	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02		
	Procedura 7.2.2		
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru		
	Wersja:	2.2	
Strona:	1/23		
Data:	29.03.2021		


SPIS TREŚCI

1. CEL I ZAKRES
2. KWALIFIKACJE I ODPOWIEDZIALNOŚĆ
3. PRZEBIEG DZIAŁAŃ
4. DOKUMENTY ZWIĄZANE
5. INFORMACJE DODATKOWE
6. WYKAZ FORMULARZY
7. WYKAZ ZAŁĄCZNIKÓW

EGZEMPLARZ NADZOROWANY

Egzemplarz zatwierdzony zgodnie z procedurą 8.3 Nadzór nad dokumentami i zapisami dostępny w wersji papierowej.

	Imię i Nazwisko	Data	Podpis
Opracował:	Magdalena Szmukała	29.03.2021	
Sprawdził:	Katarzyna Prill	29.03.2021	
Zatwierdził	Magdalena Szmukała	29.03.2021	

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	2/23	
Data:	29.03.2021	

1. CEL I ZAKRES

Zapewnienie, że wszystkie metody stosowane w Laboratorium są właściwe do zamierzonego zastosowania oraz że wyniki uzyskane tymi metodami posiadają oszacowaną niepewność. Procedura ustala zasady postępowania podczas procesu walidacji i weryfikacji metod w zakresie akredytacji w warunkach laboratoryjnych oraz podczas szacowania niepewności pomiaru.


2. KWALIFIKACJE I ODPOWIEDZIALNOŚĆ

2.1. Kierownik Laboratorium odpowiada za:

- określanie sposobu i zakresu walidacji i weryfikacji metod badawczych,
- wyznaczania pracowników Laboratorium do przeprowadzenia walidacji/ weryfikacji metod badawczych,
- opracowanie uzyskanych wyników z walidacji / weryfikacji metod badawczych,
- szacowanie niepewności metody / pomiaru,
- sporządzanie pisemnych raportów z walidacji/ weryfikacji metod badawczych,
- sporządzanie pisemnych raportów z szacowania niepewności pomiaru,
- nadzorowanie prac związanych z walidacją/ weryfikacji metod badawczych oraz szacowaniem niepewności pomiaru,
- zatwierdzenie metod badawczych do stosowania w Laboratorium.

2.2. Personel Laboratorium odpowiada za:

- przeprowadzenie badań w ramach walidacji/ weryfikacji metod badawczych,
- opracowanie uzyskanych wyników z walidacji/ weryfikacji metod badawczych,

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	3/23	
Data:	29.03.2021	

- szacowanie niepewności metody / pomiaru,
- sporządzanie pisemnych raportów z walidacji/ weryfikacji metod badawczych,
- sporządzanie pisemnych raportów z szacowania niepewności pomiaru.

3. PRZEBIEG DZIAŁAŃ

3.1. Walidacja/weryfikacja metod


3.1.1. Laboratorium przeprowadza walidację metod:

- nieznormalizowanych i opracowanych w Laboratorium,
- znormalizowanych, wykorzystywanych poza przewidzianym dla nich zakresem,
- znormalizowanych, które zostały rozszerzone lub zmodyfikowane, jeżeli jest to niezbędne z punktu widzenia określonego zastosowania, aby potwierdzić, że metody te są właściwe do zamierzonego zastosowania.

3.1.2. Laboratorium przeprowadza weryfikację metod znormalizowanych w warunkach laboratoryjnych, aby potwierdzić, że jest w stanie poprawnie je stosować.

3.1.3. Etapy postępowania walidacyjnego/ weryfikacyjnego:

- określenie metody badawczej i dokumentu opisującego metodę,
- określenie rodzaju badanego produktu,
- określenie zakresów roboczych metody badań,
- określenie cech charakterystycznych metody,
- wyznaczenie osób do przeprowadzenia badań,
- wyznaczenie kryteriów oceny,
- wykonanie badań walidacyjnych/ weryfikacyjnych, zgodnie z wyznaczonym zakresem,

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	4/23	
Data:	29.03.2021	

- opracowanie wyników walidacyjnych/ weryfikacyjnych poprzez porównanie wymaganych wartości cech charakterystycznych metody badawczej ze stwierdzonymi wartościami tych cech,
- stwierdzenie walidacyjne/ weryfikacyjne o przydatności metody i jej zatwierdzenie na raporcie z walidacji/weryfikacji metody badawczej.

3.2. Szacowanie niepewności pomiaru


3.2.1. Niepewność pomiaru szacowana jest podczas walidacji / weryfikacji metody badawczej przed wprowadzeniem jej do stosowania w Laboratorium.

3.2.2. Niepewność pomiaru można wyznaczać na podstawie:

- oceny źródeł niepewności związanych ze zjawiskami występującymi w czasie pomiaru,
- parametrów charakteryzujących dokładność metody, uzyskanych np. w czasie walidacji metody (powtarzalność i odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna) lub wziętych ze stosowanej metody badawczej (np. dane dotyczące precyzji metody zawarte w normie).

3.2.3. Etapy wyznaczania niepewności pomiaru:

- zdefiniowanie wielkości mierzonej (wyjściowej) i określenie wielkości wpływających (wejściowych), od których zależy wynik lub / i niepewność pomiaru,
- zdefiniowanie zależności łączących wielkości wejściowe z wielkością wyjściową (modelu pomiaru),
- określenie danych o wartościach i niepewności wielkości wejściowych,
- przeliczenie dostępnych danych o niepewności wielkości wejściowych na odchylenia standardowe (stosowane są metody statystyczne),

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	5/23	
Data:	29.03.2021	

- przeliczanie standardowych niepewności wielkości wejściowych na składowe niepewności standardowe wielkości wyjściowej (z wykorzystaniem współczynników wynikających z modelu pomiaru),
- połączenie składowych niepewności standardowych w celu uzyskania standardowej niepewności złożonej,
- przeliczanie standardowej niepewności złożonej na niepewność rozszerzoną.

3.2.4. Przy wyznaczaniu niepewności pomiarów uwzględniane są wytyczne zawarte w dokumencie EA-04/16 - *Wytyczne EA dotyczące wyrażania niepewności w badaniach ilościowych*.


3.2.5. W przypadkach, kiedy charakter metody badawczej uniemożliwia ścisłe, metrologiczne i statystycznie uzasadnione obliczenie niepewności pomiaru, należy zidentyfikować wszystkie źródła niepewności i dokonać racjonalnego ich oszacowania (tam, gdzie jest to możliwe) oraz wykazać ich nadzorowanie.

3.2.6. Podawanie niepewności pomiaru na sprawozdaniu z badań

Niepewność pomiaru podawana jest łącznie z wynikiem na sprawozdaniu z badań wówczas, gdy:

- gdy takie wymaganie jest w wytycznych klienta,
- gdy niepewność ma znaczenie dla zgodności z wyspecyfikowanymi wartościami granicznymi,
- ma to znaczenie dla miarodajności wyników badania lub ich zastosowania.

W przypadku, gdy przepisy prawne wyczerpująco określają sposób oszacowania niepewności pomiaru należy je stosować bezpośrednio.

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	6/23	
Data:	29.03.2021	

3.3. Wzory stosowane w procesie walidacji/ weryfikacji metod badawczych

- **Granica wykrywalności, G_w** , czyli najmniejsza ilość lub najmniejsze stężenie substancji badanej, jaką można wykryć jakościowo w danej próbce, daną metodą badawczą.

W zależności od natury, specyfiki oraz możliwości badanej metody analitycznej istnieje kilka sposobów wyznaczania (szacowania) wartości granicy wykrywalności [7]:

Obliczanie G_w na podstawie wyników oznaczeń próbek ślepych.

Określana jest przez powtarzanie ślepej próbki (10 powtórzeń).

$$G_w = \bar{x} + 3 \cdot S \quad (1)$$

gdzie: \bar{x} - średnia arytmetyczna z n wyników, obliczana wg wzoru:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad (2)$$


S – odchylenie standardowe, wyznaczone ze wzoru:

$$S = \sqrt{s^2} \quad (3)$$

s^2 – wariancja, wyznaczana ze wzoru:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (4)$$

Na podstawie wyznaczonej wartości granicy wykrywalności, wynik pomiaru (y) o wartości mniejszej niż (G_w) uważany jest za próbę ślepą i interpretowany jako nie stwierdzenie analizowanego składnika w próbce [8].

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	7/23	
Data:	29.03.2021	

Obliczanie G_w na podstawie wyników oznaczeń próbek zawierających jak najniższe stężenie analitu.

Określana jest przez powtarzanie próbki zawierającej jak najniższe stężenie analitu (10 powtórzeń).

$$G_w = 3 \cdot S \quad (5)$$

Obliczanie G_w na podstawie stosunku sygnału do szumu (S/N) dla badanej metody analitycznej.

W celu obliczenia G_w jest wyznaczenie wartości stosunku sygnału do szumu dla próbki ślepej (jeśli to możliwe) lub dla próbki o bardzo niskiej zawartości analitu, a następnie zastosowaniu wprost zasady, że G_w to trzykrotny poziom szumów dla stosowanej metody analitycznej.

Obliczanie G_w z wykorzystaniem krzywej kalibracyjnej.


Metodę można stosować w przypadku wykorzystywania w procesie analitycznym krzywej kalibracyjnej lub możliwości jej wykonania. W tym przypadku do obliczeń G_w wykorzystuje się zależność:

$$G_w = \frac{3,3 \cdot S_i}{b} \quad (6)$$

gdzie: b – współczynnik kierunkowy prostej.

Z kolei wartość S_i można wyznaczyć na trzy sposoby:

- 1) jako odchylenie standardowe wyników uzyskanych dla serii próbek ślepych, wtedy S_i przyjmuje postać równania (3),
- 2) jako reszkowe odchylenie standardowe krzywej kalibracyjnej S_{xy} opisywane zależnością:

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	8/23	
Data:	29.03.2021	

$$S_{xy} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n - 2}} \quad (7)$$

gdzie: y_i – wartość wyznaczona doświadczalnie, Y_i – wartość obliczona na podstawie znalezionej zależności regresyjnej.

- 3) jako odchylenie standardowe wyrazu wolnego uzyskanej krzywej kalibracji S_a opisywane zależnością:

$$S_a = S_{xy} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i\right)^2}} \quad (8)$$


- **Granica oznaczalności, G_o** , jest to najmniejsza ilość lub najmniejsze stężenie obiektu (substancji) badanej (mierzonej, oznaczanej, analizowanej itp.) jaką można pewnie oznaczyć ilościowo w badanej próbce daną metodą badawczą [9].

Wartość granicy oznaczalności (G_o) jest zawsze wielokrotnością wyznaczonej wartości granicy wykrywalności (G_w), najczęściej jednak przyjmuje się zależność:

$$G_o = 3 \cdot G_w \quad (9)$$

Znane są jednak definicje granicy oznaczalności, w których jej wartość jest równa $2G_w$ czy też $6G_w$ [10].

Jeżeli $y \geq G_o$, wówczas uznaje się, że z dużą pewnością oznaczono analizowany składnik w próbce.

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	9/23	
Data:	29.03.2021	

Test Grubbsa jest testem służącym do wykrywania błędów grubych powodujących duże odchylenia. Test ten przeprowadza się poprzez wyznaczenie wartości v_1 i v_2 wg poniższych wzorów [11]:

(10) (11)

$$v_1 = \frac{\bar{x} - x_{\min}}{S \cdot \sqrt{\frac{n-1}{n}}} \qquad v_2 = \frac{x_{\max} - \bar{x}}{S \cdot \sqrt{\frac{n-1}{n}}}$$

\bar{x} - średnia arytmetyczna z n wyników, obliczana wg wzoru (2);

S - odchylenie standardowe, wyznaczone ze wzoru (3);

n – ilość niezależnych wyników;

x_{\min} – wartość najmniejsza z n niezależnych wyników;

x_{\max} – wartość największa z n niezależnych wyników;

Uzyskane wartości v_1 i v_2 należy porównać z wartością krytyczną $v_{kr}=v_{n;0,05}$, odczytaną z tabeli zawartej w załączniku nr 4.

- **Granica powtarzalności r** , wyznaczana jest na podstawie odchylenia standardowego serii 10 oznaczeń przeprowadzonych z wykorzystaniem materiałów odniesienia (CRM, RM) lub innych materiałów.


W obrębie serii pomiarowej wyznaczana jest ona zgodnie ze wzorem:

$$r = 2,8 \cdot S_r \quad (12)$$

gdzie s_r jest odchyleniem standardowym powtarzalności wyznaczonym ze wzoru (3).

Natomiast w obrębie metody analitycznej wyznaczana jest zgodnie ze wzorem:

$$r = 2,8 \cdot S_g \quad (13)$$

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	10/23	
Data:	29.03.2021	

w którym S_g jest odchyleniem standardowym metody analitycznej wyznaczanym na podstawie wyników uzyskanych dla serii pomiarów z zależności [7]:

$$(14) \quad S_g = \sqrt{\frac{1}{n-k} \sum_{i=1}^k s_i^2 (n_i - 1)}$$

gdzie: n – ogólna liczba analiz powtórzonych (we wszystkich seriach), k – liczba serii równoległych oznaczeń, n_i – liczba oznaczeń w danej serii, s_i^2 – wariancja danej serii.


- **Współczynnik zmienności CV%** (współczynnik wariancji), to względna miara przeciętnego zróżnicowania, wyznaczana wg wzoru:

$$CV\% = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (15)$$

gdzie S – odchylenie standardowe wyznaczone wg wzoru (3)

\bar{x} - średnia arytmetyczna z n wyników, obliczana wg wzoru (2);

- **Precyzja między seriami pomiarów.** Wyznaczana jest przez różnych analityków na podstawie odchyłeń standardowych z każdej serii 10 oznaczeń przeprowadzonych z wykorzystaniem materiałów odniesienia (CRM, RM) lub innych materiałów i może dodatkowo uwzględniać zmianę jednego lub więcej spośród następujących czynników: czas wykonania analizy, wyposażenie lub partia odczynników. Precyzja między seriami pomiarów mierzy zdolność metody pomiarowej do powtarzania wyników badań w określonych warunkach.

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	11/23	
Data:	29.03.2021	

Odchylenie standardowe opisujące zmienność wyników między seriami, wyznacza się ze

$$s_L = \sqrt{\frac{\sum n_j (\bar{x}_j - \bar{x})^2}{(m-1)n_j} - \frac{\sum \sum (x_{ji} - \bar{x}_j)^2}{(N-m)n_j}}$$

wzoru [8] :

(16)

m – liczba serii analiz powtarzanych;

n_j – liczba analiz powtarzanych w serii;

N – liczba wyników z n -serii;

x_j – Średnia dla danej serii analiz powtarzanych;

\bar{x} – średnia ze wszystkich pomiarów.

Precyzję między seriami wyników jak również odtwarzalność oblicza się wg wzoru:


$$R = 2,8 \cdot \sqrt{s_g^2 + s_L^2}$$

(17)

- **Poprawność i obciążenie.** Poprawność jest to stopień zgodności między wartością średnią otrzymaną z długich serii wyników badania a przyjętą wartością odniesienia [12]. Obciążenie jest to różnica między wartością oczekiwaną wyników badania a przyjętą wartością odniesienia. Wartość obciążenia może być sumą błędów systematycznych spowodowanych różnymi przyczynami (systematycznymi). Im większa jest wartość obciążenia, tym mniejsza poprawność wyników badania [12].

W celu sprawdzenia poprawności i oceny obciążenia metody stosuje się różne sposoby postępowania, do których przede wszystkim należą:

- 1) ocena wyników analiz certyfikowanych materiałów odniesienia lub materiałów odniesienia

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	12/23	
Data:	29.03.2021	

2) metoda dodatków wzorca do próbki, w tym:

- próbek, które były już poddane analizie,
- próbek czystej matrycy niezawierającej badanej substancji.

3) metoda porównania wyników badania uzyskanych daną metodą z wynikami metody odniesienia [8].

W praktyce poprawność metody wiąże się ze współczynnikiem odzysku RR lub

$$RR = \frac{x_i - x_z}{x_o} \qquad RR\% = \frac{x_i - x_z}{x_o} \cdot 100\%$$

odzyskiem RR% [8]:

(18) (19)

gdzie: x_i – stężenie analitu oznaczane w materiale odniesienia

x_o – stężenie nominalne analitu w materiale odniesienia

x_z – ewentualne zakłócenia pochodzące z tła (matrycy wolnej od analitu)

W przypadku dodatku wzorca do próbki wzór na odzysk przyjmuje postać [13]:

$$RR\% = \frac{C_{x+y} - C_x}{C_y} \cdot 100\% \qquad (20)$$


gdzie: C_x – zawartość analitu w próbce badanej,

C_{x+y} – zawartość analitu w próbce badanej, do której dodano znaną ilość wzorca,

C_y – ilość wzorca dodanego do badanej próbki.

Obciążenie metody (błędy systematyczne) można obliczyć z równania:

$$B_w = 1 - RR$$

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	13/23	
Data:	29.03.2021	

lub (21)

$$B_w = \frac{|x_i - x_0|}{x_0} \quad (22)$$

Odzysk może być badany na jednym lub kilku poziomach stężeń. Obliczony odzysk powinien być porównany z odzyskiem teoretycznym podawanym w tablicach dla odpowiedniego poziomu stężenia. W załączniku Z-2/IS-01 przedstawione zostały graniczne wartości odzysku i precyzji (obliczone wg wzoru Horwitza) akceptowalne przez Association of Official Analytical Chemists. Jeżeli uzyskany odzysk i odpowiadający mu współczynnik zmienności mieszczą się w podanych granicach zakłada się, że odzysk jest równy jedności (100%). W przeciwnym wypadku należy wykonać test t-Studenta ($\alpha=0,05$) sprawdzając hipotezę H_0 , czy odzysk różni się od jedności (100%), czyli $H_0: RR=1$ i $H_1: RR \neq 1$. Stosując właściwy model testu t-Studenta wartość statystyki t oblicza się wg równania:


$$t = \frac{|1 - RR|}{RR \cdot u_{cwz\text{g}RR}} \quad (23)$$

gdzie: $u_{cwz\text{g}RR}$ – względna złożona niepewność współczynnika odzysku [10].

Źródła obciążenia powinny być w miarę możliwości eliminowane.

Zgodnie z Przewodnikiem GUM [1999], jeżeli obciążenie (bias) jest znaczne, wynik pomiaru należy korygować. Jeśli nawet obciążenie jest bliskie zeru, musi być oszacowane i traktowane jako składnik niepewności.

- **Czułość.** Czułość metody analitycznej to najmniejsza różnica zawartości analitu, jaka może być stwierdzona za pomocą tej metody [7].

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	14/23	
Data:	29.03.2021	

W analizie klasycznej czułość metody związana jest z czułością reakcji chemicznej lub czułością wagi analitycznej.

W analizie instrumentalnej czułość może być przedstawiona jako nachylenie krzywej kalibrowania lub obliczona z wartości sygnałów [2].

- **Liniość wyników** – jest to przedział zakresu pomiarowego procedury analitycznej, w którym sygnał wyjściowy jest proporcjonalny do oznaczanego stężenia analitu. Zakres liniowy wyznacza się na podstawie wykresu kalibracyjnego urządzenia pomiarowego. W tym celu przeprowadza się pomiar dla próbek roztworów wzorcowych na co najmniej 5 poziomach stężeń (minimum 6 równoległych pomiarów dla każdego z poziomów). Zakres liniowy powinien pokrywać zakres pomiarowy metody badawczej. Wyznacza się następujące parametry regresyjne:
 - współczynnik kierunkowy prostej (b),
 - wyraz wolny (a),
 - współczynnik regresji (r),
 - odchylenia standardowe (S_b, S_a)
 - reszkowe odchylenie standardowe współczynnika regresji (S_{xy})


Parametry regresyjne obliczamy według poniższych równań:

- współczynnik kierunkowy prostej (b)

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n x_i \sum_{i=1}^n y_i - n \sum_{i=1}^n x_i y_i}{\left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2 - n \sum_{i=1}^n x_i^2} \quad (24)$$

- wyraz wolny (a)

$$a = \frac{\sum_{i=1}^n y_i - b \sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	15/23	
Data:	29.03.2021	

(25)

- współczynnik regresji (r) :

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (26)$$

- odchylenie standardowe: współczynnika kierunkowego prostej (S_b) oraz wyrazu wolnego (S_a)


$$S_b = \frac{S_{xy}}{\sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}} \quad (27)$$

$$S_a = S_{xy} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n x_i^2}{n \sum_{i=1}^n x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^n x_i \right)^2}} \quad (28)$$

- reszkowe odchylenie standardowe współczynnika regresji (S_{xy})

$$S_{xy} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{n - 2}} \quad (29)$$

Jeżeli $r \geq 0,999$ - istnieje zależność liniowa między wynikami, gdy $r < 0,999$ należy wykonać statystyczny test istotności obliczając wartość statystyki rozkładu t-Studenta wg równania:

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	16/23	
Data:	29.03.2021	

$$t_r = \frac{r}{\sqrt{1-r^2}} \cdot \sqrt{n-2} \quad (30)$$


W przypadku gdy obliczona wartość t_r jest większa od wartości krytycznej t_{kryt} (odczytanej z tablic dla przyjętego poziomu istotności) – przybliżenie zależności liniowej jest prawidłowe (współczynnik korelacji nieistotnie różni się od 1 co potwierdza liniowość krzywej kalibracyjnej).

Jeżeli wartość współczynnika korelacji jest mniejsza niż 0,999 to można również przeprowadzić szacowanie niepewności tego współczynnika w celu ustalenia przedziału ufności w którym może znaleźć się „prawdziwa” wartość współczynnika r' [8]. Wówczas stosujemy wzór:

$$P \left[r - t \cdot \frac{(1-r^2)}{\sqrt{n}} < r' < r + t \cdot \frac{(1-r^2)}{\sqrt{n}} \right] = 1 - \alpha \quad (31)$$

W przypadku, gdy zakres stężeń jest dość duży (obejmuje trzy lub więcej rzędów wielkości), wartości stężeń nanosi się na wykres w skali logarymicznej. Na tak sporządzonym wykresie zaznacza się wartości stałej odpowiedzi (obliczanej jako średnia arytmetyczna z poszczególnych wartości y/x) w postaci linii równoległej do osi odciętych wraz z dopuszczalnymi odchyleniami od tej wartości ($\pm 5\%$). Wartości leżące poza liniami $y/x \pm 5\%$ znajdują się poza zakresem liniowym urządzenia pomiarowego.

3.4. Narzędzia wykorzystywane przy walidacji/ weryfikacji metody badawczej

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	17/23	
Data:	29.03.2021	

Certyfikowany materiał referencyjny (CRM) i materiał referencyjny (RM). Wykorzystywane w celu weryfikacji danej metody analitycznej, poprzez określenie jej następujących cech charakterystycznych: precyzja, poprawność, liniowość oraz niepewność.


Próba ślepa (odczynnikowa) – zawiera wszystkie odczynniki użyte podczas procesu analitycznego, jest analizowana osobno w celu określenia jej oddziaływania na wynik pomiaru i dokonania na tej podstawie korekty uzyskanego wyniku. Wykorzystywana jest do określenia granicy oznaczalności i wykrywalności [10].

Próbka wzbogacona (z dodatkiem wzorca) – próbka rzeczywista, do której dodano badany analit. Przy weryfikacji metody wykorzystywana jest do oszacowania poprawności i obciążenia metody [10].

Próbka domieszkowa – próbka zawierająca matrycę, do której dodano domieszkę. Domieszka nie musi koniecznie stanowić badanego analitu, może być to również inna substancja, której efekty oddziaływania na wynik oznaczenia mają zostać wyznaczone. Jeżeli domieszkę stanowi substancja zakłócająca analizę, próbka domieszkowa może być stosowana do określania selektywności i specyficzności metody [10].

Próbka rzeczywista – próbka pochodząca z rzeczywistej próbki analitycznej, może być wykorzystana do badania odzysku a także do sprawdzenia selektywności i specyficzności metody, gdyż pozwala określić interferencje rzeczywiście spotykane w codziennej pracy.

Badania międzylaboratoryjne - wyniki badań w których Laboratorium bierze udział, wykorzystywane są do walidacji/ weryfikacji metody, poprzez porównanie ich wartości z wartością odniesienia i wyciągnięcie na tej podstawie wniosków dotyczących:

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	18/23	
Data:	29.03.2021	

- poprawności stosowanej metody badawczej,
- precyzji oznaczeń wykonywanych daną metodą badawczą,
- sprawności przyrządów stosowanych podczas badań,
- identyfikacji różnic między poszczególnymi laboratoriami;

3.5. Obliczenia niepewności z zastosowaniem prawa propagacji niepewności

W przypadku metod obliczeniowych, do obliczenia złożonej standardowej niepewności wyniku analizy stosuje się prawo przenoszenia (propagacji) niepewności:

$$u_{c(y)}^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 u_{(x_i)}^2 \quad (1)$$

dla modelu matematycznego:


$$y = f(x_1, x_2, x_3 \dots x_n) \quad (2)$$

- w przypadku gdy wartość wyniku analizy jest sumą lub różnicą wartości pomiarowych:

$$y = x_1 + x_2 + \dots x_n \quad (3)$$

- wartość złożonej niepewności opisujemy równaniem:

$$u_{c(y)} = \sqrt{u_{(x_1)}^2 + u_{(x_2)}^2 + \dots + u_{(x_n)}^2} \quad (4)$$

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	19/23	
Data:	29.03.2021	

gdzie: $u_{c(y)}$ – złożona standardowa niepewność

u_{x_i} – niepewność danej wartości pomiarowej

x_i – wartość pomiarowa

f - liczba stopni swobody

W przypadku kiedy poszczególne wartości pomiarowe charakteryzują się różnymi jednostkami, należy posługiwać się wartościami niepewności względnych:

$$u_{r(x_i)} = \frac{u_{(x_i)}}{x_i} \quad (5)$$

- w przypadku gdy wartość wyniku analizy jest ilorazem lub iloczynem wartości pomiarowych:

$$y = \frac{x_1 \cdot x_2 \dots}{x_3 \dots} \quad (6)$$

- wartość złożonej niepewności opisujemy równaniem:

$$u_{r(y)} = \sqrt{u_{r(x_1)}^2 + u_{r(x_2)}^2 + \dots + u_{r(x_n)}^2} \quad (7)$$


gdzie: $u_{r(y)}$ – złożona niepewność względna

$u_{r(x_i)}$ – niepewność względna danej wartości pomiarowej

Obliczona wg powyższych równań niepewność jest złożoną niepewnością wyniku [15]. Niepewność rozszerzoną (U) oblicza się zgodnie z równaniem.

$$U = k u_c \quad (8)$$

3.6. Protokół szacowania niepewności sporządza się na formularzu nr 27 i dołącza do dokumentacji z walidacji/sprawdzenia metody badawczej.

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	20/23	
Data:	29.03.2021	

3.7. Niepewność wyznaczona w Laboratorium, dla wyniku pomiaru uzyskanego określoną metodą analityczną, może być stosowana do wyników kolejnych podobnych pomiarów tak długo jak stosowana jest ta sama metoda i to samo wyposażenie podlegające kontroli metrologicznej.

3.8. W przypadku zmiany metody lub wyposażenia konieczne jest ponowne sprawdzenie metody i ponowne wyznaczenie niepewności pomiaru.

4. DOKUMENTY ZWIĄZANE

4.1. EA-04/16 Wytyczne EA dotyczące wyrażania niepewności w badaniach ilościowych,


4.2. [1] „Międzynarodowy Słownik Podstawowych i Ogólnych Terminów Metrologii” Główny Urząd Miar 1996,

4.3. [2] Bulska E. „Metrologia chemiczna”, Wydawnictwo Malamut, Warszawa 2008,


4.4. [3] PN-ISO 5725-1/2002 „Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych”,

4.5. [4] PN-ISO 3534-1/2002 „Statystyka. Terminologia i symbole. Część 1: Ogólne terminy z zakresu rachunku prawdopodobieństwa i statystyki i wyników pomiarów. Część 1: Ogólne zasady i definicje”,

4.6. [5] „Wyrażanie niepewności pomiaru. Przewodnik” Główny Urząd Miar, 1999,

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	21/23	
Data:	29.03.2021	

- 4.7.** [6] Morkowski J. S. „Walidacja metod badawczych i urządzeń badawczo-pomiarowych” Materiały szkoleniowe Polskiego Centrum Badań i Certyfikacji S.A. DA/PC/E03-2/2003,
- 4.8.** [7] Praca zbiorowa pod redakcją P. Konieczki, J. Namieśnika, „Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych”, WNT, Warszawa 2007,
- 4.9.** [8] Dobecki M. „Zapewnienie jakości analiz chemicznych” IMP, Łódź 2003,
- 4.10.** [9] Morkowski J.S. „Cechy charakterystyczne metody lub urządzenia badawczo-pomiarowego”. Materiały szkoleniowe Polskiego Centrum Badań i Certyfikacji S.A. DA/PC/E03-2/2003,
- 4.11.** [10] „The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics”, EURACHEM Guide, 1998,
- 4.12.** [11] Zieliński R. „Tablice statystyczne”, Warszawa 1972, PWN; str. 61-62; Tablica 41d. „Eliminacja błędów grubych. Wartości krytyczne $b_4^+(\alpha, n)$ ” str. 213,
- 4.13.** [12] Dobecki M. „Walidacja metod badawczych. Wyznaczanie niepewności pomiaru w analityce klasycznej i instrumentalnej” Materiały szkoleniowe CE2 Centrum Edukacji,
- 4.14.** [13] Schmidt R., Michna D. „Walidacja metod analitycznych, chemicznych i mikrobiologicznych” Politechnika Koszalińska,
- 4.15.** [14] Prechowska M. „Walidacja metod analitycznych – część IX – Selektowność / specyficzność metody”,

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	22/23	
Data:	29.03.2021	

4.16. [15] P. Konieczka i in.: „Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych”, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007,

5. INFORMACJE DODATKOWE

Nie dotyczy.

6. WYKAZ FORMULARZY

6.1. Raport z walidacji/ weryfikacji metody badawczej - form. 29.

6.2. Dane dotyczące walidowanej/weryfikowanej metody badawczej - form. 3.


6.3. Określanie zakresu pomiarowego walidowanej/weryfikowanej metody badawczej – form. 19.

6.4. Określenie granicy wykrywalności i granicy oznaczalności - form. 18.

6.5. Wyznaczanie granicy powtarzalności i precyzja pośrednia między seriami pomiarów - form. 45.

6.6. Sprawdzanie liniowości wyników i określanie czułości metody - form. 38.

6.7. Zestawienie i interpretacja wyników precyzji powtarzalności oraz precyzji pośredniej metody badawczej - form. 47.

	Centrum Badania Paliw, Cieczy Roboczych i Ochrony Środowiska System Zarządzania PN-EN ISO/IEC 17025:2018-02	
	Procedura 7.2.2	
	Walidacja, weryfikacja metod i szacowanie niepewności pomiaru	
	Wersja:	2.2
Strona:	23/23	
Data:	29.03.2021	

6.8. Protokół szacowania niepewności pomiaru – form. 27

6.9. Sprawdzanie poprawności i obciążenia metody badawczej – form. 52

7. WYKAZ ZAŁĄCZNIKÓW

7.1. Wartości krytyczne dla testu Grubbsa – zał. 4