradi podnošenja izvještaja za provedeni test ili mjerenje.

Prilikom provođenja eksperimentalnih mjerenja postoji niz faktora koji utječu na točnost konačnog rezultata. Stoga se analizom mjerne nesigurnosti ispituje svaki eksperimentalni korak u svrhu eliminacije mjerne pogreške.

Za određivanje mjerne nesigurnosti koristi se velik broj statističkih modela i metoda.

U ovom radu se želi ukazati na važnost izračuna mjerne nesigurnosti kod provedbe analitičkih mjerenja, kao i opisati metode provedbe izračuna.

Ključne riječi: mjerna nesigurnost, određivanje nesigurnosti, analitička mjerenja

Summary

Uncertainty of measurement is defined as doubt in validity of measurement result. The reason for quantifying measurement uncertainty may be the calibration of the measuring instruments, estimation of measurement test success, as well as the understanding of the results of analysis due to report submission of conducted test or measurement.

During conduction of experimental measurements variety of factors that affect accuracy of final result should be considered. Therefore, by using the measurement uncertainty analysis each experimental step is being tested for the purpose of eliminating measurement errors.

Many statistical methods and models are used for quantifying measurement uncertainty.

In this thesis, the focus will be on the importance of calculating measurement uncertainty during analytical measurement procedure and specifying its methods of calculations.

Key words: uncertainty of measurement, quantifying uncertainty, analytical measurements

Sadržaj

1.	UVOD	1
2.	NESIGURNOST	2
2.1.	Izvori nesigurnosti	2
2.2.	Komponente nesigurnosti	2
2.3.	Pogreške i nesigurnost	3
3.	ANALITIČKA MJERENJA I NESIGURNOST	5
3.1.	Validacija metode	5
3.2.	Ekperimentalna analiza izvedbe metode	8
3.3.	Sljedivost	9
4.	PROCJENA MJERNE NESIGURNOSTI	12
5.	SPECIFIKACIJA MJERNOG REZULTATA	14
6.	IDENTIFIKACIJA IZVORA NESIGURNOSTI	15
7.	ODREĐIVANJE NESIGURNOSTI	19
7.1.	Postupak procjene nesigurnosti	19
7.2.	Važnost ranijih proučavanja	20
7.3.	Procjena nesigurnosti kvantifikacijom individualnih komponenti	20
7.4.	Slični certificirani referentni materijali	20
7.5.	Procjena nesigurnosti korištenjem prijašnjih suradničkih metoda i podataka iz prethodnih validacija	21
7.6.	Procjena nesigurnosti korištenjem unutarlaboratorijskih i validiranih metoda	22
7.7.	Procjena nesigurnosti za empirijske metode	24
7.8.	Procjena nesigurnosti za ad-hoc metode	24
7.9.	Kvantifikacija individualnih komponenti	25
7.10.	Modeliranje iz teoretskih principa	27
7.11.	Procjena na temelju prosudbi	27

7.12. Značajnost točnosti	29
8. RAČUNANJE KOMBINIRANE NESIGURNOSTI.....	30
8.1. Standardna nesigurnost.....	30
8.2. Kombinirana standardna nesigurnost	31
8.3. Proširena nesigurnost.....	33
9. IZVJEŠTAJ ANALIZE NESIGURNOSTI.....	35
9.1. Potrebne informacije.....	35
9.2. Izvještaj standardne nesigurnosti	36
9.3. Izvještaj proširene nesigurnosti	36
9.4. Numeričko izražavanje rezultata	36
9.5. Sukladnost s granicama	36
10. ZAKLJUČAK	38
11. LITERATURA.....	39
12. ŽIVOTOPIS	41

1. UVOD

Kada se iskazuju rezultati mjerenja neke fizikalne veličine, nužno je posjedovati kvantitativni pokazatelj kakvoće tog rezultata kako bi oni koji koriste te rezultate mogli procijeniti njihovu pouzdanost. Izuzimanjem tog pokazatelja onemogućuje se usporedba mjerenja kako međusobno, tako i među referentnim vrijednostima koje su dane u specifikacijama ili standardu. Stoga je potrebno imati primjenjivu, lako razumljivu i prihvatljivu metodu određivanja kvalitete rezultata mjerenja.¹

U današnje vrijeme provodi se sve više eksperimenata kojima se nastoje dobiti što precizniji mjerni rezultati. Sve izraženija globalizacija te težnja za boljim i kvalitetnijim proizvodima uzrokuje intenzivan razvoj laboratorija kao i laboratorijskih instrumenata. Međutim, kod analize uzoraka nije dovoljno posjedovati samo kvalitetan mjerni instrument da bi mogli garantirati ispravnost rezultata. Od velikog značaja je poznavanje *mjerne nesigurnosti* budući da ona ukazuje na kvalitetu ispitivanja ili rezultata.

Naime, u interesu je da se dobiven mjerni podatak pri istim eksperimentalnim uvjetima može ponovo ostvariti i tako dokazati njegova preciznost. Prilikom takvih mjerenja se u obzir moraju uzeti faktori koji mogu utjecati na preciznost rezultata kao što su spretnost analitičara, kvaliteta uzorka, uvjeti u laboratoriju, stanje instrumenta... U svakom od analitičkih koraka može doći do veće ili manje pogreške koje u konačnici utječe na mjerni rezultat. Analizom mjerne nesigurnosti nastoji se razlučiti svaki eksperimentalni korak te pomoću matematičkih i statističkih izraza eliminirati prisutne pogreške.

2. NESIGURNOST

Pojam mjerne nesigurnosti se prema Pravilniku za izražavanje mjerne nesigurnosti² definira kao parametar povezan s rezultatom mjerenja koji karakterizira disperziju vrijednosti koje bi se razumno moglo pripisati mjernoj veličini. Pojednostavljeno, mjerna nesigurnost jest sumnja u valjanost mjernog rezultata. Naime, prilikom provođenja mjerenja javljaju se određene pogreške koje pridonose razlikovanju mjernog rezultata od ispravne vrijednosti zbog čega se dobiveni mjerni rezultati daju s određenom pouzdanosti.³

2.1. Izvori nesigurnosti

U praksi, nesigurnost rezultata može se javljati zbog različitih izvora nesigurnosti kao što su nepotpuni opis mjernog rezultata, nereprezentativni uzorak gdje mjereni uzorak ne mora biti reprezentativni mjerni rezultat, nedovoljna upoznatost utjecaja okolišnih uvjeta na rezultate mjerenja, nepreciznost prilikom očitavanja rezultata na analognim instrumentima, različite vrijednosti mjernih standarda i referentnih materijala, različite konstante i drugi parametri koji se uzimaju iz vanjskih izvora i ubacuju u algoritme, uključene aproksimacije i pretpostavke u mjernim metodama, varijacije definiranja mjernih rezultata pri identičnim uvjetima mjerenja...⁴

2.2. Komponente nesigurnosti

Prilikom određivanja ukupne nesigurnosti nužno je promatrati svaki izvor nesigurnosti zasebno kako bi se mogao uvidjeti doprinos konačnom rezultatu mjerenja. U slučaju da se komponente nesigurnosti izražavaju preko standardne devijacije može se govoriti o standardnoj nesigurnosti. Kada postoji povezanost između komponenti nesigurnosti tada se određuje njihova kovarianca, odnosno analizira usporedno mijenjanje povezanih varijabli. Osim toga, može se uzeti u obzir utjecaj više komponenti nesigurnosti pri čemu se smanjuje njihov ukupni utjecaj na mjerenje.⁴

Ako se neki dobiveni mjerni rezultat označi s y , njegova ukupna nesigurnost, koja se definira kao *kombinirana standardna nesigurnost*, $u_c(y)$, izražava procijenjenu standardnu

devijaciju koja je jednaka korijenu ukupne varijance, a u sebi objedinjuje sve komponente nesigurnosti uzimajući u obzir zakon proširenja nesigurnosti.

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n u(y, x_i)^2} \quad (1)$$

$y(x_1, x_2, \dots)$ predstavlja funkciju parametara x_1, x_2, \dots koja definira njihovu individualnu nesigurnost, c_i definira koeficijent osjetljivosti koji prati kako se vrijednost y mijenja s promjenom parametara x_1, x_2, \dots te se računa kao parcijalna derivacija funkcije y u ovisnosti o parametru x_i :

$$c_i = \frac{\partial y}{\partial x_i} \quad (2)$$

dok $u(y, x_i)$ opisuje nesigurnost funkcije y u vezi s nesigurnosti parametra x_i .

Varijanca nekog uzorka opisuje prosječnu sumu kvadrata odstupanja veličine od aritmetičke sredine⁵. Zakon proširenja nesigurnosti definira utjecaj nesigurnosti varijable na funkciju koja opisuje tu varijablu. Predstavlja statistički izračun kojim se kombiniranjem nesigurnosti više varijabli omogućuje precizno mjerenje nesigurnosti.⁶

U okviru analitičkih mjerenja, najviše se primjenjuje parametar proširene nesigurnosti, U . Proširena nesigurnost definira interval unutar kojega bi se s velikom sigurnošću trebao nalaziti mjerni rezultat. Računa se kao umnožak kombinirane standardne nesigurnosti, $u_c(x)$ s faktorom pokrivenosti, k (eng. coverage factor).

$$U = k * u_c \quad (3)$$

Vrijednost faktora pokrivenosti varira ovisno o točnosti predviđanja mjernog rezultata.

2.3. Pogreške i nesigurnost

Mjerna pogreška se definira kao razlika između individualnog rezultata i prave vrijednosti mjernog rezultata. Ona sama po sebi predstavlja jedinstvenu vrijednost te nam je njen iznos važan za ispravljanje dobivenog rezultata. S druge strane, nesigurnost se izražava preko intervala te se primjenjuje za određeni analitički postupak i odgovarajući uzorak. Budući da se karakterizira kao interval, ne može se koristiti za ispravak mjernog rezultata.

Ukratko rečeno, mjerna pogreška vezana je uz točnost analitičkog mjerenja ili metode, a mjerna nesigurnost uz preciznost analitičkog postupka.

Mjerna pogreška se može biti slučajna, sustavna i gruba.

Slučajna pogreška se javlja kao posljedica nepredviđenih varijacija nekog od faktora koji utječu na rezultat. Uslijed prisutnosti slučajnih pojava dolazi do potrebe za većim brojem mjerenja jer se slučajna pogreška ne može ukloniti, ali se može matematičkim postupcima reducirati (izračun srednje vrijednosti).

Sustavna pogreška se definira kao komponenta ukupne pogreške koja usprkos analizama rezultata ponovljenih mjernih ostaje konstantna (apsolutna sustavna pogreška) ili se pravilno mijenja (proporcionalna sustavna pogreška). Apsolutna sustavna pogreška, kao što je primjerice nepravilno unesena vrijednost slijepe probe, ima stalan iznos za cijelo mjerno područje, dok se iznos proporcionalne mijenja s obzirom na mjerno područje.

Osim toga, može se pojaviti i *gruba pogreška* koja nastaje kao rezultat ljudske pogreške/previda ili kvara instrumenta. Tu spadaju greške prilikom brojčanog izražavanja mjernog rezultata, mjehurići zraka u kiveti spektrofotometra, kontaminacija testnih uzoraka. Najčešće nije lako uočiti grube pogreške zbog čega je važno u slučaju postojanja ponovljenih mjerenja provesti test pouzdanosti kojim se može provjeriti koje vrijednosti značajnije odstupaju u nizu podataka. Takvi podaci se obično vraćaju analitičaru od kojega se traži ponovna provjera upitnih mjernih rezultata. Ona mjerenja kod kojih su pronađene pogreške se odbacuju i ne uzimaju se u obzir prilikom statističke analize, dok se pogreške u obliku zamijenjenih znamenki u rezultatu mogu vrlo lako ispraviti.

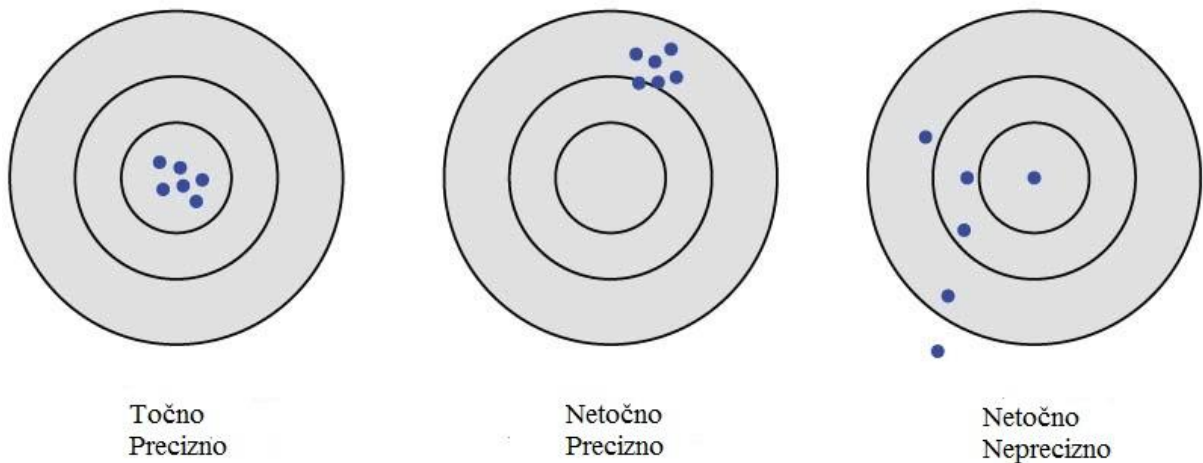
3. ANALITIČKA MJERENJA I NESIGURNOST

3.1. Validacija metode

U praksi, analitičke metode primjenjivane u redovnim testiranjima su potvrđene postupkom validacije. Validacijom se omogućuju točnost i preciznost mjerenja tijekom dugoročnog korištenja metode. Osim toga, pomoću validacije se mogu utvrditi uzroci mogućih problema nastalih tijekom provedbe metode čime se postiže visok stupanj pouzdanosti metode.⁷ Metode validacije se temelje na vrijednostima parametara tipičnih za pojedinu metodu. Oni se utvrđuju tijekom razvoja metode u laboratoriju ili korištenjem specifičnih validacijskih protokola. Nakon što se parametri karakteristični za metodu usporede s rezultatima eksperimenta piše se izvješće kojim se potvrđuje da metoda u skladu sa svrhom provedenog mjerenja.

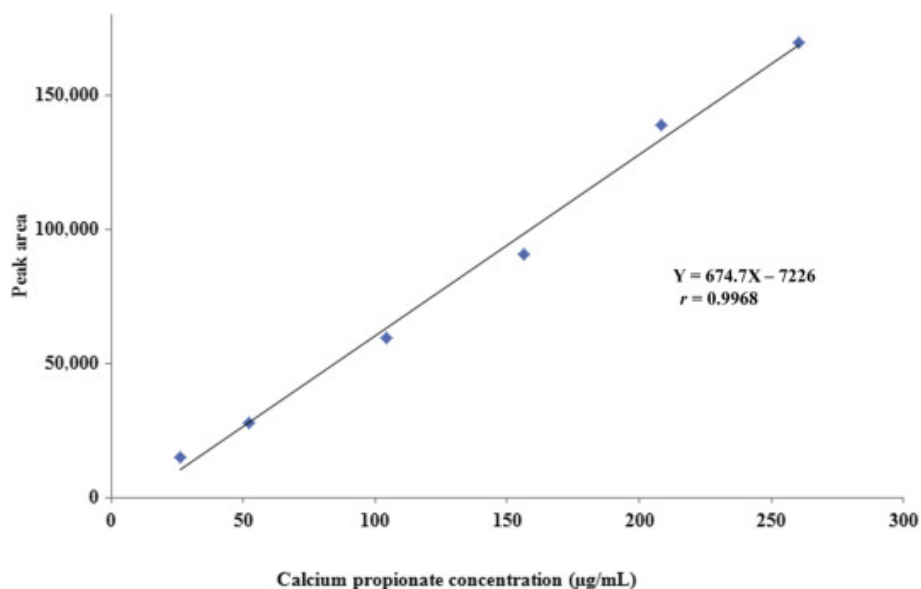
Parametri validacije primjenjivi za kvantitativne analitičke metode su⁸:

1. **Točnost**⁹ – stupanj podudaranja stvarne referentne vrijednosti i srednje vrijednosti dobivene primijenjenim postupkom određeni broj puta. Brojčani pokazatelj istinitosti jest utvrđeno sustavno odstupanje koje se računa kao razlika aritmetičke sredine rezultata i referentne vrijednosti.
2. **Mjerna preciznost** definira se kao raspršenje mjernih podataka pri određenim uvjetima. U sebi uključuje:
 - mjernu ponovljivost – preciznost mjerenja ponovljenih pri istim uvjetima analize: isti analitičar provođenjem analiza istog uzorka na istom mjernom sustavu u relativno kratkom vremenskom intervalu trebao bi dobiti podudarne mjerne podatke,
 - međupreciznost – preciznost koja se postiže u istom laboratoriju ali tijekom dužeg razdoblja uz promjene kao što su različita oprema ili različiti analitičari,
 - mjerna obnovljivost – postizanje istih mjernih rezultata u različitim laboratorijima.



Slika 1: Točnost i preciznost¹⁶

3. **Linearnost** se definira kao maksimalno odstupanje podatka od kalibracijskog pravca. Određuje se mjerenjem odziva metode na različite poznate koncentracije referentnog materijala. Ako postoji značajno odstupanje od linearnosti, potrebno je primijeniti nelinearnu kalibraciju ili provoditi mjerenja unutar užeg mjernog područja.



Slika 2: Linearnost¹⁷

4. **Granica detekcije**⁹ je najmanja količina analita u uzorku koja se može detektirati uz odgovarajuću preciznost i točnost te se određuje razrjeđenjem osnovne otopine. Može se odrediti vizualno (iz omjera signala i šuma) te statistički pomoću izraza

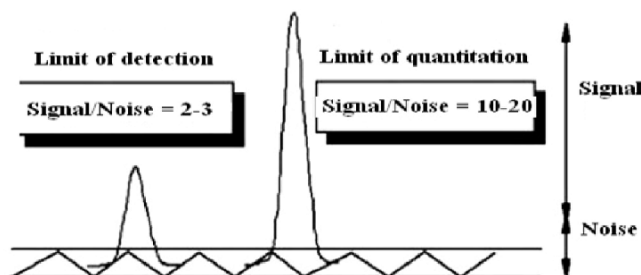
$$GD = 3,3 \frac{\sigma}{a} \quad (4)$$

gdje σ označava standardnu devijaciju, a parametar a nagib pravca

5. **Granica kvantifikacije**⁹ je najmanja količina analita koja se može kvantificirati uz odgovarajuću preciznost i točnost. Kao i granica detekcije, može se odrediti vizualno iz omjera signala i šuma te statistički iz sljedećeg izraza

$$GK = 10 \frac{s}{a} \quad (5)$$

gdje s predstavlja standardnu devijaciju regresijskog pravca, a parametar a nagib pravca.



Slika 3: Granica detekcije i kvantifikacije¹⁸

6. **Osjetljivost metode**¹¹ definira promjenu odziva izlazne veličine na instrumentu s promjenom ulazne veličine. Ovaj parametar je značajan dok optimizacije metode i praćenja kvalitete izvedbe mjernog instrumenta.
7. **Robusnost metode**⁹ predstavlja otpornost na promjene rezultata kad se dogode mala, namjerna odstupanja radnih uvjeta metode. Provodi se s ciljem određivanja utjecaja malih promjena radnih uvjeta na rezultate analize.
8. **Selektivnost** je postojanje odziva metode za promatrani analit. Prilikom ispitivanja selektivnosti prati se utjecaj interferenata na odziv metode prilikom njihova dodatka u slijepu probu ili uzorak poznatog sastava. Znajući mjerne podatke može se uočiti nesigurnost povezana s interferentima ako poznamo područje njihovih koncentracija.

3.2 Eksperimentalna analiza izvedbe metode

Prilikom analize izvedbe metode, ono što se mora odrediti jest njena reprezentativnost. Naime, svaka metoda mora biti provedena tako da obuhvaća koncentracijska područja i tipove uzoraka karakteristične za tu metodu. Kada se neka promatrana karakteristika metode mijenja pravilno tijekom provođenja eksperimenta, utjecaj te karakteristike se očituje u promatranoj varijanci te ne zahtijeva daljnju analizu osim ako nije nužna optimizacija metode.

Stoga reprezentativna promjena neke karakteristike znači da se vrijednosti parametara koji imaju utjecaja na metodu moraju raspodijeliti u određenom području s obzirom na vrijednosti nesigurnosti tih parametara . U slučaju kontinuiranih parametara to se odnosi na prihvatljivo područje ili stalnu nesigurnost, dok se kod diskontinuiranih parametara kao što je uzorak matrice to područje odgovara različitim tipovima nesigurnosti prihvaćenih u svakodnevnom korištenju metode.

U praksi je jednostavnije koristiti podatke koji su nasumično odabrani u odnosu na one koji se sustavno mijenjaju. Tako je, na primjer, eksperiment koji se provodi nasumično u nekom periodu bolji jer se lako uočava utjecaj temperature u prostoriji na rezultate mjerenja dok se kod eksperimenta koji se provodi tijekom jednog dana javlja problem jer temperatura u prostoriji tog dana može značajno utjecati na rezultat mjerenja. Slučajna odstupanja su nepreciznija u odnosu na sustavna jer sustavna zahtijevaju manje analiza na temelju kojih se može utvrditi nesigurnost dok je za slučajna odstupanja potreban značajno veći broj pretpostavki na temelju kojih se može odrediti nesigurnost.

3.2. Sljedivost

Prilikom provođenja eksperimentalnih mjerenja važno je imati mogućnost usporedbe rezultata dobivenih u različitim laboratorijima ili u istom laboratoriju u određenim vremenskim razmacima. To se postiže uporabom iste mjerne skale u svim laboratorijima ili korištenjem istih referentnih vrijednosti koje su u skladu s nacionalnim ili internacionalnim standardima kao što je SI standard. Tako se primjerice analitičke vage umjeravaju referentnim masama koje su provjerene u skladu s nacionalnim standardima. Na taj način se osigurava sljedivost mjernih podataka čime se osigurava da analitičari koriste iste mjerne jedinice. Kod rutinskih mjerenja, konzistentnost mjerenja između laboratorija se usklađuje primjenom sljedivosti za sva mjerenja koja se koriste za kontrolu mjernog rezultata.

Sljedivost se definira kao svojstvo mjernog rezultata ili standardne vrijednosti kojom se taj rezultat dovodi u vezu s navedenom referencom dokumentiranim neprekinutim lancem umjeravanja od kojih svako doprinosi utvrđenoj mjernoj nesigurnosti.¹⁰ Pritom referencu predstavlja mjerna jedinica, mjerni postupak ili mjerni etalon. Mjerna sljedivost je blisko povezana s nesigurnosti. Dok sljedivost predstavlja razlog smještaja povezanih mjerenja na konzistentnoj mjernoj skali, nesigurnost karakterizira povezanost mjernih podataka i usklađenost između laboratorija koji provode slična mjerenja.

Sljedivost rezultata provedenog analitičkog postupka utvrđuje se na kombinaciji sljedećih procedura:

1. Uporaba sljedivih standarda za kalibraciju mjernih instrumenata
2. Korištenje primarne metode ili usporedba s njom
3. Korištenje čistog referentnog materijala
4. Korištenje odgovarajuće matrice – certificirani referentni materijal
5. Korištenje prihvatljivog postupka

Uporaba sljedivih standarda za kalibraciju mjernih instrumenata

Kalibracija mjernih instrumenata mora biti sljediva s odgovarajućim standardima. Stupanj određivanja analitičke metode umjerava se pomoću čistog referentnog materijala čija je vrijednost u skladu sa SI sustavom. Time se postiže sljedivost rezultata u SI sustavu za taj dio analitičkog postupka. Osim toga, potrebno je uspostaviti sljedivost za rezultate prije

kvantifikacijskog stupnja, kao što su ekstrakcija i pročišćavanje uzorka, korištenjem dodatnih postupaka.

Korištenje primarne metode ili usporedba s njom

Primarna metoda se definira kao postupak najveće mjerene kvalitete čiji su postupci opisani i razjašnjeni u skladu sa SI sustavom pri čemu su rezultati prihvaćeni bez reference za standard iste vrijednosti. Njen rezultat je u skladu sa SI sustavom te predstavlja najmanju postignutu nesigurnost za tu referencu. Rijetko se koriste u svakodnevnim testiranjima. Sljedivost rezultata postignutih primarnom metodom se postiže usporedbom mjernih rezultata primarne metode i testa ili kalibracijske metode.

Korištenje čistog referentnog materijala

Sljedivost se može predočiti mjerenjem uzorka koji sadrži poznatu količinu čistog referentnog materijala. To se postiže metodom standardnog dodatka. Pritom je nužno usporediti odzive mjernog sustava prilikom korištenja standarda i u slučaju testiranja uzorka. U većini kemijskih analiza razlike u odzivima i njihova nesigurnost je velika. Zbog toga je ova metoda primjenjiva u jednostavnim slučajevima budući da se kod složenijih analiza uslijed velike nesigurnosti mjernih rezultata ona ne mogu sa sigurnošću odrediti te ne može doći do njihove sljedivosti.

Korištenje odgovarajuće matrice

Sljedivost se također može predočiti usporedbom mjernih rezultata korištenjem certificiranog referentnog materijala s točno utvrđenim vrijednostima. Ovaj postupak može smanjiti nesigurnost u usporedbi s metodom korištenja čistog referentnog materijala kada je raspoloživa odgovarajuća matrica referentnog materijala. Unatoč tome, nesigurnost mjernih rezultata može biti velika ili se ne može odrediti posebno u slučaju neslaganja komponente u uzorku s referentnim materijalom.

Korištenje prihvatljivog postupka

Odgovarajuća usporedba mjernih rezultata se često postiže korištenjem definiranih i prihvaćenih metoda. Ti postupci se definiraju vrijednostima ulaznih parametara, na primjer veličina čestica. Rezultati postignuti korištenjem takve metode su prihvatljivi ako se vrijednosti ulaznih parametara mijenjaju na željeni način. Nesigurnost takvih mjerenja se javlja zbog nesigurnosti uslijed odgovarajućih ulaznih vrijednosti, utjecaja nepotpune

specifikacije i raspršenosti mjernih rezultata. Sljedivost rezultata se postiže usporedbom rezultata dobivenih prihvaćenim i alternativnim postupcima.

4. PROCJENA MJERNE NESIGURNOSTI

Koraci potrebni za procjenu mjerne nesigurnosti iz mjernog rezultata su:

1. Specifikacija mjernog rezultata
2. Određivanje izvora nesigurnosti
3. Određivanje komponenata nesigurnosti
4. Izračun kombinirane nesigurnosti

Specifikacija mjernog rezultata

Opiše se što je izmjereno u provedenom eksperimentu pri čemu se napravi veza između mjernog rezultata i ulaznih veličina (npr. konstante, izmjerene količine tvari, kalibracijske standardne veličine itd.) o kojima će ovisiti mjerni rezultat. Također se prilikom karakteriziranja mjernog rezultata uključe i korekcije sustavnih utjecaja.

Određivanje izvora nesigurnosti

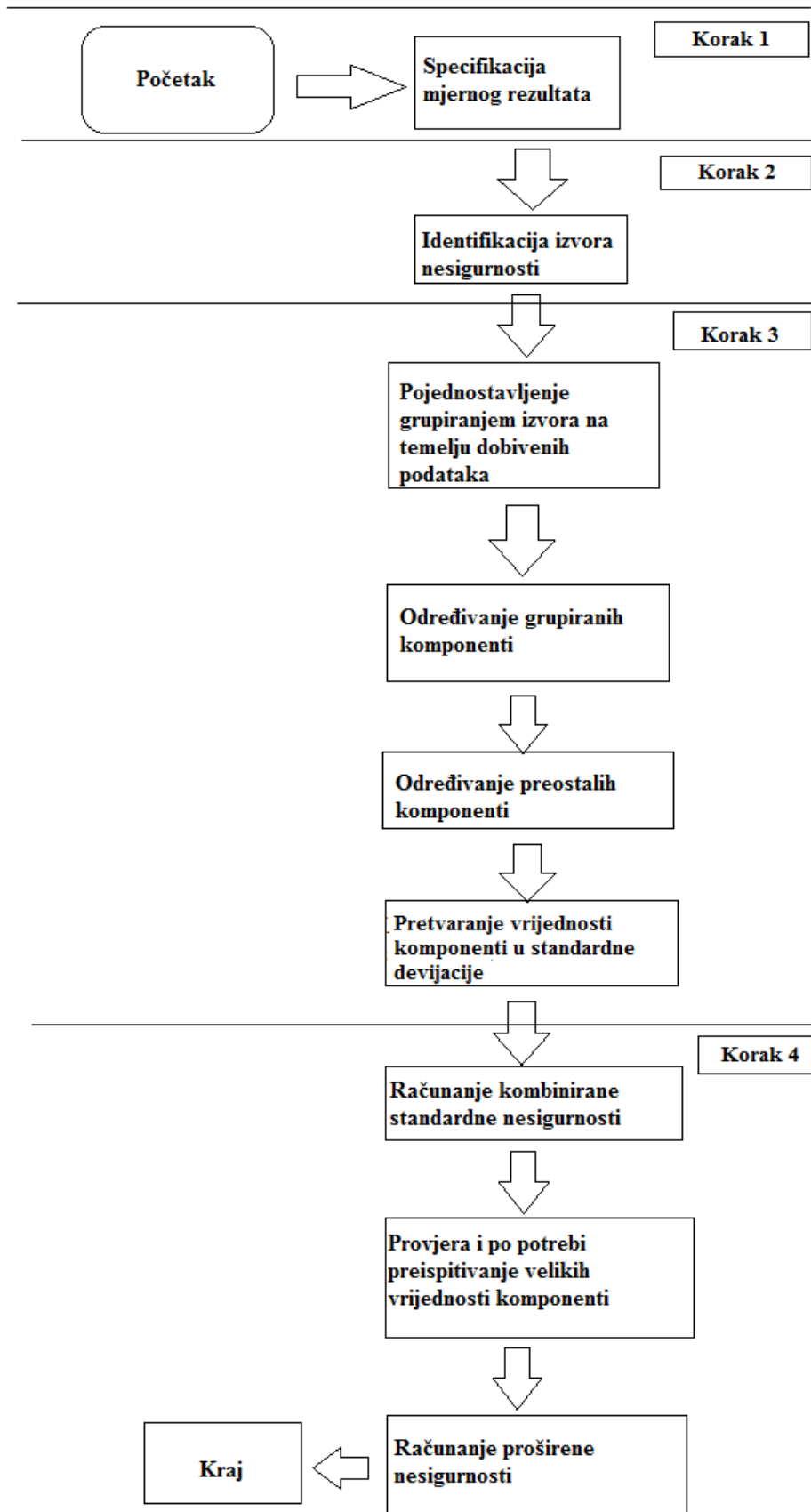
Napravi se popis potencijalnih izvora nesigurnosti. To uključuje izvore koji doprinose nesigurnosti za parametre koji su međusobno povezani (ulazne i izlazne veličine), no uključuje i izvore koji proizlaze iz kemijskih pretpostavki.

Određivanje komponenata nesigurnosti

Izmjeri se ili odredi veličina nesigurnosti komponenata koje su povezane s izvorima nesigurnosti koje su određeni. Također se treba razmotriti jesu li za sve dobivene podatke uzeti u obzir svi izvori nesigurnosti uz mogućnost dodatnih izvedbi eksperimenata kako bi se osiguralo da su svi izvori nesigurnosti uzeti u obzir.

Izračun kombinirane nesigurnosti

Doprinos ukupnoj nesigurnosti, koji se dobiva određivanjem komponenata nesigurnosti iz individualnih i grupnih izvora, treba biti izražen preko standardne devijacije. Tada se primjenom odgovarajućih pravila može izračunati kombinirana nesigurnost. Dodatkom faktora pokrivenosti se dobije proširena nesigurnost.



Slika 4: Postupak utvrđivanja nesigurnosti

5. SPECIFIKACIJA MJERNOG REZULTATA

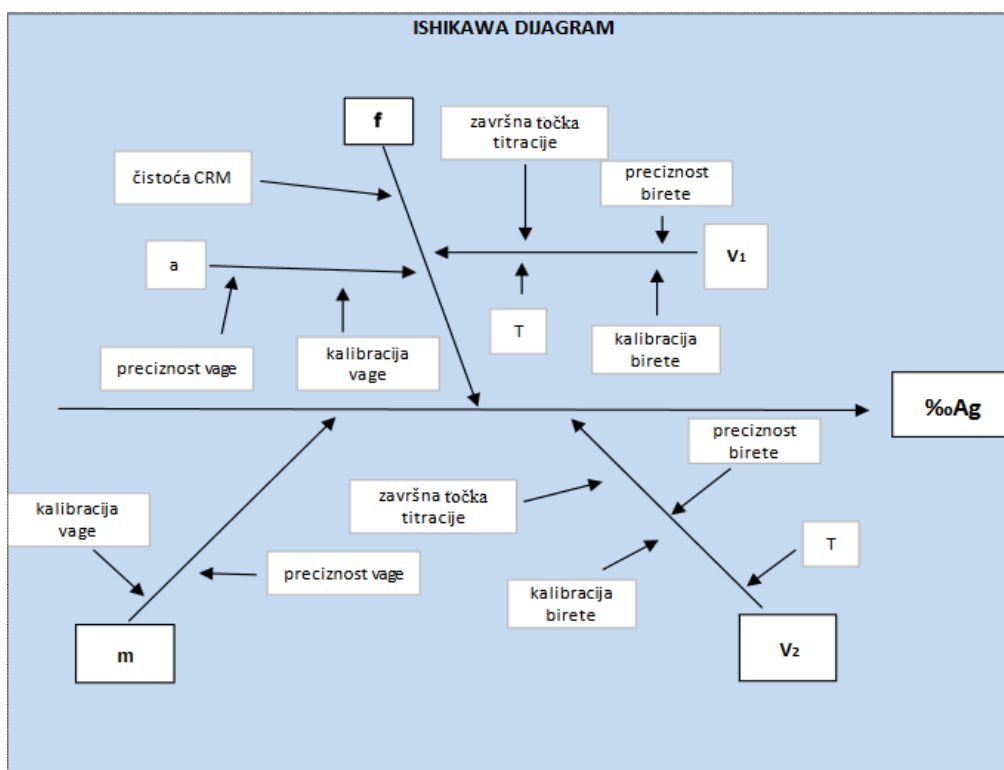
U svrhu određivanja nesigurnosti, specifikacija mjernog rezultata mora objasniti što je izmjereno u provedenom eksperimentu uz kvantitativni iskaz rezultata koji čini vrijednost mjernog rezultata u ovisnosti o parametrima koji utječu na taj rezultat. Ti parametri mogu biti drugi mjerni rezultati ili konstante. U slučaju da je uzorkovanje prisutno u mjernom postupku tada se u obzir uzima nesigurnost prilikom eksperimentalnog uzorkovanja.

Kod analitičkih mjerenja potrebno je razlikovati mjerenja kojima se dobivaju rezultati ovisni o metodi koja se koristi i rezultati neovisni o korištenoj metodi. Prema tome, mogu se razlikovati empirijske i racionalne analitičke metode. Kod racionalnih analitičkih metoda dobiveni rezultati, bez obzira na korištenu metodu, mogu biti uspoređivani. U slučaju empirijskih analitičkih metoda mjerena tvar je definirana korištenim postupkom.

6. IDENTIFIKACIJA IZVORA NESIGURNOSTI

Identifikaciju potencijalnih izvora nesigurnosti najpovoljnije je započeti korištenjem osnovnih izraza kojima se mogu izračunati mjerni rezultati korištenjem srednjih vrijednosti. Parametri koji se koriste u tim izrazima mogu sadržavati nesigurnost koja je povezana s vrijednostima parametara što ih čini potencijalnim izvorima nesigurnosti. Osim toga, mogu se pojaviti i parametri koji nisu korišteni u izrazima za izračun mjernog rezultata, ali mogu utjecati na njih, kao što su temperatura ili vrijeme ekstrakcije. Oni se također smatraju izvorima nesigurnosti te se moraju uzeti u obzir prilikom izračuna mjernog rezultata.

Jedan od često korištenih načina za analizu izvora nesigurnosti jest uzročno posljedični dijagram (*fishbone* ili Ishikawa diagram). Pomoću tog dijagrama može se prikazati povezanost različitih izvora nesigurnosti, međusobni utjecaj izvora nesigurnosti, a preglednim prikazom sprječava se da isti izvor nesigurnosti bude više puta uključen kao doprinos kombiniranoj nesigurnosti.



Slika 5: Prikaz izvora mjerne nesigurnosti rezultata¹²

Izrada ovog dijagrama temelji se na sljedećem postupku:

- Napiše se jednadžba za konačni mjerni rezultat. Parametri u toj jednadžbi predstavljaju glavne grane dijagrama.

- b) Razmotre se pojedini koraci u metodi te se dodaju dodatni faktori na glavne grane, primjerice utjecaj matrice ili utjecaj okoline.
- c) Za svaku granu se dodaju dodatni faktori do one mjere kada je utjecaj novododanog faktora zanemariv.
- d) Identificiraju se dupliciranja doprinosa te se grupiraju izvori nesigurnosti koji utječu na isti parametar nesigurnosti.

Analiza putem ovakvog dijagrama omogućuje identifikaciju uzroka čime se opravdava takvo istraživanje. Identifikacijom uzroka omogućuje se primjena odgovarajuće i prikladne aktivnosti koja će u potpunosti ukloniti taj utjecaj ili ga svesti na minimum.

Tipični izvori nesigurnosti su:

1. uzorkovanje,
2. uvjeti skladištenja,
3. djelovanje instrumenta,
4. čistoća reagensa,
5. pretpostavljena stehiometrija,
6. uvjeti mjerenja,
7. efekt uzorka,
8. izračuni,
9. korekcije slijepom probom,
10. utjecaj analitičara i
11. nasumični utjecaji.

Uzorkovanje

Prilikom uzorkovanja vlastitom metodom (*eng. in-house method*) javljaju se nasumična odstupanja između različitih uzoraka kao i odstupanja u samom postupku uzorkovanja što uzrokuje pojavu nesigurnosti koja utječe na konačni mjerni rezultat. Uzorkovanje je važan korak u određivanju prihvatljive vrijednosti nesigurnosti koja proizlazi iz kemijske analize. U slučaju prevelike vrijednosti nesigurnosti uzorka, redukcija nesigurnosti unutar kemijske analize neće imati značajnog utjecaja što takav postupak čini ekonomski neisplativim.

Uvjeti skladištenja

Uvjeti u kojima se uzorak za analizu skladišti mogu utjecati na rezultat mjerenja. Pritom se kao potencijalni izvor nesigurnosti uz uvjete u kojima je uzorak skladišten može smatrati i vrijeme skladištenja.

Djelovanje instrumenta

Pod djelovanjem instrumenta spada ograničena preciznost prilikom umjeravanja analitičke vage, regulator temperature koji održava srednju temperaturu koja se razlikuje od njegove radne točke.

Čistoća reagensa

Pretpostavka o čistoći reagensa unosi nesigurnost u sustav. Primjerice, organska bojila nisu 100% čista već mogu sadržavati izomere ili anorganske soli.

Pretpostavljena stehiometrija

U slučaju da se analitički proces temelji na definiranoj kemijskoj reakciji, treba uzeti u obzir mogućnost pojave nesigurnosti zbog odstupanja od očekivane stehiometrije, nepotpune reakcije ili odvijanja paralelnih reakcija.

Uvjeti mjerenja

Korištenjem laboratorijskog posuđa na sobnoj temperaturi, iako je umjeravano na drugoj temperaturi, unosi se nesigurnost u mjerni rezultat. Velike utjecaje temperature je potrebno korigirati, dok se nesigurnost u temperaturi tekućine i stakla treba uzeti u obzir prilikom izračuna mjernog rezultata. Također na rezultat mjerenja utjecaja ima i vlažnost ako je materijal osjetljiv na promjenu vlažnosti.

Korekcija slijepom probom

Potrebno je procijeniti nesigurnost mjerenja slijepe probe kao i opravdanost njenog korištenja. Korekcija slijepom probom je važna prilikom analize sljedivosti mjernog rezultata.

Utjecaj analitičara

Analitičar može drugačije interpretirati mjerni rezultat (primjerice, konzistentno očitava vrijednosti rezultata na mjernoj skali pod krivim kutom što daje previsoke ili preniske vrijednosti mjernih rezultata). Osim toga, analitičar može na drugačiji način interpretirati metodu koju upotrebljava za analizu što također unosi nesigurnost u mjerni rezultat.

Nasumični utjecaji

Nasumični utjecaji doprinose nesigurnosti kod svih analiza. Zbog toga je nasumične utjecaje potrebno uvrstiti na listu izvora mjerne nesigurnosti.

7. ODREĐIVANJE NESIGURNOSTI

Nakon što se odrede izvori nesigurnosti potrebno je odrediti nesigurnosti koje iz njih proizlaze. To se može provesti procjenom nesigurnosti proizašlih iz pojedinih izvora te njihovom kombinacijom ili direktnim određivanjem kombiniranog doprinosa nesigurnosti rezultata nekih ili svih izvora korištenjem podataka o učinkovitosti metode. U praksi se koristi kombinacija tih dviju metoda.

Bez obzira na pristup određivanju nesigurnosti, većina informacija za procjenu nesigurnosti je u najvećem broju slučajeva dostupna iz rezultata validacijskih analiza, podataka o osiguranju kvalitete i kontroli kvalitete te drugih eksperimentalnih analiza koji su provedeni za provjeru djelovanja metode. Osim toga, dostupni podaci ne moraju nužno omogućiti procjenu nesigurnosti iz svih izvora što zahtjeva dodatnu analizu.

7.1. Postupak procjene nesigurnosti

Postupak za procjenu nesigurnosti ovisi o dostupnim podacima koji su vezani za izvedbu metode. Kreiranje takvog postupka uključuje sljedeće korake:

1. Usklađivanje zahtijevanih informacija s dostupnim podacima

Potrebno je preispitati izvore nesigurnosti te utvrditi koji se od tih izvora trebaju uzeti u obzir gledajući dostupne podatke što se može provesti eksplicitnim ispitivanjem pojedinačnih doprinosa ili implicitnim promjenama u toku eksperimentalne izvedbe metode.

2. Planiranje nabave potrebnih dodatnih podataka

U slučaju da izvori nesigurnosti nisu razjašnjeni dostupnim podacima, mogu se zatražiti dodatni podaci koristeći literaturu ili specificirane podatke (certifikati, karakteristike instrumenta). Također se mogu planirati i eksperimenti kojima se mogu dobiti dodatni podaci. Dodatni eksperimenti obuhvaćaju proučavanja pojedinih izvora nesigurnosti čime se osigurava reprezentativna promjena značajnih faktora.

Važno je uočiti da sve komponente nesigurnosti ne daju jednak doprinos kombiniranoj nesigurnosti. Stoga vrijedi pravilo da se komponenta čija je vrijednost manja od jedne trećine najveće komponente ne treba detaljno analizirati. Poželjno je napraviti preliminarno

utvrđivanje doprinosa pojedinačnih komponenti kao i kombinacija komponenti na nesigurnost te eliminirati one komponente koje nisu značajne.

7.2. Važnost ranijih proučavanja

Kada se procjena nesigurnosti temelji na ranijim proučavanjima izvedbe metode, važno je objasniti prihvatljivost uzimanja rezultata ranijih proučavanja. To se najčešće sastoji od:

- a) Dokazivanja da se mogu postići vrijednosti slične vrijednostima ranijih analiza
- b) Dokazivanja da je korištenje podataka o odstupanjima koji su ranije postignuti opravdano, najčešće kroz određivanje odstupanja na mjerodavnim referentnim materijalima ili zadovoljavajućim izvedbama na provedenim programima.

Poznajući uvjete rada te u slučaju da se metoda provodi u području njene izvedbe, prihvatljivo je uzeti podatke iz ranijih proučavanja u svrhu procjene nesigurnosti.

7.3. Procjena nesigurnosti kvantifikacijom individualnih komponenti

U slučaju da je dostupno malo podataka o izvedbi metode ili ih uopće nema, najprihvatljiviji postupak je procjena nesigurnosti pojedinačnih komponenti. Temelji se na pripremi kvantitativnog modela za eksperimentalni postupak, procijeniti standardne nesigurnosti povezane s individualnim ulaznim parametrima te ih kombinirati na temelju zakona proširenja nesigurnosti.

7.4. Slični certificirani referentni materijali

Mjerenja provedena na certificiranim referentnim materijalima se smatraju dijelom validacije metode čime se dobivaju umjeravanja za cjelokupni mjerni postupak u odnosu na sljedeću referencu. Budući da se ovim postupkom dobiva informacija o kombiniranim utjecajima mnogih izvora nesigurnosti osigurava dobre podatke za procjenu nesigurnosti.

7.5. Procjena nesigurnosti korištenjem prijašnjih suradničkih metoda i podataka iz prethodnih validacija

Suradnička proučavanja koja rezultiraju validacijom objavljene metode čine važan izvor podataka za procjenu nesigurnosti. Ti podaci najčešće uključuju procjenu *reproducibilne standardne devijacije* za nekoliko stupnjeva odziva, linearnu procjenu ovisnosti reproducibilne standardne devijacije o stupnju odziva, a mogu uključivati i procjenu odstupanja na temelju analize referentnog materijala. Reproducibilna standardna devijacija¹⁴, s_R^* , se računa prema sljedećem izrazu:

$$s_R^* = \sqrt{s_x^2 + s_r^2 \cdot \frac{n-1}{n}} \quad (6)$$

gdje s_x predstavlja standardnu devijaciju prosjeka u nekom skupu podataka, a s_r ponovljivu standardnu devijaciju.

Kako će se ti podaci moći iskoristiti najviše ovisi o faktorima koji su uzeti u obzir kad su provedene analize. Tijekom analize ranijih proučavanja izvedbe metode potrebno je identificirati izvore nesigurnosti koji nisu obuhvaćeni suradničkim izučavanjima. Faktori koji se moraju promatrati prilikom procjene nesigurnosti su:

1. uzorkovanje
2. priprema uzorka
3. procjena točnosti
4. odstupanja u uvjetima mjerenja
5. odstupanja uzorka

Uzorkovanje

Ispitivanja nesigurnosti često ne uzimaju u obzir utjecaj uzorkovanja. Ako metoda uključuje poduzorkovanja, ili se na temelju vrijednosti malog uzorka procjenjuje sastav većeg uzorka, onda se utjecaji uzorkovanja trebaju proučiti i uzeti u obzir.

Priprema uzorka

U većini ispitivanja su uzorci homogeni te se dodatno stabiliziraju prije njihove raspodjele. Prilikom korištenja *in-house* metoda, tj. metoda koje nisu preuzete već razvijene u laboratoriju, poželjno je proučiti i dodati utjecaj pripreme uzorka na nesigurnost mjerenja.

Procjena točnosti

Procjena točnosti se često ispituje prije ili tijekom unutarlaboratorijskih analiza, a gdje je moguće ispituje se usporedbom s referentnom metodom ili materijalom. Kad su točnost i preciznost povezana s točnosti provjereni te su njihove vrijednosti male u odnosu na reproducibilnu standardnu devijaciju, nisu potrebne nikakva dodatna ispitivanja nesigurnosti točnosti. U protivnom se zahtijevaju dodatna ispitivanja nesigurnosti.

Odstupanja u uvjetima mjerenja

Uvjeti mjerenja u laboratorijima uvijek odstupaju u određenoj mjeri; to je minimizirati, a gotovo nemoguće u potpunosti izbjeći. Promjena uvjeta mjerenja može rezultirati donekle drugačijim procjenama rezultata u odnosu na područje izvedbe metode. Stoga, ukoliko se pokaže da uvjeti mjerenja značajno odstupaju potrebno je dodatno ispitati nesigurnost pojedinog izvora.

Odstupanja uzorka

Nesigurnost koja je proizašla iz različitog sastava uzorka ili odstupanja u količini interferenta izvan područja koje je obuhvaćeno poznatim analizama treba uzeti u obzir prilikom procjene nesigurnosti.

7.6. Procjena nesigurnosti korištenjem unutarlaboratorijskih i validiranih metoda

Unutarlaboratorijske i validirane metode se temelje na određivanju parametara izvedbe metode (linearnost, preciznost, granica detekcije itd.). Određivanje nesigurnosti iz tih parametara se može koristiti za:

- a) najbolju dostupnu procjenu ukupne preciznosti
- b) najbolju dostupnu procjenu ukupne točnosti i njene nesigurnosti
- c) kvantifikaciju nesigurnosti koja nije izražena navedenim doprinosima nesigurnosti

Studije preciznosti

Preciznost je potrebno procijeniti koristeći što je veći mogući broj faktora koji na nju utječu. To se može postići korištenjem standardne devijacije rezultata tipičnog uzorka analiziranog nekoliko puta tijekom određenog vremena uporabom različitih instrumenata ili

izvedbom više analitičara, korištenjem standardne devijacije u ponovljenim analizama za svaki od nekoliko uzoraka ili uporabom višefaktorske analize varijance gdje je potrebno procijeniti značajnost utjecaja pojedinog faktora.

Studije točnosti

Ukupna odstupanja mjerenja se najbolje procjenjuju ponovljenim analizama mjerodavnog referentnog materijala. Nakon što se provedu te analize te uoči da odstupanja nisu značajna, nesigurnost koja je povezana s odstupanjima je kombinacija vrijednosti standardne nesigurnosti referentnog materijala i standardne devijacije povezane s odstupanjima.

Kad je referentni materijal približno reprezentativan ispitivanim materijalima, moraju se uzeti u obzir dodatni faktori, primjerice razlika u sastavu i homogenosti budući da su referentni uzorci u velikom broju slučajeva homogeniji nego ispitivani uzorci.

Kod nekih metoda odstupanja rezultata se mogu razlikovati ovisno o količini/koncentraciji analita, pa i ovaj čimbenik tada treba uzeti u obzir.

Osim toga, ukupna točnost se može procijeniti dodatkom analita prethodno analiziranom materijalu pri čemu se različita ponašanja materijala dodanog uzorku i materijala koji je izvoran uzorku moraju uzeti u obzir te se trebaju provesti određena dopuštenja. Ta dopuštenja se temelje na:

- a) analizama raspodjele točnosti promatrane na određenom rasponu matrica i količini dodanog analita
- b) usporedbi rezultata promatranih u referentnom materijalu s rezultatima dodatka analita referentnom materijalu
- c) procjenama na temelju specifičnih materijala koji imaju karakteristične reakcije
- d) procjenama na temelju prijašnjih iskustava

Točnost se može procijeniti usporedbom određene metode s metodom standardnog dodatka gdje se dodaje poznata koncentracija analita ispitivanom uzorku, a točnost te koncentracije se određuje ekstrapolacijom. Nesigurnost se tada sastoji od nesigurnosti ekstrapolacije kombinirane s nesigurnosti pripreme otopine standardnog dodatka.

Osnovni zahtjev ISO standarda da se korekcije moraju napraviti za sve poznate i značajne sustavne pogreške. Kada se napravi korekcija tada je nesigurnost jednaka nesigurnosti korigirane metode kombinirana s nesigurnosti korekcije.

Studije ostalih faktora

Utjecaji dodatnih faktora se trebaju procjenjivati zasebno na temelju eksperimentalnih varijacija ili teorije. Nesigurnost povezana s tim faktorima treba biti procijenjena i kombinirana s ostalim doprinosima. Kada je utjecaj ostalih faktora zanemariv s obzirom na preciznost preporučeno je da se doprinos nesigurnosti izjednači sa standardnom devijacijom koja je povezana s mjerodavnim testom značajnosti koji je vezan za taj faktor.

7.7. Procjena nesigurnosti za empirijske metode

Empirijska metoda je metoda prihvaćena u svrhu usporednih mjerenja u određenom području njene primjene gdje mjerni rezultat najčešće ovisi upravo o metodi koja se koristi. Prema tome, metoda definira mjerni rezultat. Kad se metoda koristi u području njene primjene, točnost koja je povezana s metodom je jednaka nuli. U tim uvjetima procjena točnosti ovisi o laboratorijskim izvedbama te uz to nije potrebno računati pravu vrijednost točnosti metode.

Određivanje referentnog materijala za mjerenje točnosti se provodi korištenjem referentnog materijala koji je certificiran određenom metodom ili korištenjem materijala čija je vrijednost dobivena validiranom metodom.

Ako referentni materijal nije dostupan, točnost se povezuje s kontrolom parametara metode koji utječu na rezultat (vrijeme, temperatura, masa, volumen itd.). Nesigurnost povezana s tim parametrima mora po tome biti procijenjena i prikazana kao zanemariva ili kvantificirana.

7.8. Procjena nesigurnosti za *ad-hoc* metode

Ad-hoc metode su metode razvijene za ispitivanja koja se odnose na kraće razdoblje. Takve metode su zasnovane na standardnim ili validiranim metodama koje su znatno prilagođene (npr. različiti analiti, matrica itd.). U ovom slučaju potrebno se osloniti na poznate izvedbe povezanih sustava ili blokova unutar tih sustava. Unutar tih blokova se smatra da je nesigurnost jednaka standardnoj ili validiranoj metodi. Informacije o izvedbi metode trebaju biti potkrijepljene studijama kako bi se osigurala mjerodavnost takvih informacija.

Nužno je da procjena ukupne točnosti i indikacije preciznosti budu dostupne za ispitivanu metodu. Idealno se točnost mjerenja ispituje pomoću referentnog materijala, dok se

najčešće primjenjuje metoda standardnog dodatka. U konačnici se uspoređi ukupna točnost promatrana za *ad-hoc* metodu i točnost promatrana za povezani sustav koji se nalazi u zahtijevanom području ispitivanja.

Za određivanje preciznosti se također koristi metoda standardnog dodatka te je poželjno provesti što veći broj analiza, a preciznost metode se uspoređuje s preciznošću povezanog sustava.

7.9. Kvantifikacija individualnih komponenti

U velikom broju ispitivanja potrebno je razmotriti neke izvore nesigurnosti zasebno. U nekim slučajevima je to potrebno samo za mali broj izvora nesigurnosti. S druge strane, pogotovo kada je dostupno malo ili uopće nema dostupnih podataka o izvedbi metode, mora se svaki izvor nesigurnosti razmatrati zasebno. Postoji nekoliko metoda utvrđivanja izvora nesigurnosti individualnih komponenti:

1. Varijaciji eksperimentalnih podataka ulazne varijable
2. Iz postojećih podataka kao što su mjerenja i kalibracijski certifikati
3. Modeliranje iz teoretskih pretpostavki
4. Koristeći prosudbe i empirijsko modeliranje

Eksperimentalna procjena doprinosa individualnih komponenti

Često je izvedivo i poželjno dobiti procjenu doprinosa nesigurnosti individualnih komponenti iz eksperimentalnih analiza. Standardna nesigurnost proizašla iz nasumičnih utjecaja je često mjeri iz ponovljenih eksperimenata te se određuje u uvjetima standardne devijacije za izmjerenu vrijednost. Drugi eksperimenti mogu uključivati:

- a) Analizu utjecaja promjene jednog parametra na rezultat mjerenja

To je prihvatljivo kad su prisutni kontrolirani parametri koji su neovisni o drugim utjecajima kao što je to primjerice temperatura. Potom se iz eksperimentalnih podataka napravi ovisnost promjene rezultata o promjeni vrijednosti parametra. To se onda kombinira s nesigurnosti parametra kako bi se dobio mjerodavni doprinos nesigurnosti.

- b) Analizu robusnosti sustavnim ispitivanjima značajnosti umjerene promjene vrijednosti parametra

To je praktično primjenjivo za potrebe brze identifikacije značajnih utjecaja zbog čega se primjenjuje u optimizaciji metode. Ova metoda se može

primijeniti u slučaju određenih utjecaja kao što su promjena matrice, mala promjena opreme što rezultira nepredvidivim utjecajima na rezultat. Tamo gdje je zanemariva, povezana nesigurnost je ona dobivena analizom robusnosti.

- c) Sustavni višefaktorski eksperimentalni dizajn namijenjen za procjenu utjecaja faktora i interakcija

Ove analize su korisne u slučaju prisutnosti kategoričkih varijabli. Kategoričke varijable su varijable nevezane za veličinu efekta, primjerice broj laboratorija u studiji, imena analitičara, vrsta uzoraka itd.

Procjena temeljena na drugim rezultatima

Često je moguće procijeniti standardnu nesigurnost koristeći bilo koju mjerodavnu informaciju o nesigurnosti parametara kao što su:

- a) studija međulaboratorijskih testova
- b) podaci o osiguranju kvalitete
- c) dodatne informacije

Studija međulaboratorijskih testova

Laboratorijski rezultati dobiveni provođenjem međulaboratorijskih testova se mogu koristiti za provjeru procjene nesigurnosti budući da bi nesigurnost trebala biti usporediva s vrijednostima izračunatima u više međulaboratorijskih testova.

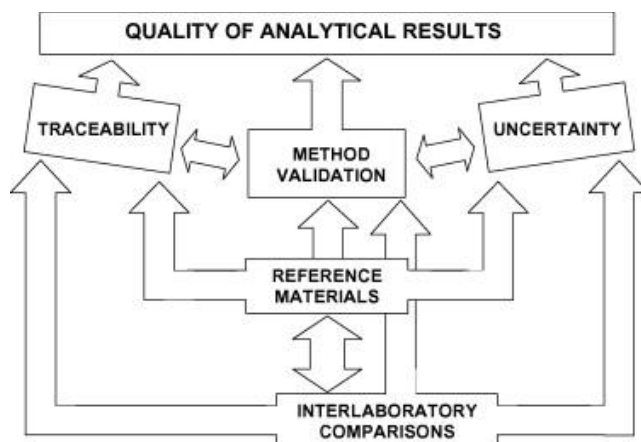
U slučajevima kada sastavi ispitivanih uzoraka pokrivaju puno područje analize, prihvaćene vrijednosti imaju sljedivost odgovarajućeg referentnog materijala i kad je nesigurnost određene vrijednosti mala u odnosu na promatranu promjenu vrijednosti rezultata tada se rezultati međulaboratorijskih testova mogu koristiti za dodatne procjene unutar sheme.

Podaci o osiguranju kvalitete

Potrebno je osigurati da kriteriji kvalitete postavljeni u standardnom operacijskom postupku budu postignuti i da mjereni uzorci kontinuirano ispunjavaju postavljene kriterije. Ako je referentni materijal korišten u ispitivanju osiguranja kvalitete podaci se mogu koristiti za procjenu nesigurnosti. Ako se koristi drugi materijal podaci se koriste za procjenu srednje preciznosti. Podaci o osiguranju kvalitete se mogu koristiti za kontinuiranu provjeru nesigurnosti nasumičnih efekata. Pritom kombinirana nesigurnost nasumičnih utjecaja ne može biti manja od standardnog odstupanja mjerenja osiguranja kvalitete.

Dodatne informacije

Za mnoge izvore nesigurnosti procjena se može napraviti na temelju kalibracijskih certifikata, kataloga kemikalija, kataloga opreme itd.



Slika 6: Glavni parametri QA/QC sustava i načini njegove procjene¹³

7.10. Modeliranje iz teoretskih principa

U većini slučajeva dobro procijenjena fizikalna teorija osigurava dobar model za utjecaje na rezultat. Primjerice, kad se promatra utjecaj temperature na volumen i viskoznost, nesigurnost se može procijeniti ili izračunati korištenjem proširenja nesigurnosti.

Kod preostalih slučajeva potrebno je aproksimirati teoretski model kombinirajući s eksperimentalnim podacima. Primjerice, praćenje utjecaja vremena na reakciju derivatizacije gdje se aproksimativno utvrdi model iz eksperimentalnih analiza derivatizacijske kinetike te se procjeni nesigurnost iz brzine promjene u zadanom vremenu.

7.11. Procjena na temelju prosudbi

Procjena nesigurnosti se temelji na detaljnom poznavanju prirode mjernog rezultata i korištene mjerne metode i procedure. Stoga kvaliteta vrijednosti nesigurnosti koja je dana kao rezultat mjerenja ovisi o razumijevanju, kritičkoj analizi i integritetu onoga koji doprinosi određivanju tih vrijednosti.

Najveći broj raspodjela podataka se može interpretirati na način da će se jako rijetko promatrati podaci na krajevima raspodjele već se promatraju podaci u centru. Zbog toga se

određivanje takvih raspodjela i njihovih povezanih standardnih devijacija temelji na ponavljanju mjerenja.

Postoji velik broj slučajeva potrebe procjene nesigurnosti temeljene na prosudbi:

- a. Procjena iskorištenosti i povezana nesigurnost se ne mogu provoditi za pojedine uzorke. Tada se radi procjena za grupe uzoraka te se rezultati pripisuju svim uzorcima sličnih karakteristika. Stupanj sličnosti je nepoznat, dok je interferencija povezana s dodatnim elementom nesigurnosti koji se ne predočava frekvencijski.
- b. Korištenje referentnog materijala je poželjno, no tada je prisutna nesigurnost s obzirom na pravu vrijednost, ali i s obzirom na mjerodavnost referentnog materijala korištenog za analizu određenog uzorka. Prosudba je potrebna za određivanje koja standardna tvar je slična prirodi uzorka u odgovarajućoj situaciji.
- c. Mjerni model se definira kao svojstvo analitičkog postupka koje se koristi za pretvorbu i mjerenje vrijednosti mjernog rezultata. Taj model je podložan nesigurnosti. Pretpostavka je da se ponaša po specifičnom modelu, ali se to ne može sa sigurnošću tvrditi.
- d. Još jedan izvor nesigurnosti proizlazi u slučaju da je mjerni rezultat nepotpuno definiran postupkom. Tu spadaju temperatura oksidacije, svojstvo matrice ili interferenta.
- e. Jedna od čestih metoda u analitičkoj kemiji je određivanje iskoristivosti pomoću metode standardnog dodatka gdje se prosuđuje iskoristivost za čistu tvar, ali i za cijeli skup komponenti. Povezana nesigurnost je eksperimentalno procijenjena što omogućuje analitičaru analizu iskorištenosti u cijelom koncentracijskom području i pri svim koncentracijskim vrijednostima. Međutim, ovaj postupak se često zamjenjuje prosudbom ovisnosti iskorištenja o koncentraciji, ovisnosti koncentracije o standardnom dodatku, ovisnosti iskorištenja o vrsti matrice.

Prosudbe ove vrste temelje se na stupnju vjerovanja (eng. *degree of belief*), intuitivnoj vjerojatnosti (eng. *intuitive probability*) i kredibilitetu (eng. *credibility*).

Iako je poznato da subjektivna procjena varira od osobe do osobe, ne znači nužno da je irelevantna već je pod utjecajem zajedničkog mišljenja, znanja stručnjaka i ranijih

eksperimenata i promatranja. U praksi subjektivne procjene ne moraju dati lošije rezultate od ponovljenih mjerenja.

Tipični problem ove prirode proizlazi ako se promjenjivost u dužem vremenu treba procijeniti bez raspoloživih kolaboracijskih podataka. Znanstvenik koji odbaci mogućnost zamjene mjerenja sa subjektivnom procjenom može zanemariti značajne doprinose kombiniranoj nesigurnosti što ih čini manje objektivnim nego onaj tko se pouzdaje u subjektivnu procjenu.

7.12. Značajnost točnosti

Prema ISO standardu potrebno je napraviti korekciju točnosti za sve metode koje posjeduju sustavnu pogrešku. Prilikom odlučivanja može li se točnost zanemariti potrebno je:

- a) Procijeniti kombiniranu nesigurnost bez uključivanja točnosti
- b) Usporediti točnost s kombiniranom nesigurnosti
- c) Kada je točnost značajno manja od kombinirane nesigurnosti može se zanemariti
- d) Kada je točnost značajna u odnosu na kombiniranu nesigurnost nužna je korekcija za točnost i nesigurnost korekcije te izraziti točnost i njegovu nesigurnost u izvještaju rezultata mjerenja.

8. RAČUNANJE KOMBINIRANE NESIGURNOSTI

8.1. Standardna nesigurnost

Prije kombiniranja, svi doprinosi nesigurnosti moraju biti izraženi preko standardne nesigurnosti, odnosno standardne devijacije. To uključuje konverziju iz druge mjere disperzije.

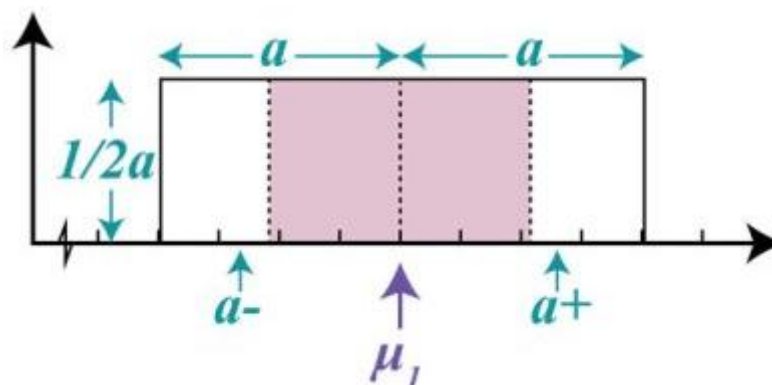
Kad je nesigurnost komponente procijenjena eksperimentalno iz disperzije ponovljenih mjerenja, može se izraziti kao standardna devijacija. Za doprinos nesigurnosti u pojedinačnim mjerenjima, standardna nesigurnost je pojednostavljeno promatrana standardna devijacija. Mjerni rezultati koji su povezani sa srednjom vrijednosti se izražavaju srednjom standardnom devijacijom.

$$s_x = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (7)$$

gdje s predstavlja standardnu devijaciju, a n broj mjernih rezultata.

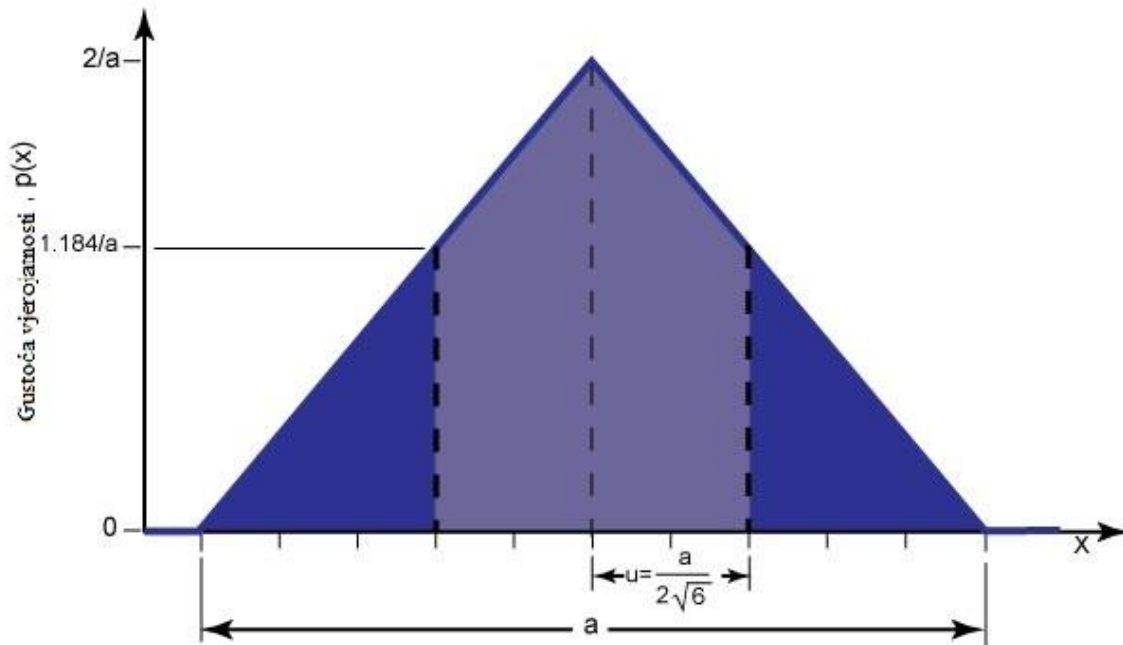
Kad je procijenjena nesigurnost proizašla iz prijašnjih rezultata i podataka izgledno je da je već izražena kao standardna devijacija. Tamo gdje je interval sigurnosti (eng. *interval confidence*) dan sa stupnjem sigurnosti (eng. *level of confidence*) (izraženo kao $\pm a$ za $p\%$) tada se vrijednost a podijeli s odgovarajućom vrijednosti iz statističkih tablica za taj stupanj sigurnosti kako bi se dobila standardna devijacija.

Ako su granice $\pm a$ izražene bez stupnja sigurnosti i postoji razlog za očekivanjem ekstremnih vrijednosti, prihvatljivo je pretpostaviti pravokutnu raspodjelu sa standardnom devijacijom $\frac{a}{\sqrt{3}}$.



Slika 7: Pravokutna raspodjela²⁰

Ako su granice $\pm a$ izražene bez stupnja sigurnosti, ali postoji razlog očekivati da neće biti ekstremnih vrijednosti, prihvatljivo je pretpostaviti trokutnu raspodjelu sa standardnom devijacijom $\frac{a}{\sqrt{6}}$.



Slika 8: Trokutna raspodjela²¹

Kad se radi procjena temeljena na prosudbi, moguće je procijeniti komponentu direktno kao standardnu devijaciju. Ako to nije moguće onda se procjena radi za najveću devijaciju koja se može pojaviti tijekom mjerenja. Ako se očekuje mala vrijednost pogreške, onda se procjena temelji na trokutnoj raspodjeli. U slučaju da se očekuje velika vrijednost pogreške, procjena se opisuje pravokutnom raspodjelom.

8.2. Kombinirana standardna nesigurnost

Nakon što se procjene nesigurnosti individualnih komponenti ili grupa komponenti te se izraze preko standardne nesigurnosti, sljedeći korak je izračunati kombiniranu standardnu nesigurnost.

Veza između kombinirane standardne nesigurnosti $u_c(y)$ za neku vrijednost y i nesigurnosti individualnih komponenti x_i o kojima ovisi vrijednost y je:

$$u_c(y(x_1, x_2, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1}^n c_i^2 u(x_i)^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^n u(y, x_i)^2} \quad (8)$$

Kad varijable nisu zavisne, veza između njih je još složenija:

$$u(y(x_{i,j}, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1,n} c_i^2 u(x_i)^2 + \sum_{\substack{i,k=1,n \\ i \neq k}} c_i c_k * u(x_i, x_k)} \quad (9)$$

U gornjem izrazu $u(x_i, x_k)$ predstavlja kovarijancu između x_i i x_k dok c_i i c_k predstavljaju koeficijente osjetljivosti (eng. *sensitivity coefficient*) koji prate kako varijabla y zavisi o promjeni parametara x_1, x_2 itd. Kovarijanca je vezana za korelacijski koeficijent r_{ik} sljedećim izrazom:

$$u(x_i, x_k) = u(x_i) * u(x_k) * r_{ik} \quad (10)$$

gdje je $-1 \leq r_{ik} \leq 1$.

Gore navedeni postupci se primjenjuju kad je nesigurnost povezana s pojedinačnim parametrima, grupiranim parametrima ili metodom u cjelini. U slučaju da je doprinos nesigurnosti povezan s cjelokupnom procedurom, često se izražava kao efekt na konačni rezultat. Tada je vrijednost koeficijenta osjetljivosti $\frac{\partial y}{\partial x}$ jednaka 1.

U nekim slučajevima se izražavanje kombinirane nesigurnosti pojednostavljuje jednostavnijim izrazima.

- a) Za modele koji uključuju zbroj ili razliku veličina, primjerice $y = (p+q+r+\dots)$, kombinirana standardna nesigurnost $u_c(y)$ se izražava kao:

$$u_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + \dots} \quad (11)$$

- b) Za modele koji uključuju produkt ili kvocijent, primjerice $y = p * q * r * \dots$ ili $y = p / (q * r * \dots)$ kombinirana standardna nesigurnost $u_c(y)$ se izražava kao:

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \dots} \quad (12)$$

gdje $\frac{u(p)}{p}$, $\frac{u(q)}{q}$... predstavljaju nesigurnosti parametara izražene preko relativna standardne devijacije.

Za potrebe kombinirane nesigurnosti komponente, najprikladnije je podijeliti originalni matematički model u izraze koji sadržavaju isključivo operacije koju su obuhvaćene nekim od gore navedenih pravila. Primjerice, izraz $\frac{(o+p)}{(q+r)}$ se treba razdijeliti na dva elementa, $(o+p)$ i $(q+r)$. Tada se nesigurnost za svaki od tih izraza odredi prema prvom pravilu. Te nesigurnosti se kombiniraju koristeći drugo pravilo kako bi se dobila kombinirana standardna nesigurnost.

Postoje mnogi slučajevi u kojima se veličina komponente nesigurnosti razlikuje s količinom analita. Primjerice, nesigurnost kod određivanja iskorištenosti može biti manja kod većih količina materijala, spektroskopski signali se mogu nasumično razlikovati približno proporcionalno intenzitetu. Tada je važno uzeti u obzir promjene u kombiniranoj standardnoj nesigurnosti s količinom analita. Pristup uključuje:

- a) ograničenje procedure ili procjene nesigurnosti na male raspone koncentracije analita,
- b) omogućiti procjenu nesigurnosti u obliku relativne standardne devijacije,
- c) eksplicitno izračunati ovisnost te preračunati u nesigurnost za dobiveni rezultat.

8.3. Proširena nesigurnost

Zadnji korak je pomnožiti kombiniranu standardnu nesigurnost s odgovarajućim faktorom pokrivenosti kako bi se odredila proširena nesigurnost. Proširena nesigurnost treba predvidjeti interval u kojem je očekivano da će se nalaziti velika područja raspodjele vrijednosti koja mogu biti pripisana mjernom rezultatu.

Prilikom određivanja vrijednosti faktora pokrivenosti treba uzeti nekoliko čimbenika u obzir:

- a) Potreban stupanj sigurnosti
- b) Poznavanje temeljne raspodjele
- c) Poznavanje broja vrijednosti potrebnih za procjenu nasumičnih utjecaja

U većini slučajeva je preporučljivo da faktor k ima vrijednost 2. Međutim, ta vrijednost faktora pokrivenosti može biti nedovoljna ako se kombinirana nesigurnost temelji na statističkim promatranjima s malim brojem stupnjeva slobode (manje od 6). Izbor veličine k tada ovisi o efektivnom broju stupnjeva slobode.

Kada je kombinirana standardna nesigurnost dominirana pojedinačnim doprinosom s manje od 6 stupnjeva slobode, tada je poželjno vrijednost k definirati s vrijednosti Studentove t-razdiobe za broj stupnjeva slobode povezanih s tim doprinosom te odgovarajućim stupnjem sigurnosti (najčešće 95%).

Kada je uključena raspodjela normalna, vrijednost faktora pokrivenosti definira interval koji sadrži približno 95% raspodjele vrijednosti. Nije preporučljivo da taj interval podrazumijeva 95% -tni interval sigurnosti bez poznavanja uključene raspodjele.

stupnjevi slobode	t
1	6,314
2	2,920
3	2,353
4	2,132
5	2,015
6	1,943
7	1,895
8	1,860
9	1,833
10	1,812

Slika 9: Studentova t-razdioba²²

9. IZVJEŠTAJ ANALIZE NESIGURNOSTI

Informacije potrebne za izvještaj rezultata mjerenja ovise o tome za što će se ti rezultati koristiti. Takav izvještaj treba:

- a) Prezentirati dovoljno informacija kako bi se omogućila izmjena rezultata u slučaju da budu dostupne nove informacije ili podaci
- b) Prihvatljivije je omogućiti veći broj informacija nego da ih ima premalo

Kada se detalji mjerenja, uključujući i to kako su određene nesigurnosti utvrđeni, važno je da dokumentacija bude ažurirana i konzistentna s korištenom metodom.

9.1. Potrebne informacije

Potpuni izvještaj rezultata mjerenje treba uključivati ili se referirati na dokumentaciju koja sadrži:

- a) Opis metoda korištenih za izračun mjernih rezultata i njihovih nesigurnosti iz eksperimentalnih analiza i podataka
- b) Vrijednosti i izvore svih korekcija i konstanti koje su korištene u izračunu i analizi nesigurnosti
- c) Listu svih komponenata nesigurnosti s cjelokupnom dokumentacijom kako je svaka od tih komponenti određena

Podaci i analiza moraju biti predloženi na način da se bitni koraci jednostavno prate i da se po potrebi ponovno prikažu izračuni za rezultate. Ako je potreban detaljan izvještaj koji uključuje i ulazne varijable, tada je potrebno:

- a) Dati vrijednost svakoj ulaznoj varijabli, njenoj standardnoj nesigurnosti i opisu kako je svaka od tih nesigurnosti određena
- b) Dati vezu između rezultata i ulaznih varijabli i parcijalne derivacije, kovarijance ili korelacijskih koeficijenata koji su korišteni za izračun korelacijskih utjecaja.
- c) Navesti broj stupnjeva slobode za standardnu nesigurnost svake ulazne varijable

Kad se iznosi izvještaj rezultata rutinske analize, tada je dovoljno navesti vrijednosti proširene nesigurnosti i vrijednosti k .

9.2. Izvještaj standardne nesigurnosti

Kad se nesigurnost izražava kao kombinirana standardna nesigurnost, u_c , tada se preporučuje sljedeći način predočavanja:

Rezultat: x [mjerna jedinica] sa standardnom nesigurnosti u_c [mjerna jedinica]

9.3. Izvještaj proširene nesigurnosti

Osim ako nije drugačije definirano, rezultat mjerenja x bi trebao biti naveden zajedno s proširenom nesigurnosti U koja je izračunata korištenjem faktora pokrivenosti. Način predočavanja rezultata je sljedeći:

Rezultat: $(x \pm U)$ [mjerna jedinica] {gdje} je priopćena nesigurnost izračunata korištenjem vrijednosti faktora pokrivenosti 2 {što daje stupanj sigurnosti od približno 95%}.

Izrazi u { } se mogu zanemariti ili skratiti ako je potrebno. Faktor pokrivenosti treba biti prilagođen tako da pokazuje vrijednosti koja je stvarno korištena.

9.4. Numeričko izražavanje rezultata

Numeričke vrijednosti rezultata i njihova rezultata ne bi trebale biti prikazivane s pretjeranim brojem znamenki. Kad se izražava proširena nesigurnost U ili standardna nesigurnost u_c rijetko je potrebno dati više od dvije značajne znamenke za nesigurnost. Rezultati trebaju biti povezani kako bi bili konzistentni s danom nesigurnosti.

9.5. Sukladnost s granicama

Regulirana sukladnost često savjetuje da mjerni rezultat, kao što su koncentracija ili toksičnost tvari, budu prikazani tako da budu unutar granica. Mjerna nesigurnost podrazumijeva interpretaciju analitičkih rezultata na ovaj način. U praksi:

- a) Nesigurnost analitičkog rezultata treba biti uzeta u obzir kada se procjenjuje sukladnost
- b) Granice su možda postavljene s određenim ograničenjima za mjerne nesigurnosti

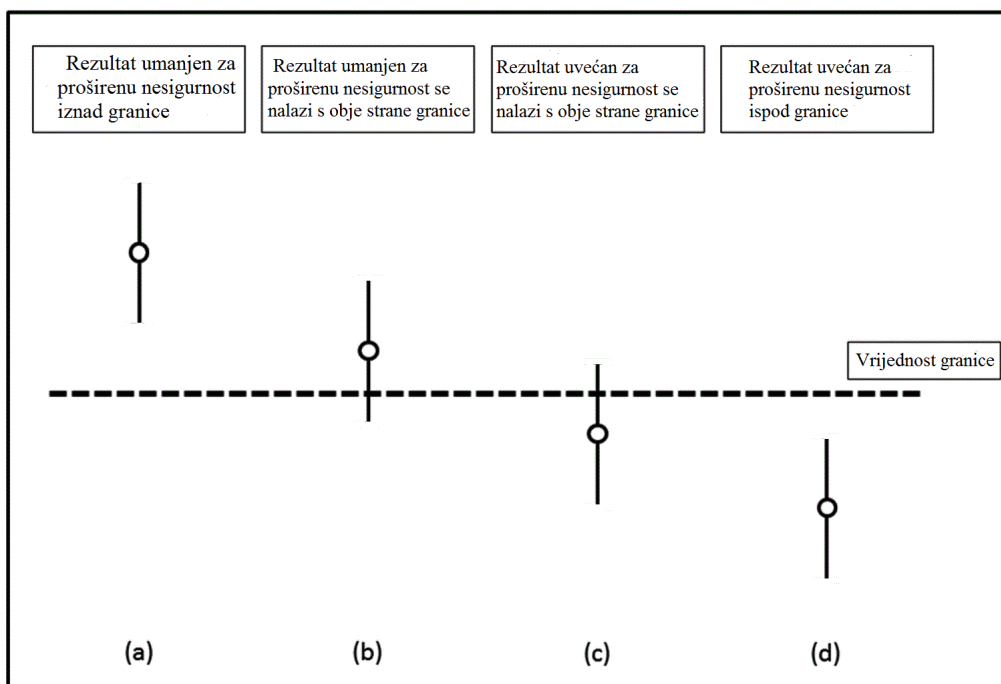
Razmatranja trebaju biti dana za oba faktora prilikom bilo kakve procjene.

Pretpostavljajući da su granice postavljene bez ograničenja za nesigurnost, očigledne su četiri situacije za slučaj sukladnosti s gornjom granicom:

1. Rezultat premašuje vrijednost granice te je dodatno uvećan za proširenu nesigurnost
2. Rezultat premašuje graničnu vrijednost za veličinu manju od proširene nesigurnosti
3. Rezultat je ispod granične vrijednosti za veličinu manju od proširene nesigurnosti
4. Rezultat je ispod granične vrijednosti te je dodatno umanjen za proširenu nesigurnost

Prvi slučaj predstavlja čistu nesukladnost. Četvrti slučaj se interpretira kao sukladnost. Drugi i treći slučaj zahtijevaju individualna razmatranja za potrebe usklađivanja potrebama korisnika tih podataka.

Gdje je poznato ili se smatra da su granice postavljene s određenim ograničenjima za nesigurnost, prosudba o sukladnosti se može napraviti jedino poznajući to ograničenje. Izuzetak se radi u slučaju da je sukladnost postavljena s obzirom na utvrđenu metodu koja se provodi u definiranim uvjetima. Implicitno u takvim zahtjevima jest pretpostavka da je nesigurnost dovoljno mala da se može zanemariti u praktične svrhe. U tom slučaju, osiguravši odgovarajuću kontrolu kvalitete, sukladnost se izvještava samo za vrijednosti odgovarajućeg rezultata.



Slika 10: Nesigurnost i sukladnost s granicama¹⁵

10. ZAKLJUČAK

Određivanje mjerne nesigurnosti je važan postupak kad se provodi kvantitativna kemijska analiza u svrhu definiranja kvalitete produkta, usporedbe svojstva materijala s literaturnim podacima ili izvještaja eksperimentalnih rezultata. Rezultati dobiveni analitičkim ispitivanjima moraju biti osigurani određenim stupnjem sigurnosti koji ukazuje granične vrijednosti do kojih se dobiveni rezultati mogu tolerirati i koristiti u daljnjim ispitivanjima. Zbog toga se u laboratorijima sve više inzistira na osiguranju kvalitete čime se oni primiču ostvarenju što kvalitetnijih mjerenja (rezultata).

Mnoge industrije upravo ovise o izvještajima koji sadrže podatke o dobivenim mjernim rezultatima. U slučaju da se u tim izvještajima zanemari mjerna nesigurnost direktno se utječe na kvalitetu proizvoda te se povećavaju izgledi da cijeli postupak proizvodnje bude neuspješan što uzrokuje ogromne operativne troškove.

Zbog svega toga nužno je poboljšanje kvalitete mjerenja upravo kroz analizu mjerne nesigurnosti koja često biva neopravdano zanemarena tijekom provođenja ispitivanja.

11. LITERATURA

1. Državni zavod za mjeriteljstvo: Vrednovanje mjernih podataka – Upute za iskazivanje mjerne nesigurnosti, Zagreb, 2009.
(http://www.dzm.hr/download/repository/mjerna_nesigurnost.pdf, pristupljeno 9.4.2017.)
2. JCGM: Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement, 2008.
(www.bipm.org/utis/common/documents/jcgm/JCGM_100_2008_E.pdf, pristupljeno 9.4.2017.)
3. <http://www.svijet-kvalitete.com/index.php/umjeravanje/1533-mjerna-nesigurnost>, pristupljeno 13.4.2017.
4. EURACHEM/CITAC Guide: Quantifying uncertainty in analytical measurement, QUAM:2000.1
(http://www.fao.org/uploads/media/Eurochem_citac_2000_quantification_of_uncertainty_QUAM2000-1_02.pdf, pristupljeno 13.4.2017.)
5. <http://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=63913>, pristupljeno 26.4.2017.
6. https://chem.libretexts.org/Core/Analytical_Chemistry/Quantifying_Nature/Significant_Digits/Propagation_of_Error, pristupljeno 26.4.2017.
7. S. Betlehem-Bebek: Validacija analitičkih metoda, Glasilo Belupa, 2007.
(<http://www.belupo.com/Default.aspx?sid=6941>, pristupljeno 26.4.2017)
8. V. Gašljević: Validacija i mjerna nesigurnost, Biochemia Medica **20** (2010) 57–63.
9. S. Tolić, G. Bach, S. Šikić, A. Krivohlavek: Validacija analitičkih metoda kao zahtjev pravilnika o posebnim uvjetima (NN 74/13), ppt prezentacija, 13. Stručni sastanak laboratorija ovlaštenih za ispitivanje voda, Vodice, 2014.
(<http://www.revelin.hr/wp-content/uploads/2014/12/09.30-Toli%C4%87-Bach-%C5%A0iki%C4%87-Krivohlavek.pdf>, pristupljeno 4.5.2017.)
10. (<http://www.svijet-kvalitete.com/index.php/umjeravanje/484-mjerna-sljedivost>, pristupljeno 7.5.2017.)
11. I. Leito, A. Kruve, R. Rebane, M. L. Oldekop, H. Evard, K. Herodes, K. Kipper, I. Helm: LC/MS method validation, *on-line* predavanja, University of Tartu, 2016.
(https://sisu.ut.ee/lcms_method_validation/34-sensitivity, pristupljeno 10.5.2017.)

12. Š. Suljagić, A. Jotanović: Mjerna nesigurnost hemijskog analitičkog rezultata – poređenje empirijskog pristupa i pristupa modeliranja, Institut za mjeriteljstvo Bosne i Hercegovine, Sarajevo, 2014.
13. P. Konieczka, J. Namiešnik: Estimating uncertainty in analytical procedures based on chromatographic techniques, **1217** (2010) 882–891
14. Standard Practice for Conducting an Interlaboratory Study to Determine the Precision of a Test Method, ASTM E691, Pennsylvania, USA 1999.
(<http://files.instrument.com.cn/bbs/upfile/2008114103922.pdf>, pristupljeno 27.6.2017.)
15. M. Burns, G. Wiseman, A. Knight, P. Bramley, L. Foster, S. Rollinson, A. Damant, S. Primrose: Measurement issues associated with quantitative molecular biology analysis of complex food matrices for the detection of food fraud, *Analyst* **141** (2016) 45–61
16. https://online.science.psu.edu/chem101_activeup/node/4463, pristupljeno 29.6.2017.
17. C. M. Phechkrajang, S. Yooyong: Fast and simple method for semiquantitative determination of calcium propionate in bread samples, *Journal of Food and Drug Analysis* **25** (2017) 254–259
18. R. Singh: HPLC method development and validation- an overview, *J Pharm Educ Res* **4** (2013) 26-33
19. M. H. Ramsey: Sampling as a source of measurement uncertainty: techniques for quantification and comparison with analytical sources, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **13** (1998) 97–104.
20. http://www.nrc-cnrc.gc.ca/eng/solutions/advisory/clas/uncertainty_basics_step_3.html, pristupljeno 29.6.2017.
21. https://www.nde-ed.org/GeneralResources/Uncertainty/Triangular_pdf.htm, pristupljeno 29.6.2017.
22. <http://financetrain.com/how-to-read-students-t-distribution-table/>, pristupljeno 29.6.2017.

