

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ ΣΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Μ. Κωστάκης, Ν. Θωμαΐδης, Μ. Κουμπάρης
Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας, Τμ. Χημείας, ΕΚΠΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα αποτέλεσμα μιας μέτρησης αποτελεί μια κρίσιμη παράμετρο, καθώς αποτελεί πηγή πληροφοριών για διάφορους σκοπούς και τη λήψη σημαντικών αποφάσεων. Έτσι, ένα αποτέλεσμα μπορεί να κρίνει αν ένα προϊόν ή μια υπηρεσία συμμορφώνεται με τη νομοθεσία, τις απαιτήσεις ενός πελάτη ή ενός κράτους και πιο σημαντικά αν είναι ακατάλληλο ή κατάλληλο για χρήση ή κατανάλωση. Ωστόσο ένα αποτέλεσμα από μόνο του δεν μπορεί να αξιολογηθεί χωρίς να υπάρχει μια εκτίμηση του εύρους τιμών που μπορεί να κυμαίνεται το αποτέλεσμα.

Η μέτρηση μιας παραμέτρου που γίνεται μέσα από μια σειρά από διεργασίες, π.χ. δειγματοληψία, αναλυτικές αντιδράσεις, εκχύλιση, εξάτμιση κ.α. Οι διεργασίες αυτές δεν στερούνται σφαλμάτων (τυχαίων ή συστηματικών) με αποτέλεσμα να επηρεάζεται το τελικό αποτέλεσμα της εκτιμήτριας του αναλύτη. Επομένως για να μπορέσουμε να αξιολογήσουμε ή να συγκρίνουμε ένα αποτέλεσμα είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε το εύρος τιμών μέσα στο οποίο κυμαίνεται η τελική τιμή του αποτελέσματος. Κατέστη έτσι παγκόσμια ανάγκη να υπάρχει ένα οδηγός για την εκτίμηση της αβεβαιότητας μιας μέτρησης. Το Διεθνές Γραφείο Μέτρων και Σταθμών (Bureau International des Poids et Mesures, BIPM) το 1995 εξέδωσε την οδηγία για την εκτίμηση της αβεβαιότητας των μετρήσεων «Guide to the expression of Uncertainty in Measurements», GUM. Ο οδηγός αυτός περιγράφει ένα μαθηματικό μοντέλο για την εκτίμηση της αβεβαιότητας σε μια οποιαδήποτε μέτρηση (είτε χημική, είτε φυσική) και είναι διαθέσιμος στο διαδίκτυο στον ιστότοπο του BIPM (www.bipm.org).

Παρόλο που ο GUM είναι για γενική οδηγία για την εκτίμηση της αβεβαιότητας σε μια οποιαδήποτε μέτρηση, αποτελεί ένα αρκετά δύσχρηστο κείμενο ώστε να εφαρμοστεί σε ένα αναλυτικό χημικό εργαστήριο. Πολλές φορές απαιτεί να είναι γνωστές μετρολογικές πληροφορίες σχετικές με τη μέτρηση ή τα μετρητικά συστήματα που δεν είναι πάντα διαθέσιμες και φθηνές στη συλλογή τους. Ως αποτέλεσμα αυτού, καθώς επίσης και με την πρώτη έκδοση του προτύπου ISO 17025:1999, το οποίο απαιτεί από τα εργαστήρια να έχουν διαδικασίες για την εκτίμηση της αβεβαιότητας των μετρήσεών τους, η EURACHEM εξέδωσε οδηγία για την ποσοτικοποίηση την αβεβαιότητας των αναλυτικών μετρήσεων (Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements, 2nd ed., 2000, www.eurachem.org).

Μέσα στην επόμενη δεκαετία προτάθηκαν μια σειρά από οδηγίες και προτάσεις με εναλλακτικούς τρόπους για την εκτίμηση της αβεβαιότητας. Βασίζονται κυρίως στο γεγονός ότι οι πληροφορίες που απαιτούνται για τον κλασικό τρόπο εκτίμησης της αβεβαιότητας δεν είναι πάντοτε διαθέσιμες, όπως επίσης και στο ότι δεδομένα που διαθέτει ήδη το εργαστήριο μπορούν να αξιοποιηθούν για να δώσουν μια πιο απλή και ρεαλιστική εκτίμηση της αβεβαιότητας, δεδομένα από τον εσωτερικό και εξωτερικό έλεγχο ποιότητας (QC charts, Proficiency tests). Αποτέλεσμα αυτού ήταν να εκδοθούν παράλληλα οδηγίες από διάφορους φορείς (NORDTEST, EUROLAB, SANCO κ.α.) που να εκτιμούν την αβεβαιότητα με διαφορετικές προσεγγίσεις.

1.1. ΟΡΙΣΜΟΙ-ΟΡΟΛΟΓΙΑ

Με βάση την οδηγία του BIPM “International vocabulary of metrology – Basics and general concepts and associated terms” (VIM) και την αντίστοιχη οδηγία της EURACHEM “Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3” σχετικά με την ορολογία στη Μετρολογία και τις αναλυτικές μετρήσεις καθιερώθηκαν οι παρακάτω ορισμοί γύρω από την αβεβαιότητα [1,2]:

Αβεβαιότητα μετρήσεων. Η μη αρνητική παράμετρος που χαρακτηρίζει την διασπορά των ποσοτικών τιμών που αποδίδονται στο μετρούμενο μέγεθος, βασισμένη στις πληροφορίες που χρησιμοποιήθηκαν.

Εναλλακτικά από την οδηγία της EURACHEM για την αβεβαιότητα δίνεται ο παρακάτω ορισμός [3,4]:

Αβεβαιότητα μετρήσεων. Η παράμετρος που συνδέεται με το αποτέλεσμα μιας μέτρησης και χαρακτηρίζει τη διασπορά των τιμών που μπορούν λογικά να αποδοθούν στο μετρούμενο μέγεθος.

Όπως αναφέρεται και στον παραπάνω οδηγό, οι διαφορές στον ορισμό δεν επηρεάζουν πρακτικά τη σημασία της αβεβαιότητας για τις αναλυτικές μετρήσεις [4]. Ουσιαστικά η αβεβαιότητα μιας μέτρησης αποτελεί μια ποσοτική ένδειξη της ποιότητας του αποτελέσματος [2]. Ο όρος «παράμετρος» αναφέρεται σε μεγέθη, όπως η τυπική απόκλιση ή το διάστημα εμπιστοσύνης. Στον πρώτο ορισμό η αβεβαιότητα αναφέρεται ως «μη-αρνητική παράμετρος» [1,2] γιατί γενικότερα η λέξη αβεβαιότητα συγγέεται με την έννοια της αμφιβολίας ή της περιορισμένης γνώσης για το αποτέλεσμα, ενώ η αβεβαιότητα των μετρήσεων αποτελεί συστατικό που αυξάνει την εμπιστοσύνη για την αξιοπιστία του αποτελέσματος. Τέλος δεν θα πρέπει να συγγέεται η έννοια της αβεβαιότητας με την έννοια του σφάλματος. Το σφάλμα ορίζεται ως η διαφορά μεταξύ του αποτελέσματος που λήφθηκε και της πραγματικής (αληθούς) τιμής. Αντίθετα, η αβεβαιότητα έχει τη μορφή εύρους ή διαστήματος μέσα στο οποίο κυμαίνονται τα αποτελέσματα. Επίσης το σφάλμα (η συστηματική συνιστώσα, bias) μπορεί να διορθωθεί ώστε το αποτέλεσμα να είναι πιο κοντά στην αληθή τιμή, ενώ η αβεβαιότητα παραμένει λόγω της αμφιβολίας (τυχαίου σφάλματος) που υπάρχει για το πειραματικό αποτέλεσμα [3,4].

Οι εκτιμώμενες αβεβαιότητες μπορούν να εκφραστούν με διαφορετικούς τρόπους, π.χ. ως τυπική απόκλιση, ως διάστημα εμπιστοσύνης ή ανοχή (tolerance). Για να μπορέσουμε να εκτιμήσουμε τη συνολική αβεβαιότητα θα πρέπει να εκφραστούν οι αβεβαιότητες των διαφόρων συνιστωσών σε μια κοινή μορφή [2]. Μπορούμε να διακρίνουμε δύο τύπους αβεβαιότητας ανάλογα με τον τρόπο που έγινε η εκτίμησή της αβεβαιότητας, αβεβαιότητα **τύπου Α** και αβεβαιότητα **τύπου Β**:

Αβεβαιότητα τύπου Α. Όταν η μέθοδος για την εκτίμηση της αβεβαιότητας βασίστηκε στη χρήση στατιστικής ανάλυσης μιας σειράς αποτελεσμάτων του μετρούμενου μεγέθους [5].

Αβεβαιότητα τύπου Β. Όταν η μέθοδος για την εκτίμηση της αβεβαιότητας βασίστηκε στη χρήση οποιουδήποτε άλλου τρόπου εκτός της στατιστικής ανάλυσης [5], παραδείγματος χάριν [1,5]:

- Αβεβαιότητα από πιστοποιητικά πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (CRM)
- Αβεβαιότητα από προηγούμενη γνώση

- Αβεβαιότητα από πιστοποιητικά κατασκευαστών και διακρίβωσης εξοπλισμού
- Αβεβαιότητα που έχει ληφθεί από βιβλία αναφοράς.

Οι τρόποι με τους οποίους μπορεί να εκφραστεί μια αβεβαιότητα, είτε αυτή είναι σε ένα έγγραφο (πιστοποιητικό CRM, διακρίβωσης, ανάλυσης κ.λ.π.), είτε προσδιορίζεται από ένα εργαστήριο είναι οι εξής [2]:

Τυπική αβεβαιότητα (standard uncertainty, u): ορίζεται η αβεβαιότητα μιας ποσότητας, εκφρασμένη ως τυπική απόκλιση.

Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (combined standard uncertainty, u_c): ορίζεται η αβεβαιότητα του μετρούμενου μεγέθους που προκύπτει από το μαθηματικό συνδυασμό των διαφορετικών τυπικών αβεβαιοτήτων και ισούται με την τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των τυπικών αβεβαιοτήτων κάθε συνιστώσας που συνεισφέρει στην αβεβαιότητα.

Διευρυμένη αβεβαιότητα (expanded uncertainty, U): αποτελεί τη μορφή της αβεβαιότητας που δίνεται συνήθως από ένα εργαστήριο για να συνοδεύσει ένα αποτέλεσμα που αποστέλλεται στον πελάτη του. Εκφράζει το διάστημα μέσα στο οποίο εκτιμάται ότι βρίσκεται η μετρούμενη τιμή για δεδομένη στάθμη εμπιστοσύνης. Συνήθως η τιμή προκύπτει αν πολλαπλασιάσουμε τη συνδυασμένη αβεβαιότητα με ένα **παράγοντα κάλυψης (coverage factor, k)**. Η επιλογή του παράγοντα κάλυψης βασίζεται στην επιθυμητή στάθμη εμπιστοσύνης. Στις χημικές αναλύσεις συνήθως χρησιμοποιείται στάθμη εμπιστοσύνης 95%, οπότε ο παράγοντας κάλυψης είναι $k=1,96$ (συνηθέστερα $k=2$), ενώ στις περιπτώσεις που θέλουμε στάθμη εμπιστοσύνης 99%, τότε ο παράγοντας κάλυψης είναι $k=3$.

2. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΤΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ ISO/IEC 17025 ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ

Στο εδάφιο 5.4.6 αναφέρονται οι απαιτήσεις του προτύπου για την εκτίμηση της αβεβαιότητας των μετρήσεων [6]:

1. §5.4.6.1: οποιοδήποτε εργαστήριο (διακριβώσεων ή δοκιμών) που εκτελεί τις δικές του διακριβώσεις πρέπει να εφαρμόζει διαδικασία εκτίμησης της αβεβαιότητας των μετρήσεων για όλες τις διακριβώσεις και τους τύπους διακριβώσεων.
2. §5.4.6.2: αναφέρονται οι απαιτήσεις για την αβεβαιότητας των μετρήσεων για τα εργαστήρια δοκιμών. Συγκεκριμένα επισημαίνεται ότι πρέπει να διαθέτουν και να εφαρμόζουν διαδικασίες για την εκτίμηση της αβεβαιότητας των μετρήσεων. Ωστόσο τονίζει ότι «σε ορισμένες περιπτώσεις, η φύση της μεθόδου δοκιμής μπορεί να αποκλείει τον αυστηρό, μετρολογικό και στατιστικά έγκυρο υπολογισμό της αβεβαιότητας των μετρήσεων». Για τις περιπτώσεις αυτές ορίζει ότι το εργαστήριο θα πρέπει να προσπαθήσει να κάνει μια λογική εκτίμηση της αβεβαιότητας βασιζόμενο στην εμπειρία που έχει για την επίδοση της μεθόδου καθώς και με βάση τα δεδομένα επικύρωσης.
3. §5.4.6.2-Σημείωση 1: ο βαθμός αυστηρότητας που χρειάζεται σε μια εκτίμηση της αβεβαιότητας των μετρήσεων εξαρτάται από παράγοντες, όπως οι **απαιτήσεις της μεθόδου δοκιμής** (π.χ. ποιοτική ή ημιποσοτική ή ποσοτική μέθοδος,

εμπειρική (empirical) ή μη εμπειρική μέθοδος (non empirical or rational method)), **οι απαιτήσεις του πελάτη και η ύπαρξη στενών ορίων στα οποία βασίζονται οι αποφάσεις για τη συμμόρφωση με μια προδιαγραφή.** Η τελευταία δήλωση σημαίνει ότι αν υπάρχουν όρια (ελάχιστο, μέγιστο ή περιοχή τιμών) στα οποία λαμβάνονται σημαντικές αποφάσεις, τότε η αβεβαιότητα σε αυτό το όριο θα πρέπει να είναι όσο το δυνατό πιο αυστηρά υπολογισμένη και να περιλαμβάνει όλες τις δυνατές συνιστώσες που συνεισφέρουν στην τελική αβεβαιότητα. Αυτή η εργασία όμως έχει ως συνέπεια τον ποσοτικό πλέον εντοπισμό των κύριων πηγών της αβεβαιότητας και ως εκ τούτου τη λήψη ενεργειών για την ελαχιστοποίηση αυτών των πηγών και τη βελτίωση της ποιότητας του τελικού αποτελέσματος της μέτρησης.

4. §5.4.6.3: ορίζεται ότι πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι συνιστώσες εκείνες που είναι σημαντικές για τη δεδομένη περίπτωση.

Το σημαντικό στοιχείο που υπάρχει στο ISO/IEC 17025 είναι η διαφοροποίηση στην αντιμετώπιση μεταξύ μετρήσεων εργαστηρίων δοκιμών (κυρίως χημικών και μικροβιολογικών) και εργαστηρίων διακριβώσεων (φυσικές μετρήσεις). Αυτή η διαφοροποίηση υφίσταται γιατί σε πολλές περιπτώσεις ο αυστηρά μετρολογικός υπολογισμός της αβεβαιότητας, που διατυπώνεται στον GUM [5], είναι πολύ δύσκολο έως αδύνατο να εφαρμοστεί στις περισσότερες χημικές μετρήσεις όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Το πρότυπο ISO/IEC 17025 επιτρέπει τη χρήση προσεγγίσεων για την εκτίμηση της αβεβαιότητας που δεν βασίζονται στην συστατικό-προς-συστατικό προσέγγιση του ISO GUM («bottom-up» προσέγγιση).

Παρόμοια απαίτηση για τον υπολογισμό αβεβαιότητας υπάρχει και στο πρότυπο ISO 15189 για τα κλινικά εργαστήρια (§5.6.2): Το Εργαστήριο πρέπει να προσδιορίσει την αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων, όπου είναι σχετικό και δυνατό. Πηγές που συνεισφέρουν στην αβεβαιότητα περιλαμβάνουν δειγματοληψία, προετοιμασία δείγματος, επιλογή υποδείγματος, βαθμονομητές, υλικά αναφοράς, εισαγόμενες ποσότητες (input quantities), χρησιμοποιούμενο εξοπλισμό, περιβαλλοντικές συνθήκες, κατάσταση δείγματος και εναλλαγές χειριστών.

3. ΒΑΣΙΚΕΣ ΜΕΤΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ

Για την εκτίμηση της αβεβαιότητας είναι απαραίτητο να παρατεθούν μερικά στοιχεία μετρολογίας και στατιστικής. Αρχικά θα πρέπει οι διαφορετικές μορφές της αβεβαιότητας ή τα δεδομένα που υπάρχουν για την εκτίμηση της αβεβαιότητας να μετατραπούν μαθηματικά σε μια κοινή μορφή ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκτίμηση της συνολικής αβεβαιότητας.

Υπολογισμός τυπικής αβεβαιότητας. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω με βάση την κατάταξη του GUM, η αβεβαιότητα τύπου A υπολογίζεται με τη χρήση της στατιστικής από τα δεδομένα που υπάρχουν για μια σειρά μετρήσεων. Τα μεγέθη που μπορούν να υπολογιστούν είναι η **μέση τιμή** :

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

Και η **τυπική απόκλιση των τιμών** (ή πειραματική τυπική απόκλιση κατά GUM):

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

Παράλληλα, ένα ακόμη μέγεθος που μπορεί να εκτιμηθεί από μια σειρά μετρήσεων είναι η **τυπική απόκλιση του μέσου όρου** (ή πειραματική τυπική απόκλιση μέσου όρου κατά GUM) που συνδέεται με την τυπική απόκλιση με τη σχέση :

$$s(\bar{x}) = \frac{s(x_i)}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

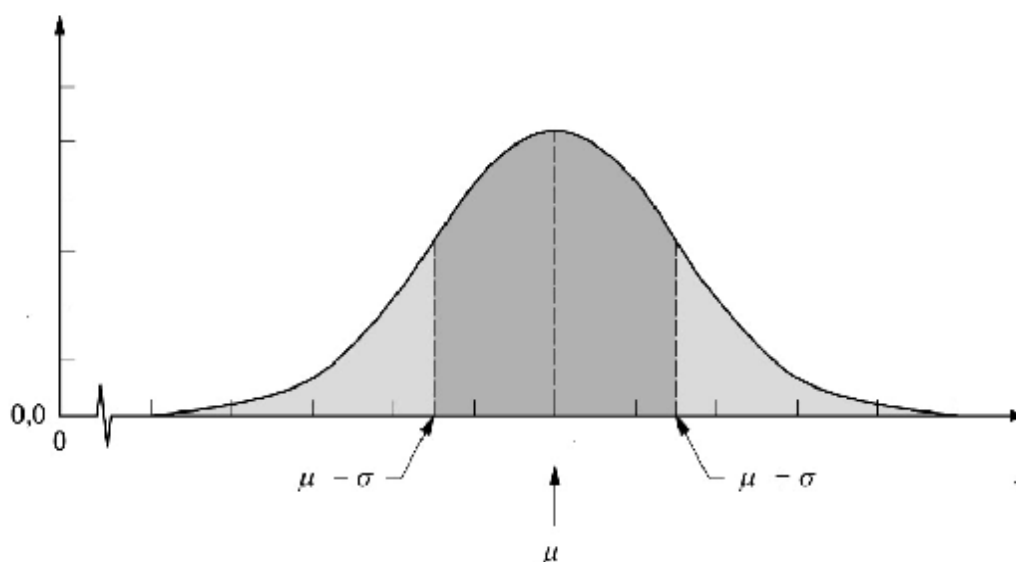
Από τους παραπάνω τύπους ο (2) χαρακτηρίζει τη διασπορά τιμών γύρω από τη μέση τιμή και είναι η τυπική απόκλιση μιας μεμονωμένης τιμής, ενώ ο (3) χαρακτηρίζει την επαναληψιμότητα του μέσου όρου και εκφράζει πόσο καλά η μέση τιμή (\bar{x}) εκτιμά την αληθή τιμή (μ) (όταν υπάρχουν μόνο τυχαία σφάλματα) [5]. Όταν έχουμε δεδομένα για να εκτιμήσουμε την αβεβαιότητα τύπου A, τότε η τυπική αβεβαιότητα ισούται με ένα από τους δύο παραπάνω τύπους (2), (3). Η πρακτική εμπειρία δείχνει ότι σε περιπτώσεις που έχουμε εκτίμηση της αβεβαιότητας για μεγέθη που αφορούν τα τυχαία σφάλματα και μεμονωμένες τιμές, τότε χρησιμοποιούμε τον τύπο (2), καθώς το ζητούμενο είναι να εκτιμήσουμε την αβεβαιότητα λόγω της διασποράς των τιμών, ενώ αντίθετα σε περιπτώσεις που θέλουμε να εκτιμήσουμε την αβεβαιότητα λόγω της ύπαρξης κάποιου συστηματικού σφάλματος (π.χ. κατά τη μελέτη της ανάκτησης), τότε χρησιμοποιούμε τον τύπο (3), καθώς το ζητούμενο είναι να προσδιορίσουμε την απόσταση της αληθούς τιμής από το μέσο όρο. Είναι σημαντικό να επισημάνθει ότι θεωρητικά ο τύπος (2) χρησιμοποιείται σε περιπτώσεις που θεωρούμε ότι έχουμε απουσία συστηματικού σφάλματος.

Αντίθετα, η αβεβαιότητα τύπου B υπολογίζεται με άλλες τεχνικές εκτός στατιστικής, όπως δεδομένα από πιστοποιητικά διακριβώσεων, δεδομένα προηγούμενων πειραματικών μετρήσεων σε σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, εμπειρία και οποιαδήποτε άλλη σχετική πληροφορία. Συνήθως αυτά τα δεδομένα έχουν τη μορφή εύρους ή ανοχής (tolerance) $\pm a$, από το οποίο θα πρέπει να υπολογισθεί η τυπική αβεβαιότητα και για το σκοπό αυτό θα πρέπει να αναγνωρισθεί το είδος της κατανομής των τιμών των μεγεθών που έχουμε. Στις χημικές μετρήσεις τρεις είναι οι τύποι συναρτήσεων κατανομής που συναντιούνται πιο συχνά, κανονική, τετραγωνική, τριγωνική.

Κανονική κατανομή. Όταν τα δεδομένα ακολουθούν κανονική κατανομή τότε θα πρέπει να αναφέρεται μια δεδομένη στάθμη εμπιστοσύνης. Η συνήθης μορφή της αβεβαιότητας είναι **$x \pm a$ για στάθμη εμπιστοσύνης $p\%$** . Για να θεωρήσουμε την κανονική κατανομή θα πρέπει να αναφέρεται η στάθμη εμπιστοσύνης. Ανάλογα με τη στάθμη εμπιστοσύνης διαιρούμε το εύρος / ανοχή ($\pm a$) και με τον αντίστοιχο συντελεστή. Οι συντελεστές στην περίπτωση της κανονικής κατανομής αποτελούν τους συντελεστές κάλυψης που χρησιμοποιήθηκαν για να υπολογιστεί το εύρος / ανοχή της τιμής και ταυτίζονται με αυτούς που αναφέρθηκαν παραπάνω. Οι συντελεστές κάλυψης για τις αντίστοιχες στάθμες εμπιστοσύνης αναφέρονται στον Πίνακα 3.1, ενώ η γραφική αναπαράσταση της κανονικής κατανομής απεικονίζεται στο Σχήμα 3.1.

Πίνακας 3.1. Ο συντελεστής κάλυψης ανάλογα με τη στάθμη εμπιστοσύνης της κανονικής κατανομής [5].

Στάθμη εμπιστοσύνης (%)	68	90	95	95,45	99	99,73
Συντελεστής κάλυψης	1	1,645	1,960	2	2,576	3



Σχήμα 3.1. Γραφική αναπαράσταση της κανονικής κατανομής [5].

Από τα παραπάνω παρατηρούνται τα εξής:

- Στις χημικές μετρήσεις η στάθμη εμπιστοσύνης που χρησιμοποιείται πιο συχνά είναι 95% και σπανιότερα 99%.
- Οι συντελεστές κάλυψης για στάθμες εμπιστοσύνης 95% και 95,45% δεν έχουνε σημαντική διαφορά, γι' αυτό συχνά χρησιμοποιείται συντελεστής κάλυψης $k=2$ για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.
- Αντίθετα για 99% και 99,73% οι συντελεστές έχουν πιο μεγάλη διαφορά.
- Με βάση τα παραπάνω προκύπτει ότι και το τελικό αποτέλεσμα, αλλά και η αβεβαιότητα τύπου A θεωρείται ότι ακολουθεί κανονική κατανομή, γεγονός που ισχύει στις περισσότερες περιπτώσεις στις χημικές μετρήσεις.

Παράδειγμα 3.1: Το πιστοποιητικό διακρίβωσης ενός πρότυπου βάρους 10 Kg αναφέρει ότι η αβεβαιότητά του είναι 300 mg για 95% στάθμη εμπιστοσύνης. Να υπολογισθεί η τυπική αβεβαιότητα του πρότυπου βάρους.

Λύση: Αφού αναφέρεται στάθμη εμπιστοσύνης θεωρούμε ότι οι μετρήσεις ακολουθούν κανονική κατανομή, επομένως με βάση τον πίνακα 3.1 η τυπική αβεβαιότητα θα είναι:

$$u(m) = \frac{300}{1,96} = 153\text{mg} \quad \text{Αντίστοιχα, αν θεωρήσουμε ως συντελεστή κάλυψης το 2}$$

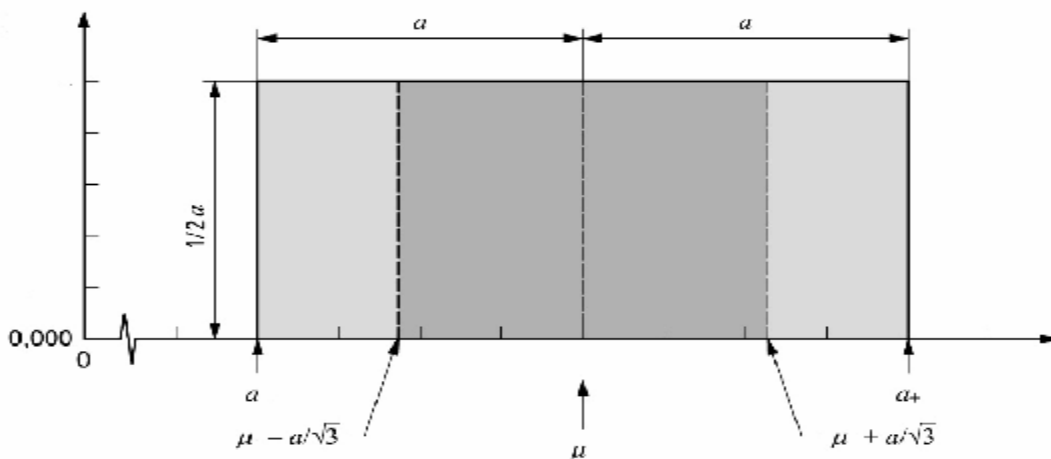
τότε θα έχουμε $u(m) = \frac{300}{2} = 150\text{mg}$. Παρατηρούμε ότι οι διαφορές είναι πολύ

μικρές στα αποτελέσματα έτσι, ώστε μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε συντελεστή κάλυψης $k=2$ για στάθμη εμπιστοσύνης 95% αν και στην πραγματικότητα είναι για 95,45%.

Παράδειγμα 3.2: Ποια θα ήταν η τυπική απόκλιση στο παραπάνω παράδειγμα αν είχαμε στάθμη εμπιστοσύνης 99% & 99,73%, αντίστοιχα;

Λύση: Αντίστοιχα με παραπάνω θα διαιρέσουμε την αβεβαιότητα του πιστοποιητικού με τον αντίστοιχο παράγοντα κάλυψης για την δεδομένη στάθμη εμπιστοσύνης, οπότε θα προκύψει $u(m) = 116.5mg$ και $u(m) = 100mg$ αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι οι διαφορές στις δύο στάθμες εμπιστοσύνης είναι αισθητά πιο μεγάλες.

Τετραγωνική κατανομή. Σε περιπτώσεις που από το πιστοποιητικό δίνεται το εύρος / ανοχή ($\pm a$) χωρίς να δίνεται η στάθμη εμπιστοσύνης, τότε θεωρούμε ότι ακολουθείται τετραγωνική κατανομή στα αποτελέσματα. Με την τετραγωνική κατανομή θεωρούμε ότι όλες οι τιμές εντός του εύρους τιμών έχουν την ίδια πιθανότητα να είναι η αληθής τιμή, όπως φαίνεται και στο Σχήμα 3.2. Η τυπική αβεβαιότητα υπολογίζεται από την εξίσωση (4).



Σχήμα 3.2 Γραφική αναπαράσταση τετραγωνικής κατανομής [5].

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}} \quad (4)$$

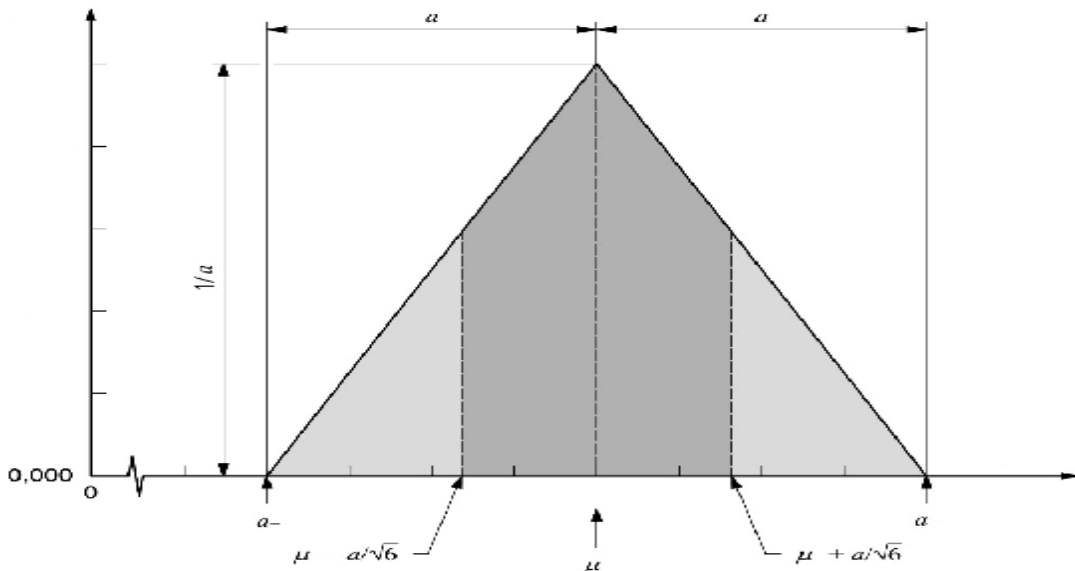
Παράδειγμα 3.3: Παρακάτω δίνονται οι όγκοι των ογκομετρικών φιαλών με την αντίστοιχη ανοχή που είναι τυπωμένα πάνω στις φιάλες: α) $50 \pm 0,060$ mL, β) $100 \pm 0,10$ mL, γ) $1000 \pm 0,19$ mL. Να υπολογιστούν οι τυπικές αβεβαιότητες.

Λύση: Όπως αναφέρθηκε παραπάνω αφού δεν έχουμε συγκεκριμένη στάθμη εμπιστοσύνης, τότε θεωρείται ότι ακολουθείται τετραγωνική κατανομή και η τυπική αβεβαιότητα υπολογίζεται με βάση την εξίσωση (4). Οπότε, οι παραπάνω τυπικές αβεβαιότητες είναι α) 0,035 mL, β) 0,058 mL, γ) 0,110 mL.

Παράδειγμα / Άσκηση 3.4: Παρακάτω δίνονται οι όγκοι των σιφωνίων με την αντίστοιχη ανοχή που είναι τυπωμένα πάνω στα σιφώνια: α) $5 \pm 0,03$ mL β) $25 \pm 0,030$ mL γ) $50 \pm 0,05$ mL. Να υπολογιστούν οι τυπικές αβεβαιότητες.

Τριγωνική κατανομή. Όταν η αναφερόμενη (κεντρική) τιμή έχει τη μεγαλύτερη πιθανότητα να είναι η αληθής τιμή, σε σχέση με τα άκρα τότε χρησιμοποιούμε την τριγωνική κατανομή. Η τριγωνική κατανομή χρησιμοποιείται πιο σπάνια από τις άλλες δύο και πρακτικά εφαρμόζεται όταν ο χρήστης ρυθμίζει και ελέγχει την τιμή του μεγέθους, π.χ. σε ένα κλίβανο ή ένα υδατόλουτρο όπου ο χρήστης ρυθμίζει και ελέγχει την τιμή. Σε αυτές τις περιπτώσεις η τριγωνική κατανομή υπολογίζεται από την εξίσωση (5), ενώ η γραφική της αναπαράσταση φαίνεται στο Σχήμα 3.3.

$$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}} \quad (5)$$



Σχήμα 3.3 Γραφική αναπαράσταση τριγωνικής κατανομής [5].

Πολλές φορές υπάρχει διχογνωμία ως προς την επιλογή της κατάλληλης κατανομής, τριγωνική ή τετραγωνική. Η διαφορά των δύο κατανομών είναι αρκετά μικρή και πολλές φορές όταν η συνεισφορά της αβεβαιότητας στη συνδυασμένη αβεβαιότητα είναι μικρή, τότε δεν έχει νόημα να χαθεί χρόνος για το πια είναι κατάλληλη και μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τετραγωνική κατανομή [7].

Παράδειγμα 3.5: Το δωμάτιο σταθερής θερμοκρασίας είναι απαραίτητο για ένα εργαστήριο κλινικών, βιοχημικών και μικροβιολογικών αναλύσεων. Ένα δωμάτιο σταθερής θερμοκρασίας έχει θερμοκρασία 20 °C με ανοχή του κλιματιστικού 2 °C. Να βρεθεί η τυπική αβεβαιότητα της θερμοκρασίας.

Λύση: Αφού έχει καθορίσει και ελέγχει ο χρήστης τη θερμοκρασία τότε θεωρούμε ότι η κατανομή είναι τριγωνική. Επομένως με βάση την εξίσωση (5) έχουμε:

$$u(T) = \frac{2}{\sqrt{6}} = 0,82^\circ C$$

Παράδειγμα 3.6: Εάν ένα σιφώνιο 50 mL έχει ανοχή από τον κατασκευαστή 0,05 mL, ποια είναι η τυπική αβεβαιότητα αν θεωρήσουμε ότι ακολουθεί: α) τετραγωνική κατανομή και β) τριγωνική κατανομή.

Λύση: Όπως έγινε και στα προηγούμενα παραδείγματα, με βάση τους τύπους (4) και (5) θα έχουμε αβεβαιότητες 0,029 mL και 0,020 mL, αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι η διαφορά μεταξύ τους είναι πολύ μικρή, οπότε όποια από τις δύο κατανομές και να χρησιμοποιήσουμε, η διαφορά δεν θα είναι αισθητή. *Παρατήρηση:* Ισχύει μόνο σε περιπτώσεις που δεν έχουν μεγάλη επίδραση στην συνδυασμένη αβεβαιότητα.

Υπολογισμός συνδυασμένης αβεβαιότητας. Μέχρι στιγμής όλα τα δεδομένα έχουν μετατραπεί σε σχετική τυπική αβεβαιότητα και επομένως σε μια κοινή μορφή. Το επόμενο στάδιο είναι να συνδυαστούν όλες οι επιμέρους συνιστώσες της αβεβαιότητας και να προκύψει η σχετική συνδυασμένη (ολική) αβεβαιότητα. Για το συνδυασμό των αβεβαιότητων υπάρχουν δυο βασικοί κανόνες με βάση τη EURACHEM [3,4]:

Κανόνας 1^{ος}: Τα μοντέλα που περιέχουν μόνο άθροισμα ή διαφορά π.χ. $y=(p+q+r+\dots)$ με ίδιες μονάδες, η συνδυασμένη αβεβαιότητα, $u_c(y)$, δίνεται από το τύπο:

$$u_c(y(p, q, \dots)) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + u(r)^2 + \dots} \quad (6)$$

Κανόνας 2^{ος}: Τα μοντέλα που περιέχουν πολλαπλασιασμό ή διαίρεση π.χ. $y=(p \times q \times r \times \dots)$ ή $y=p/(q \times r \times \dots)$, η συνδυασμένη αβεβαιότητα, $u_c(y)$, δίνεται από το τύπο:

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \left(\frac{u(r)}{r}\right)^2 + \dots} \quad (7)$$

Όπου το κλάσμα $u(p)/p$ εκφράζει την σχετική τυπική αβεβαιότητα.

Παράδειγμα 3.7: Η εξίσωση υπολογισμού μιας παραμέτρου είναι $y=(p-q+r)$ όπου $p=5,02$, $q=6,45$ και $r=9,04$ (ίδιες μονάδες) με τυπικές αβεβαιότητες $u(p)=0,13$, $u(q)=0,05$ και $u(r)=0,22$. Να υπολογιστεί η συνδυασμένη αβεβαιότητα.

Λύση: Με βάση αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω και τη σχέση (6) έχουμε

$$y = \sqrt{(0,13)^2 + (0,05)^2 + (0,22)^2} = 0,26$$

Παράδειγμα 3.8: Η εξίσωση υπολογισμού μιας παραμέτρου είναι $y=(op)/(qr)$ όπου $o=2,46$, $p=4,32$, $q=6,38$ και $r=2,99$ με τυπικές αβεβαιότητες $u(o)=0,02$, $u(p)=0,13$, $u(q)=0,11$ και $u(r)=0,77$. Να υπολογιστεί η συνδυασμένη αβεβαιότητα.

Λύση: Με βάση τα παραπάνω έχουμε:

$$y = (2,46 \times 4,32) / (6,38 \times 2,99) = 0,56$$

$$u(o)/o=0,0813, u(p)/p=0,030, u(q)/q=0,172, u(r)/r=0,258$$

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{(0,0813)^2 + (0,030)^2 + (0,172)^2 + (0,258)^2} = 0,043$$

$$\text{Άρα } u_c(y) = 0,56 \times 0,043 = 0,024$$

Υπολογισμός διευρυμένης αβεβαιότητας. Ο υπολογισμός της διευρυμένης αβεβαιότητα γίνεται με τον πολλαπλασιασμό της συνδυασμένης αβεβαιότητας με το συντελεστή κάλυψης όπως αναφέρθηκε και παραπάνω. Ο συντελεστής κάλυψης διαφέρει ανάλογα με την στάθμη εμπιστοσύνης. Οι διαφορετικοί συντελεστές κάλυψης ανφέρονται στον Πίνακα 3.1 με τα αντίστοιχα επίπεδα εμπιστοσύνης.

Ειδικές περιπτώσεις. Ο όγκος και η μάζα αποτελούν δύο μεγέθη τα οποία είναι πλήρως μελετημένα και ιχνηλάσιμα στο SI. Επομένως η εκτίμηση της αβεβαιότητας μπορεί να υπολογιστεί μετρολογικά.

Υπολογισμός αβεβαιότητας σε μετρήσεις μάζας. Η αβεβαιότητα στον προσδιορισμό της μάζας υπολογίζεται από τα δεδομένα της διακρίβωσης του ζυγού και υπάρχουν στο πιστοποιητικό διακρίβωσης. Εξαρτάται από τη μάζα που ζυγίζουμε και συνήθως θεωρούμε ότι το εύρος (ανοχή) που δηλώνεται στο πιστοποιητικό ακολουθεί τετραγωνική κατανομή. Λαμβάνεται υπόψη η μεθοδολογία ζύγισης (εκ διαφοράς, άμεση ζύγιση, κλπ).

Παράδειγμα 3.9: Το πιστοποιητικό διακρίβωσης ζυγού 4 δεκαδικών αναφέρει ότι στα 100 mg η αβεβαιότητα είναι $\pm 0,14$ mg (ως ανοχή). Σε ζυγίσεις περίπου 100 mg η αβεβαιότητα θα είναι:

$$u(m) = \frac{0,14}{\sqrt{3}} = 0,081 \approx 0,08mg$$

Αν πραγματοποιούνται ζυγίσεις εκ διαφοράς, δηλαδή δύο ζυγίσεις, η συνολική αβεβαιότητα της ζύγισης θα είναι:

$$u(m) = \sqrt{2 \times 0,08^2} = 0,11mg$$

Παράδειγμα 3.10: Συνήθως το πιστοποιητικό διακρίβωσης αντί για πίνακα αβεβαιότητας σε διάφορες περιοχές μαζών, παρέχει εξίσωση διευρυμένης αβεβαιότητας ως προς μάζα. Να υπολογιστεί η τυπική αβεβαιότητα για τα δεδομένα του παραδείγματος 3.9 αν γνωρίζουμε ότι η εξίσωση διευρυμένης αβεβαιότητας – μάζας είναι η εξής:

$$U(g) = \pm [2,01457 * 10^{-5} m(g) + 0,00016294]$$

Λύση: Από το παράδειγμα 3.9 γνωρίζουμε ότι το βάρος είναι 100 mg, αν το βάλλουμε στην παραπάνω εξίσωση έχουμε ότι η διευρυμένη αβεβαιότητα είναι $U=0,0001650g = 0,1650 \text{ mg}$, επομένως η τυπική αβεβαιότητα θα είναι το ήμισυ για 95% στάθμη εμπιστοσύνης, άρα $u(m) = 0,0825 \text{ mg}$ και επειδή συνήθως η ζύγιση γίνεται εκ διαφοράς θα έχουμε $u(m)=\sqrt{2} \cdot 0,0825^2 = 0.12 \text{ mg}$.

Υπολογισμός αβεβαιότητας σε μετρήσεις όγκου. Η αβεβαιότητα σε μετρήσεις όγκου έχει τρεις συνιστώσες:

1. Αβεβαιότητα από την ανοχή που αναφέρει ή δίνει ο κατασκευαστής στο πιστοποιητικό που συνοδεύει τον εξοπλισμό μέτρησης όγκου. Επειδή δεν δηλώνεται το επίπεδο εμπιστοσύνης, θεωρείται ότι η κατανομή είναι τετραγωνική και η αβεβαιότητα δίνεται ως $u(x)=a/\sqrt{3}$.
2. Αβεβαιότητα από τη διακύμανση κατά την πλήρωση μέχρι τη χαραγή. Υπολογίζεται με επαναληπτικά πειράματα πλήρωσης – ζύγισης (π.χ. για $n = 10$) και το αποτέλεσμα δίνεται ως τυπική απόκλιση.
3. Αβεβαιότητα που προέρχεται από την επίδραση της θερμικής διαστολής. Η αβεβαιότητα αυτή πηγάζει από τη διαφορά θερμοκρασίας που επικρατεί στο εργαστήριο, από τη θερμοκρασία αναφοράς (βαθμονόμησης) των 20°C, στην οποία αναφέρεται ο πιστοποιημένος όγκος των ογκομετρικών σκευών.

Παράδειγμα 3.11: Η αβεβαιότητα σε ογκομετρική φιάλη τύπου A των 50 ml (με πιστοποιημένο όγκο στους 20 °C, $V_{20} = 50,017 \text{ ml}$) υπολογίζεται ως εξής:

- Αβεβαιότητα στη βαθμονόμηση: Ο κατασκευαστής ορίζει στο πιστοποιητικό ότι η ανοχή είναι $\pm 0,02 \text{ mL}$. Το επίπεδο εμπιστοσύνης δεν ορίζεται. Η αβεβαιότητα είναι:

$$u_1(V) = \frac{0,02}{\sqrt{3}} = 0,012 \text{ mL}$$

- Αβεβαιότητα από επαναληψιμότητα: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων πλήρωσης-ζύγισης, η τυπική απόκλιση του όγκου βρέθηκε 0,04 mL, άρα:

$$u_2(V) = 0,04 \text{ mL}$$

- Η θερμοκρασία του εργαστηρίου είναι 24 °C. Η μεταβολή του ονομαστικού όγκου των 50 mL λόγω θερμικής διαστολής είναι:

$$\Delta V = V_{20} \times a_w \times \Delta T \quad (8)$$

Ο συντελεστής θερμικής διαστολής του νερού, a_w , είναι $2,1 \times 10^{-4}$, η διαφορά θερμοκρασίας $\Delta T = 4 \text{ }^\circ\text{C}$ και ο πιστοποιημένος όγκος στους 20 °C, $V_{20} = 50,017 \text{ mL}$, επομένως:

$$\Delta V = 0,042 \text{ mL}$$

Θεωρούμε ότι η κατανομή είναι τετραγωνική, άρα η αβεβαιότητα αυτής της πηγής είναι:

$$u_3(V) = \frac{0,042}{\sqrt{3}} = 0,024 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα στον όγκο είναι:

$$u(V) = \sqrt{u_1(V)^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = 0,048 \approx 0,05 \text{ mL}$$

4. ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

Όταν οι αναλυτικοί επιστήμονες προσδιορίζουν τη συγκέντρωση μιας ουσίας σε ένα δείγμα, θα πρέπει να έχουν κατά νου ότι το ευρισκόμενο αποτέλεσμα είναι μόνο μια εκτίμηση της αληθούς τιμής. Το αποτέλεσμα της μέτρησης αποκλίνει από την πραγματική τιμή εξαιτίας των συστηματικών (σταθερών ή αναλογικών) και τυχαίων σφαλμάτων που αναπόφευκτα υπάρχουν. Αυτά μπορούν να διακριθούν στις εξής περιπτώσεις [8]:

1. Το συστηματικό σφάλμα της μεθόδου (method bias).
2. Το συστηματικό σφάλμα του εργαστηρίου (laboratory bias).
3. Το σφάλμα από δείγμα σε δείγμα (run error), το οποίο είναι τυχαίο σφάλμα, οφειλόμενο μεταξύ άλλων παραγόντων και στον παράγοντα χρόνο και συμπεριλαμβάνεται συνήθως στην ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα (ή ενδιάμεση πιστότητα, intermediate precision, όπως χαρακτηριστικά αναφέρεται στον ISO GUM).
4. Το σφάλμα επαναληψιμότητας (repeatability error), το οποίο είναι τυχαίο και προέρχεται από τις επαναληπτικές αναλύσεις ενός δείγματος.

Αυτός ο κατάλογος είναι γνωστός και ως «κλίμακα σφαλμάτων» (ladder of errors) [9], διότι τα σφάλματα κατατάσσονται ιεραρχικά:

1. Σφάλματα από τη μέθοδο ως έχει,
2. Σφάλματα από τη μέθοδο όπως εφαρμόζεται από ένα συγκεκριμένο εργαστήριο,
3. Σφάλματα από τη μέθοδο όπως εφαρμόζεται από ένα συγκεκριμένο εργαστήριο, μια συγκεκριμένη μέρα, και τέλος
4. Σφάλματα που προκύπτουν τη συγκεκριμένη μέρα για μια μέτρηση

Η αβεβαιότητα συνδέεται άμεσα με τα παραπάνω είδη σφαλμάτων και κατά τον υπολογισμό της πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Ωστόσο είναι απαραίτητη η εξής διευκρίνιση: Το σφάλμα (error) είναι η διαφορά από την αληθή τιμή, ενώ η αβεβαιότητα (uncertainty) είναι ένα εύρος στο οποίο βρίσκεται με αξιοπιστία σε κάποια στάθμη μπιστοσύνης η μέτρηση όπως αναφέρθηκε αναλυτικότερα και παραπάνω.

Τα τυχαία σφάλματα προσδιορίζονται με πειράματα επαναληψιμότητας ή αναπαραγωγικότητας ή μέσω του διαγράμματος ελέγχου ποιότητας (quality control chart) και δεν μπορούν να διορθωθούν, μπορούν όμως να μειωθούν αυξάνοντας τον αριθμό των μετρήσεων. Τα συστηματικά σφάλματα είναι δυσκολότερο να ποσοτικοποιηθούν. Το συστηματικό σφάλμα της μεθόδου (method bias) αναφέρεται σαφώς σε κάποιο πρότυπο και το αποτέλεσμα τέτοιων μετρήσεων χρησιμοποιείται

για την επίτευξη ιχνηλασιμότητας. Οι διαθέσιμοι τρόποι για την ποσοτικοποίηση των συστηματικών σφαλμάτων είναι οι παρακάτω:

1. Ανάλυση πρότυπων υλικών αναφοράς που να προσομοιάζουν με το δείγμα (matrix certified reference materials, CRMs).
2. Σύγκριση της ελεγχόμενης μεθόδου με μια πρότυπη μέθοδο.
3. Πειράματα ανακτήσεων.
4. Διεργαστηριακές δοκιμές ικανότητας.

Είτε είναι σημαντικό το συστηματικό σφάλμα, είτε όχι (είτε δηλαδή γίνει διόρθωση των συστηματικών σφαλμάτων των αποτελεσμάτων των μετρήσεων, είτε όχι), η αβεβαιότητα που προκύπτει από αυτά τα συστηματικά σφάλματα πρέπει να περιλαμβάνεται στον υπολογισμό της συνολικής αβεβαιότητας [3,10]. Για τη μέθοδο υπολογισμού αβεβαιότητας Nordtest, πέραν της αβεβαιότητας του συστηματικού σφάλματος, χρησιμοποιείται και το ίδιο το συστηματικό σφάλμα (όταν είναι μικρό) αντί των αβεβαιοτήτων του εξοπλισμού, των προτύπων, κλπ.

Οι πιθανές πηγές της αβεβαιότητας που συναντώνται στις χημικές μετρήσεις προέρχονται συνήθως από τα παρακάτω στάδια της ανάλυσης (με τις αντίστοιχες συνιστώσες αβεβαιότητας) [11]:

1. Ατελής ορισμός του προσδιοριζόμενου συστατικού (αποτυχία στο να οριστεί επακριβώς η μορφή του προσδιοριζόμενου συστατικού, παραδοχές που ενσωματώνονται στη μέθοδο, αλλά δεν ορίζονται).
2. Δειγματοληψία (ανομοιογένεια, σφάλματα από τη στρατηγική δειγματοληψίας, αλλοίωση του δείγματος κατά τη δειγματοληψία κ.ά.).
3. Προκατεργασία δείγματος (ατελής παραλαβή ή προσυγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού, επιμόλυνση, παρεμποδίσεις, αβεβαιότητα στον ογκομετρικό εξοπλισμό και στο ζυγό, ανεπαρκής γνώση της επίδρασης των περιβαλλοντικών συνθηκών).
4. Ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς και σύγκριση τους με το δείγμα (αβεβαιότητα της πιστοποιημένης τιμής, διαφορά μήτρας του υλικού αναφοράς και του δείγματος).
5. Βαθμονόμηση του οργάνου μέτρησης (αβεβαιότητα στις περιεκτικότητες προτύπων ουσιών και υλικών αναφοράς).
6. Τελική μέτρηση (παρεμποδίσεις, συστηματικά σφάλματα χειριστή, ακαταλληλότητα οργάνου για τη συγκεκριμένη μέτρηση, όπως διακριτική ικανότητα, αδυναμία διόρθωσης υποβάθρου κ.ά.).
7. Επεξεργασία αποτελεσμάτων και παρουσίαση τους (αβεβαιότητα σε τιμές σταθερών που χρησιμοποιούνται στους υπολογισμούς, σημαντικά ψηφία, στρογγυλοποίηση).
8. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Η επικύρωση της μεθόδου δίνει στοιχεία για την αβεβαιότητα από τα εξής τμήματα της:

1. Ανάλυση δείγματος υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής πιστότητας ή αναπαραγωγιμότητας. Από τέτοιες μελέτες μπορούν να προκύψουν και συμπεράσματα για την ομοιογένεια του υλικού και έτσι να έχουμε μια εκτίμηση της αβεβαιότητας που προκύπτει από τη δειγματοληψία ή την υποδειγματοληψία στο εργαστήριο.
2. Ανάλυση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (CRM). Το συνολικό συστηματικό σφάλμα μιας μεθόδου και του εργαστηρίου που την χρησιμοποιεί (method bias + laboratory bias) εκτιμάται με την ανάλυση

πιστοποιημένων υλικών αναφοράς υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Ο τρόπος αυτός έχει αποδειχθεί ότι δίνει την καλύτερη εκτίμηση αβεβαιότητας, διότι πληροφορεί για την συνδυαστική δράση πολλών πηγών της. Η συνολική αβεβαιότητα αυτού του σταδίου είναι ο συνδυασμός της τυπικής απόκλισης του μέσου όρου n προσδιορισμών και της τυπικής αβεβαιότητας της «αληθούς τιμής» του CRM που παρέχεται στο πιστοποιητικό του (συνήθως ως εύρος σε στάθμη εμπιστοσύνης 95%).

3. Καμπύλη βαθμονόμησης. Η πλέον συνηθισμένη περίπτωση (και η ενδεικνυόμενη) είναι η χρήση γραμμικής καμπύλης αναφοράς για τον προσδιορισμό της άγνωστης συγκέντρωσης ενός δείγματος. Η αβεβαιότητα στη συγκέντρωση προκύπτει από την εξίσωση του σφάλματος της συγκέντρωσης χρησιμοποιώντας τα δεδομένα της παλινδρόμησης. Σχετικό παράδειγμα δίνεται παρακάτω.
4. Ανθεκτικότητα της μεθόδου (robustness). Από τα πειράματα ανθεκτικότητας και κατά τη βελτιστοποίηση της μεθόδου, μελετάται η επίδραση διαφόρων παραμέτρων, όπως π.χ. η θερμοκρασία ενός σταδίου, η ποσότητα ενός οξέος ή διαλύτη και οποιαδήποτε άλλη παράμετρος επηρεάζει το τελικό αποτέλεσμα. Τα αποτελέσματα τέτοιων πειραμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό της αβεβαιότητας που σχετίζεται με την παράμετρο που μεταβάλλεται.
5. Εκλεκτικότητα (selectivity). Κάτι ανάλογο συμβαίνει και στα πειράματα εκλεκτικότητας, όπου μελετάται η επίδραση διαφόρων παρεμποδιστών στο αποτέλεσμα του προσδιορισμού. Τα αποτελέσματα τέτοιων πειραμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον υπολογισμό της αβεβαιότητας που σχετίζεται με τον πιθανό παρεμποδιστή που μεταβάλλεται.

5. ΠΟΡΕΙΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ

Η μεθοδολογία για την πορεία της εκτίμησης της αβεβαιότητας που είναι η πλέον διαδεδομένη μέχρι σήμερα είναι η πορεία που προτείνει η EURACHEM στην αντίστοιχη οδηγία της [3]. Παράλληλα για την απλούστευση της διαδικασίας προτάθηκε η μεθοδολογία Nordtest για την εκτίμηση της αβεβαιότητας [12]. Επιπλέον στην νέα έκδοση της οδηγίας της EURACHEM που αναμένεται να εκδοθεί ([4]) συμπεριλαμβάνονται και τα στάδια και οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται στη μεθοδολογία Nordtest, επομένως μελλοντικά θα αποτελούν μια ενιαία διευρυμένη μεθοδολογία που θα ακολουθείται, ανάλογα με τις συνθήκες που επιβάλει η μέθοδος προσδιορισμού. Στη συνέχεια αναλύονται οι παραπάνω μεθοδολογίες για την εκτίμηση της αβεβαιότητας.

5.1. Εκτίμηση αβεβαιότητας κατά Eurachem

Η μεθοδολογία της EURACHEM περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Καθορισμός σχέσης μέτρησης.
2. Ταυτοποίηση των συνιστωσών των πηγών αβεβαιότητας.
3. Ποσοτικοποίηση της αβεβαιότητας κάθε πηγής.
4. Υπολογισμός της συνδυασμένης αβεβαιότητας.

5.1.1. Καθορισμός σχέσης μέτρησης.

Στην πράξη σημαίνει καταγραφή με σαφήνεια του τι ακριβώς μετρείται και διατύπωση μιας ποσοτικής σχέσης μεταξύ της συγκέντρωσης του προσδιοριζόμενου συστατικού και των παραμέτρων από τις οποίες υπολογίζεται ή εξαρτάται. Ιδιαίτερη σημασία έχει το είδος της μεθόδου που χρησιμοποιείται. Στις εμπειρικές μεθόδους, η ίδια η χρησιμοποιούμενη μέθοδος καθορίζει τον ορισμό του προσδιοριζόμενου συστατικού: π.χ. προσδιορισμός απελευθέρωσης Cd από ιζήματα με διαδοχικές εκχλίσεις (sequential extractions) και AAS. Αντίθετα στις μη εμπειρικές μεθόδους το προσδιοριζόμενο συστατικό είναι ανεξάρτητο από το είδος της τεχνικής που χρησιμοποιείται: π.χ. προσδιορισμός ολικού Cd σε ιζήματα με AAS. Για τον προσδιορισμό μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε οποιαδήποτε τεχνική ενόργανης ανάλυσης, όμως ο ορισμός του προσδιοριζόμενου στοιχείου δεν αλλάζει. Όπου είναι εφικτό περιλαμβάνονται συντελεστές διόρθωσης (για ανακτήσεις, καθαρότητα αντιδραστηρίων, ομοιογένεια υλικού), ώστε να συμπεριληφθεί η αβεβαιότητά τους στον τελικό υπολογισμό. Η τελική σχέση υπολογισμού του προσδιοριζόμενου συστατικού πρέπει να περιλαμβάνεται αναλυτικά στη σχετική τυποποιημένη οδηγία (πρωτόκολλο) της μεθόδου.

Παράδειγμα 5.1: Ο προσδιορισμός Cd στα πλαστικά με AAS περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

1. Ομογενοποίηση και υποδειγματοληψία.
2. Ζύγιση του δείγματος. Ζυγίζονται με ακρίβεια 4ου σημαντικού ψηφίου 125 mg.
3. Χώνευση με μίγμα οξέων.
4. Αν το χωνευμένο δείγμα δεν είναι διαυγές, ακολουθεί διήθηση.
5. Αραίωση σε διακριβωμένη ογκομετρική φιάλη των 50 ml.
6. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς με πρότυπα διαλύματα συγκεντρώσεων 0,50, 1,00, 1,50 και 2,00 mg/L.
7. Μέτρηση του άγνωστου χωνευμένου δείγματος πέντε (5) φορές και καταγραφή της μέσης απορρόφησής του.
8. Υπολογισμός της συγκέντρωσης του άγνωστου δείγματος σε mg/L.
9. Υπολογισμός της περιεκτικότητας στο αρχικό δείγμα σε mg/Kg.

Η εξίσωση που δίνει την περιεκτικότητα του Cd είναι:

$$[Cd](mg / Kg) = \frac{C(mg / L) \cdot V(mL)}{m(g)}$$

όπου

C: η συγκέντρωση στο τελικό διάλυμα, προσδιοριζόμενη με χρήση καμπύλης αναφοράς, mg/L.

V: ο όγκος του τελικού διαλύματος μετά τη χώνευση mL, και

m: η μάζα πλαστικού που χωνεύτηκε, g.

Η αβεβαιότητα στην περιεκτικότητα του Cd, u_{Cd} , είναι αποτέλεσμα της αβεβαιότητας στον προσδιορισμό της συγκέντρωσης, $u(C)$, του όγκου, $u(V)$ και της μάζας, $u(m)$.

Αν στον υπολογισμό της αβεβαιότητας συμπεριληφθούν, π.χ. η αβεβαιότητα δειγματοληψίας (πειράματα ανομοιογένειας) και η αβεβαιότητα ανάκτησης, τότε στην παραπάνω εξίσωση περιλαμβάνονται και οι αντίστοιχοι συντελεστές διόρθωσης, F_{HOM} και F_{rec} :

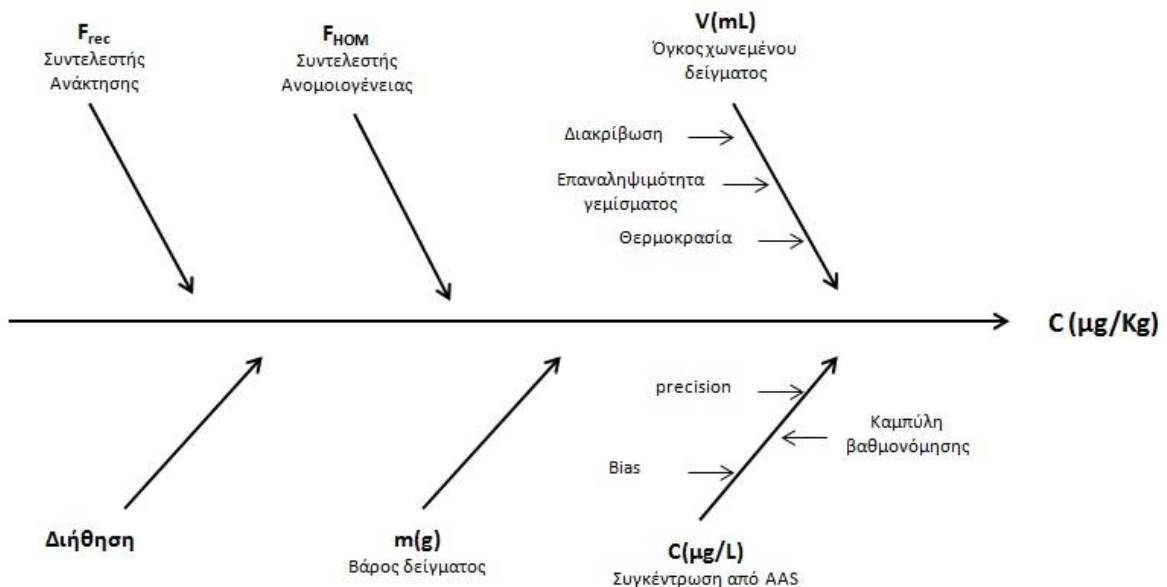
$$[Cd] = \frac{C \cdot V}{m} \times \frac{F_{HOM}}{F_{rec}}$$

Ακόμη και στην περίπτωση που οι συντελεστές αυτοί είναι μονάδα (δηλαδή δεν απαιτείται διόρθωση), οι αβεβαιότητες που προέρχονται από αυτές τις πηγές μπορούν να συμπεριληφθούν στον τελικό υπολογισμό της αβεβαιότητας, αν είναι της ίδιας τάξης με την αβεβαιότητα την προερχόμενη από τα τυχαία σφάλματα.

5.1.2. Ταυτοποίηση των συνιστωσών (πηγών) αβεβαιότητας.

Για κάθε παράμετρο στη σχέση δημιουργείται ένας κατάλογος από τις πιθανές πηγές αβεβαιότητας, όπως ήδη έχει αναφερθεί στο υποκεφ. 3. Στον κατάλογο αυτό θα περιλαμβάνονται και πηγές αβεβαιότητας παραμέτρων που δεν εμφανίζονται στην εξίσωση υπολογισμού του προσδιοριζόμενου συστατικού. Στη συνέχεια είναι δυνατό να κατασκευαστεί ένα διάγραμμα «αιτίου - αποτελέσματος» (cause and effect diagram ή fish-bone diagram), στο οποίο θα περιλαμβάνονται όλες οι πηγές αβεβαιότητας του καταλόγου. Αν και το διάγραμμα αυτό είναι προαιρετικό, διευκολύνει στο να συγχωνευτούν οι πηγές που επηρεάζουν διάφορες παραμέτρους.

Παράδειγμα 5.1 (συνέχεια): Για το παραπάνω παράδειγμα που αναφέρθηκε παρουσιάζεται ένα απλοποιημένο διάγραμμα «αιτίου- αποτελέσματος»:



Σχήμα 5.1. Διάγραμμα αιτίου-αποτελέσματος(ή fishbone) για το Παράδειγμα 5.1

5.1.3. Ποσοτικοποίηση της τυπικής αβεβαιότητας κάθε πηγής

Στο στάδιο αυτό υπολογίζεται η αβεβαιότητα κάθε συνιστώσας και εκφράζεται ως τυπική απόκλιση ή σχετική τυπική απόκλιση (εάν διαφέρουν οι μονάδες). Στην αναλυτική χημεία το μεγαλύτερο ποσοστό μεθόδων είναι οι εσωτερικές (in-house) μέθοδοι. Επομένως για να εκτιμηθούν τα χαρακτηριστικά ποιότητας της μεθόδου θα πρέπει να γίνει επικύρωση. Από τα στοιχεία της επικύρωσης μπορούμε να αντλήσουμε αρκετά δεδομένα για την εκτίμηση της αβεβαιότητας. Τα στοιχεία που χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της αβεβαιότητας είναι τα εξής [3,4]:

- Η εκτιμήτρια της πιστότητας (εκτίμηση τυχαίων σφαλμάτων)
- Η εκτιμήτρια των συστηματικών σφαλμάτων (bias) (ορθότητα, trueness) καθώς και της αβεβαιότητάς τους
- Οποιοσδήποτε άλλος παράγοντας που δεν περιλαμβάνεται στα παραπάνω χαρακτηριστικά ποιότητας, καθώς και οι μελέτες εκτίμησής τους.

5.1.3.1. Μελέτη υπολογισμού τυχαίων σφαλμάτων

Ο υπολογισμός της αβεβαιότητας που οφείλεται στα τυχαία σφάλματα γίνεται με την χρήση των δεδομένων που υπάρχουν από την εκτίμηση της πιστότητας. Αυτό που χρησιμοποιείται είναι δεδομένα από την επαναληψιμότητα ή την ενδιάμεση πιστότητα ή την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα. Τέλος για τις περιπτώσεις όπου η μέθοδος χρησιμοποιείται αρκετό χρονικό διάστημα και εφαρμόζεται ένα σύστημα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας, μια έγκυρη εκτίμηση της αβεβαιότητας μπορεί να γίνει από το Διάγραμμα Ελέγχου Ποιότητας (διαγράμματα QC) με την προϋπόθεση ότι υπάρχει ικανοποιητικός αριθμός δεδομένων.

Κατά την εκτίμηση της αβεβαιότητας των τυχαίων σφαλμάτων υπολογίζεται η διασπορά των αποτελεσμάτων γύρω από τη μέση τιμή. Η πράξη έχει δείξει ότι η εκτίμηση αυτής της αβεβαιότητας είναι ορθότερη όταν χρησιμοποιηθεί η εξίσωση (2) του υποκ. 3, δηλαδή η τυπική απόκλιση των τιμών, θεωρώντας ότι δεν έχουμε συστηματικά σφάλματα. Επειδή τις περισσότερες φορές χρειαζόμαστε τη σχετική αβεβαιότητα, ο υπολογισμός της σχετικής τυπικής αβεβαιότητας ταυτίζεται με τον υπολογισμό του RSD των τιμών.

Για να υπάρχει καλύτερη εκτίμηση της αβεβαιότητας θα πρέπει να μελετηθεί η πιστότητα συμπεριλαμβάνοντας όσο το δυνατόν περισσότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη διακύμανση των αποτελεσμάτων, όπως διαφοροποίηση από μέρα σε μέρα, διαφορετικός αναλυτής, διαφορετικός εξοπλισμός ή ακόμη και διαφορετική δειγματοληψία ή υποδειγματοληψία. Γι' αυτό το λόγο αποτελέσματα που πάρθηκαν υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας, καθώς και τα διαγράμματα QC δίνουν καλύτερη εκτίμηση της αβεβαιότητας των τυχαίων σφαλμάτων.

Παράδειγμα 5.1 (Συνέχεια): Στον παρακάτω πίνακα δίνονται τα αποτελέσματα από τα πειράματα αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου που έγιναν για πέντε διαφορετικές μέρες σε τετραπλές αναλύσεις κάθε μέρα, καθώς και οι εκτιμήτρια αναπαραγωγιμότητας.

	1 ^η μέρα	2 ^η μέρα	3 ^η μέρα	4 ^η μέρα	5 ^η μέρα
X1	120,0	117,4	118,7	117,6	115,4
X2	115,5	118,1	114,7	118,2	117,3
X3	116,8	118,2	116,1	120,7	121,2
X4	122,8	118,8	120,0	116,0	116,7
Μέσος όρος (mg/Kg)	118,0				
Τυπική απόκλιση (mg/Kg)	2,1				
RSD	0,0180				

Επομένως η τυπική αβεβαιότητα των τυχαίων σφαλμάτων (πιστότητα) θα είναι

$$u = SD = 2,1 \text{ mg / Kg}$$

και η σχετική τυπική αβεβαιότητα που θα χρησιμοποιηθεί για τον υπολογισμό της συνδυασμένης αβεβαιότητας είναι:

$$RSD_R = \frac{SD}{X} = 0,0180$$

Σημείωση: Ορθότερη εκτιμήτρια της αναπαραγωγιμότητας μπορεί να ληφθεί με ANOVA (SINGLE FACTOR) οπότε $SD_R = 2,5 \text{ mg / Kg}$

5.1.3.2. Μελέτη υπολογισμού συστηματικών σφαλμάτων

Η εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων λόγω της ιδιαιτερότητάς τους να μη μπορούν να εξαλειφτούν, αλλά να μπορούν να διορθωθούν, έχουν δημιουργήσει προβληματισμό ως προς την αναγκαιότητα εκτίμησής τους, και τότε είναι απαραίτητη η διόρθωσή τους και σε ποιες περιπτώσεις θα πρέπει να ληφθεί υπόψη στη συνολική αβεβαιότητα η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων.

Τα συστηματικά σφάλματα χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες, τα σταθερά συστηματικά σφάλματα, τα οποία είναι ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του αναλύτη και τα αναλογικά συστηματικά σφάλματα που μεταβάλλονται ανάλογα με τη συγκέντρωση. Γι αυτό το λόγο ο έλεγχος των συστηματικών σφαλμάτων θα πρέπει να γίνεται σε παραπάνω του ενός επίπεδα συγκεντρώσεων, ώστε να μπορεί να εκτιμηθεί σε ποια από τις δύο περιπτώσεις ανήκουν [13].

Για να εκτιμηθεί η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων πρέπει να υπολογιστεί το ίδιο το συστηματικό σφάλμα χρησιμοποιώντας τους τρόπους που αναφέρθηκαν και παραπάνω, δηλ. ανάλυση CRM, σύγκριση με πρότυπη μέθοδο, ανάλυση εμβολιασμένων δειγμάτων, διεργαστηριακές συγκρίσεις. Ανάλογα με το

διαθέσιμο τρόπο, καθώς και το κόστος, το κάθε εργαστήριο επιλέγει τον προσφορότερο τρόπο που μπορεί να εφαρμοστεί στην εκάστοτε μέθοδο.

Σχετικά με τους τρόπους εκτίμησης των συστηματικών σφαλμάτων, η ανάλυση CRM (Certificated Reference material) αποτελεί ένα αξιόπιστο τρόπο για την εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων, ειδικά εάν το CRM προσομοιάζει στα δείγματα ρουτίνας. Ωστόσο δεν είναι πάντα διαθέσιμο ένα CRM που να προσομοιάζει στη μήτρα του δείγματος ή στα επίπεδα συγκεντρώσεων της μεθόδου. Επίσης τα CRM τις περισσότερες φορές είναι διαθέσιμα σε ένα μόνο επίπεδο συγκεντρώσεων με αποτέλεσμα να μην μπορούν να χρησιμοποιηθούν για πολλά επίπεδα συγκεντρώσεων [14]. Η σύγκριση με μια πρότυπη μέθοδο αποτελεί μια καλή επιλογή για την εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων, καθώς συνήθως οι πρότυπες μέθοδοι χαρακτηρίζονται μετρολογικά ως υψηλότερης στάθμης από ό,τι οι εσωτερικές μέθοδοι, γεγονός που επιτρέπει να προσδιοριστεί το σφάλμα με μεγαλύτερη αξιοπιστία. Επιπλέον δίνουν τη δυνατότητα να εκτιμηθούν και τα αναλογικά, αλλά και τα σταθερά συστηματικά σφάλματα αν γίνει διερεύνηση σε εύρος συγκεντρώσεων. Ωστόσο, οι πρότυπες μέθοδοι είναι συνήθως υψηλού κόστους και ο εξοπλισμός που απαιτούν πολλές φορές δεν είναι διαθέσιμος [14]. Η επιλογή των εμβολιασμένων δειγμάτων είναι η πλέον φθηνή και προσβάσιμη μέθοδος για κάθε εργαστήριο, καθώς μπορεί να γίνει σε μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων, με μικρό κόστος και άμεσα. Ένα πρόβλημα που εμφανίζεται είναι ότι πολλές φορές δεν προλαβαίνει να επέλθει ισορροπία μεταξύ της εμβολιασμένης ποσότητας και του δείγματος με αποτέλεσμα να μην έχουμε την ομοιογένεια του πραγματικού δείγματος και να γίνεται υποεκτίμηση του συστηματικού σφάλματος [13,14]. Τελευταίος τρόπος εκτίμησης των συστηματικών σφαλμάτων αποτελούν οι διεργαστηριακές συγκρίσεις ή προγράμματα ελέγχου ικανότητας, που αποτελούν τον εξωτερικό έλεγχο ποιότητας και δίνουν εκτίμηση για το που βρίσκεται η μέθοδος σε παγκόσμια κλίμακα. Για να εκτιμηθούν αξιόπιστα τα συστηματικά σφάλματα μιας μεθόδου προτιμάται η χρήση διεργαστηριακών συγκρίσεων, όπου όλα τα εργαστήρια χρησιμοποιούν την ίδια μέθοδο. Αντίθετα, τα προγράμματα ελέγχου ικανότητας (Proficiency tests, PT), ενώ δίνουν μια εκτίμηση για το που βρίσκεται το εργαστήριο, επειδή τα εργαστήρια χρησιμοποιούν διαφορετικές μεθόδους προσδιορισμού του ίδιου αναλύτη, παρέχουν εκτίμηση του ολικού συστηματικού σφάλματος. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα των διεργαστηριακών συγκρίσεων είναι η καλύτερη προσέγγιση του πραγματικού δείγματος γιατί είναι πιο αυστηρές οι προϋποθέσεις ως προς την ομοιογένεια και τη σταθερότητα του δείγματος από το CRM. Παράλληλα όμως, μπορεί το ίδιο το δείγμα να μην είναι ίδιο με αυτό της ρουτίνας του εργαστηρίου ή στα ίδια επίπεδα συγκεντρώσεων και επομένως να μην έχουμε σωστή εκτίμηση λόγω διαφορετικής φύσης του δείγματος. Ένα επιπλέον μειονέκτημα των διεργαστηριακών δοκιμών είναι ότι όταν χρησιμοποιείται συμφωνημένη τιμή (*consensus value*), δηλαδή η τιμή προκύπτει από τα ίδια τα εργαστήρια που συμμετέχουν, αυτή δεν είναι ιχνηλάσιμη με αποτέλεσμα η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος να μην είναι αξιόπιστη [4,13,14].

Μετά τον υπολογισμό του συστηματικού σφάλματος θα πρέπει να εκτιμηθεί η σημαντικότητά του.. Δηλαδή αν το συστηματικό σφάλμα είναι στατιστικά σημαντικό ή όχι. Αυτό γίνεται συνήθως με τη χρήση t-test και ανάλογα με ποιο από τους παραπάνω τρόπους έγινε η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος.

Εάν αποδειχθεί παρουσία συστηματικού σφάλματος θα πρέπει να γίνει διερεύνησή του.. Παρόλο που υπάρχει μια κοινή πεποίθηση ότι το συστηματικό σφάλματος πρέπει να διορθώνεται, αυτό δεν είναι πάντα εύκολο. Στην βιβλιογραφία προτείνονται κριτήρια εκτίμησης του εφικτού της διόρθωσης ενός συστηματικού

σφάλματος. Τα κριτήρια αυτά χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, τεχνικά και οικονομικά.

Τα τεχνικά κριτήρια που προτείνονται είναι τα εξής [13,14]:

1. **Απόδειξη της σημαντικότητας του σφάλματος.** Π.χ. t-test
2. **Ταυτοποίηση της αιτίας του συστηματικού σφάλματος.**
3. **Ακριβής εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος.** Μπορεί να πραγματοποιηθεί, είτε βρίσκοντας την ποσοτική σχέση που συνδέει την αιτία με το μέγεθος της επίδρασης του αποτελέσματος, είτε εμπειρικά μελετώντας την επίδραση των αποτελεσμάτων στην αιτία του σφάλματος.
4. **Σημαντική μείωση της αβεβαιότητας αν εφαρμοστεί διόρθωση.** Το συγκεκριμένο κριτήριο απαιτεί να γίνει εκτίμηση της αβεβαιότητας του συστηματικού σφάλματος πριν εφαρμοστεί η διόρθωση.

Παράδειγμα 5.2: Στον προσδιορισμό του μολύβδου με ICP-OES τα αποτελέσματα επηρεάζονται από τη συγκέντρωση του αργιλίου στο δείγμα λόγω φασματικών παρεμποδίσεων. Επομένως τα κριτήρια (i) και (ii) πληρούνται. Η διόρθωση των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει με βάση την ένταση εκπομπής του αργιλίου σε άλλη φασματική γραμμή. Επομένως έχουμε μια ποσοτική σχέση για τη διόρθωση των σφαλμάτων (κριτήριο iii) επιτρέποντας τη μείωση της αβεβαιότητας (κριτήριο vi). Όλα τα κριτήρια πληρούνται και επομένως μπορεί να εφαρμοσθεί η διόρθωση των αποτελεσμάτων του μολύβδου με βάση τη συγκέντρωση του αργιλίου. **Παρατήρηση:** Στην αβεβαιότητα θα συμπεριληφθεί και η αβεβαιότητα της σχέσης που διορθώνει τα αποτελέσματα του μολύβδου.

Παράδειγμα 5.3: Με την ίδια τεχνική του παραδείγματος 5.1, κατά την ανάπτυξη μιας μεθόδου παρατηρείται διαφορά μεταξύ της καμπύλης εξωτερικών προτύπων και της καμπύλης εμβολιασμένων δειγμάτων (matrix-matched) (κριτήριο i). Η διαφοροποίηση οφείλεται στην επίδραση των αλάτων που υπάρχουν στη μήτρα (κριτήριο ii). Ωστόσο δεν μπορεί να βρεθεί ούτε ποσοτική, ούτε εμπειρική σχέση που να διορθώνει τα αποτελέσματα με βάση το κριτήριο iii. Άρα δεν πληρούνται τα κριτήρια που να επιτρέπουν τη διόρθωση. Ωστόσο, με τη χρήση καμπύλης εμβολιασμένων δειγμάτων (matrix-matched) δεν απαιτείται πλέον διόρθωση.

Παράδειγμα 5.4: Ένα εργαστήριο παρατηρεί στατιστικά σημαντικό και σταθερό σφάλμα μέσω της χρήσης ενός ή περισσότερων CRMs. Όμως το σφάλμα είναι πολύ μικρό συγκρητικά με την αβεβαιότητα που θέλει το εργαστήριο. Οπότε αν και το κριτήριο (i) καλύπτεται μερικώς δεν υπάρχει λόγος για διόρθωση.

Παράδειγμα 5.5: Ένα εργαστήριο παρατηρεί στατιστικά σημαντικό και σταθερό σφάλμα μέσω της χρήσης ενός ή περισσότερων CRMs. Το σφάλμα είναι συγκρίσιμο με την επιθυμητή αβεβαιότητα. Επομένως το κριτήριο (i) πληρούται σαφώς. Ωστόσο δεν υπάρχει σαφής εικόνα της αιτίας του σφάλματος. Γι' αυτό ή δεν εφαρμόζεται διόρθωση ή προσδιορίζεται η σχέση εμπειρικά μέσα από μελέτες που δείχνουν την επίδραση αποτελέσματος και μήτρας. Αν αυτό είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί τότε η διόρθωση μπορεί να γίνει εμπειρικά.

Τα παραπάνω παραδείγματα, καθώς και μερικά ακόμη αντιπροσωπευτικά αναφέρονται στη βιβλιογραφία [13]. Τα οικονομικά κριτήρια, όπως είναι κατανοητό αφορούν το κόστος της μεθόδου, αλλά και το κόστος που απαιτούν οι μελέτες για την εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων που κάποιες φορές μπορεί να είναι μεγάλο.

Αφού έχει μελετηθεί η επίδραση του συστηματικού σφάλματος θα πρέπει να γίνει η εκτίμηση της αβεβαιότητάς του. Ανεξάρτητα από την επίδραση που έχει το συστηματικό σφάλμα, θα πρέπει να υπολογισθεί η αβεβαιότητα σε όλες τις περιπτώσεις ανεξάρτητα από την παρουσία ή μη συστηματικού σφάλματος. Σε περίπτωση διόρθωσης του συστηματικού σφάλματος θα πρέπει να εκτιμηθεί η τιμή του συστηματικού σφάλματος με βάση τα παραπάνω. Έχει καθιερωθεί ότι σε περίπτωση που η αβεβαιότητα του συστηματικού σφάλματος είναι μεγαλύτερη ή ίση με το 30% της συνολικής αβεβαιότητας, τότε θα πρέπει να συμπεριλαμβάνεται στις συνιστώσες της αβεβαιότητας, ακόμη και σε περιπτώσεις που έχουμε 100% ανάκτηση του αναλύτη, καθώς μπορεί η διακύμανση του αναλύτη να είναι αρκετά υψηλή έτσι, ώστε το συστηματικό σφάλμα να μην είναι αναγνωρίσιμο [14,15]. Στη συνέχεια παρατίθενται οι τρόποι υπολογισμού της αβεβαιότητας που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Υπολογισμός αβεβαιότητας από χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφορών.

Αναλύεται το υλικό αναφοράς n φορές και προσδιορίζεται ο μέσος όρος \bar{X} της περιεκτικότητας και η τυπική της απόκλιση S_r . Κατόπιν ο \bar{X} συγκρίνεται με την «αληθή τιμή», μ , του CRM με τη δοκιμασία t για να διαπιστωθεί η ύπαρξη ή μη, στατιστικά σημαντικής διαφοράς:

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{X} - \mu| \sqrt{n}}{S_r}$$

Η συνολική αβεβαιότητα, u_{bias} , αυτού του σταδίου είναι ο συνδυασμός της τυπικής απόκλισης, S_r / \sqrt{n} , του μέσου όρου (βλ. εξίσωση (3)) n προσδιορισμών υπό συνθήκες επαναληψιμότητας και της τυπικής αβεβαιότητας, u_{CRM} , της «αληθούς τιμής» του CRM, μ , που δίνεται στο πιστοποιητικό του. Συνήθως στο πιστοποιητικό δίνεται η διευρυμένη αβεβαιότητα, U , ή εύρος a της μ , σε στάθμη εμπιστοσύνης 95%, επομένως η u_{CRM} θα είναι $U/2$ ή $a/2$

Παράδειγμα 5.1 (συνέχεια): Η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος έγινε με τη χρήση CRM, πραγματοποιήθηκαν έξι ($n=6$) προσδιορισμοί του υλικού αναφοράς με πιστοποιημένη περιεκτικότητα σε Cd $197,9 \pm 4,8$ mg/Kg για 95% στάθμη εμπιστοσύνης. Οι προσδιορισμοί έδωσαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

Προσδιορισμοί (6 εντός της ημέρας)								
X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	\bar{X}	S_r	RSD_r
(mg/Kg)								(%)
202.1	196.3	200.3	196.6	197.6	201.6	199.1	2.57	1.29

Αρχικά εφαρμόζουμε τη δοκιμασία t για τον έλεγχο σημαντικότητας της διαφοράς μεταξύ της ευρισκόμενης περιοεκτικότητας \bar{X} και της «αληθούς τιμής», μ . Από την εφαρμογή της δοκιμασίας t στα παραπάνω δεδομένα προκύπτει ότι οι μέσοι όροι \bar{X} και μ , δεν διαφέρουν στατιστικά ($t_{\text{exp}} = 1,14 < 2,57 = t_{\text{crit}}$, για $n-1=5$ βαθμούς ελευθερίας για στάθμη 95%), επομένως δεν έχουμε συστηματικό σφάλμα που να απαιτεί διόρθωση. Όμως η αβεβαιότητα θα πρέπει να συνυπολογισθεί στη συνολική αβεβαιότητα, αφού είναι της ίδιας τάξης μεγέθους με την τυπική απόκλιση των πειραμάτων μελέτης των τυχαίων σφαλμάτων.

Η τυπική αβεβαιότητα, u_{CRM} , της «αληθούς τιμής» του CRM από το πιστοποιητικό είναι:

$$u_{CRM} = a/2 = 4,8/2 = 2,4 \text{ mg/Kg}$$

επομένως η συνολική αβεβαιότητα, u_{bias} , θα είναι:

$$u_{bias} = \sqrt{u_{CRM}^2 + \frac{S_r^2}{n}} = \sqrt{2.4^2 + \frac{2.57^2}{6}} = 2.62 \text{ mg/Kg}$$

ενώ η σχετική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$\frac{u_{bias}}{Cd_{CRM}} = \frac{2,62}{199.1} = 0,013$$

Υπολογισμός αβεβαιότητας από σύγκριση της ελεγχόμενης μεθόδου με πρότυπη μέθοδο αναφοράς. Έστω ότι συγκρίνονται δύο μέθοδοι: η 1^η δίνει μέσο όρο X_1 με τυπική απόκλιση S_1 για n_1 προσδιορισμούς, ενώ η 2^η δίνει, αντίστοιχα μέσο όρο X_2 , με τυπική απόκλιση S_2 για n_2 προσδιορισμούς. Αν οι δύο σειρές μετρήσεων έχουν τυπικές αποκλίσεις που δεν διαφέρουν σημαντικά (ελέγχεται εφαρμόζοντας την δοκιμασία F [16]), τότε υπολογίζεται η συνολική τυπική απόκλιση (pooled standard deviation), S_p :

$$S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}} \quad (9)$$

και υπολογίζεται η παράμετρος t_{exp} για να διαπιστωθεί η ύπαρξη ή μη στατιστικής διαφοράς συνήθως σε επίπεδο σημαντικότητας 95%:

$$t = \frac{|\bar{X}_1 - \bar{X}_2|}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (10)$$

όπου t_{exp} έχει n_1+n_2-2 βαθμούς ελευθερίας.

Από την παραπάνω σχέση παρατηρούμε ότι η διαφορά των μέσων όρων συγκρίνεται με τον όρο $S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}$, ο οποίος αντιπροσωπεύει τη συνεισφορά της αβεβαιότητας της σχετικής με τα συστηματικά σφάλματα της μεθόδου, u_{bias} .

Παράδειγμα 5.6: Μια ελεγχόμενη μέθοδος (μέθοδος 1) προσδιορισμού Se, συγκρίνεται με μια πρότυπη μέθοδο (μέθοδος 2). Τα αποτελέσματα για κάθε μέθοδο σε mg/Kg είναι [3,4]:

	\bar{X}	S_r	n
Μέθοδος 1	5,40	1.47	5
Μέθοδος 2	4,76	2.75	5

Η συνδυασμένη τυπική απόκλιση σύμφωνα με την εξίσωση (9) είναι:

$$S_p = 2,205$$

Ενώ το t_{exp} σύμφωνα με την εξίσωση (10) είναι:

$$t = 0,46$$

Το t_{crit} για 8 βαθμούς ελευθερίας είναι 2,3, δηλαδή $t_{crit} > t_{exp}$, οι μέσοι όροι των δύο σειρών αποτελεσμάτων δεν διαφέρουν στατιστικά, δηλαδή η μέθοδος 1 δεν έχει συστηματικό σφάλμα. Η αβεβαιότητα όμως που συνδέεται με αυτό μπορεί να συμπεριληφθεί στη συνολική αβεβαιότητα, άρα σύμφωνα με τα παραπάνω:

$$u_{bias} = S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}} = 1,4 \text{ mg/Kg}$$

Υπολογισμός αβεβαιότητας από πειράματα ανακτήσεων. Το συστηματικό σφάλμα της μεθόδου ελέγχεται και με πειράματα ανάκτησης. Η ανάκτηση, R , υπολογίζεται από n ανεξάρτητους προσδιορισμούς και υπολογίζεται η μέση ανάκτηση, \bar{R} , μαζί με την τυπική της απόκλιση, S_r . Η περίπτωση αυτή αντιμετωπίζεται όπως στην ανάλυση CRM, δηλαδή η προσδιορισθείσα \bar{R} συγκρίνεται με τη θεωρητική ανάκτηση 1,0 (ανάκτηση 100%, στην περίπτωση που η μέθοδος δεν έχει συστηματικό σφάλμα) με δοκιμασία t και η αβεβαιότητα η σχετική με τα συστηματικά σφάλματα της μεθόδου, u_{bias} , είναι $\frac{S_r}{\sqrt{n}}$ (βλ. εξίσωση (3)).

Παράδειγμα 5.7 Κατά την ανάπτυξη μεθόδου προσδιορισμού του υφαλοχρώματος Irgarol 1051 σε θαλασσινό νερό, πραγματοποιήθηκαν πειράματα ανάκτησης, στα οποία εμβολιάστηκαν με 10 $\mu\text{g/L}$ της ουσίας έξι ($n=6$) λευκά δείγματα θαλασσινού νερού (με μη ανιχνεύσιμη ποσότητα του αναλύτη), ακολουθήθηκε η πορεία εκχύλισης στερεής φάσης και προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις στα τελικά εκλούσματα με HPLC. Τα αποτελέσματα δίνονται στον παρακάτω πίνακα:

n	1	2	3	4	5	6	\bar{R}	S_r
X ($\mu\text{g/L}$)	8,81	9,21	9,06	8,94	8,88	9,14		
R	0,88	0,92	0,91	0,89	0,89	0,91	0,90	0,0063

Από την εφαρμογή της δοκιμασίας t στα παραπάνω δεδομένα προκύπτει ότι η ανάκτηση \bar{R} διαφέρει στατιστικά από τη μονάδα (1,0) ($t_{exp} = 16,3 \gg 2,57 = t_{crit}$, για $n-1=5$ βαθμούς ελευθερίας σε στάθμη 95%), επομένως ο συντελεστής διόρθωσης F_{rec} , μπορεί να θεωρηθεί ίσος με 0,90. Αν θα γίνει ή όχι διόρθωση των τελικών αποτελεσμάτων προσδιορισμού αυτό είναι στην κρίση του αναλυτικού χημικού και με βάση τα κριτήρια που αναφέρθηκαν παραπάνω. Σε κάθε περίπτωση, ότι και αν αποφασιστεί, θα πρέπει να περιλαμβάνεται στον ορισμό του προσδιοριζόμενου συστατικού. Αν περιληφθεί στον ορισμό τότε η αβεβαιότητα του πρέπει να συμπεριληφθεί στη συνολική αβεβαιότητα. Εάν θεωρηθεί ότι η αβεβαιότητα της διαδικασίας εμβολιασμού (αβεβαιότητα συγκέντρωσης προτύπου, αβεβαιότητα σύριγγας, αβεβαιότητα ογκομετρικής φιάλης είναι αμελητέα), τότε η u_{bias} δίνεται από τη σχέση:

$$u_{\text{bias}} = \frac{S_r}{\sqrt{6}} = 0,00258$$

ενώ η σχετική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$\frac{u_{\text{bias}}}{R} = \frac{0,00258}{0,90} = 0,0029$$

Εάν η αβεβαιότητα εμβολιασμού δεν είναι αμελητέα, τότε πρέπει να συνυπολογισθεί στην u_{bias} .

Υπολογισμός αβεβαιότητας από διεργαστηριακές δοκιμές ικανότητας. Η εκτίμηση της αβεβαιότητας των συστηματικών σφαλμάτων μέσω διεργαστηριακών δοκιμών είναι ένα μια νέα προσέγγιση που συμπεριλαμβάνεται στη νέα έκδοση της EURACHEM [4]. Λεπτομέρειες για τον τρόπο υπολογισμού θα αναφερθούν στην εκτίμηση της αβεβαιότητας με τη μεθοδολογία NORDTEST.

5.1.3.3. Υπολογισμός άλλων παραγόντων αβεβαιότητας

Υπολογισμός αβεβαιότητας, u_C , προσδιοριζόμενης συγκέντρωσης C από γραμμική καμπύλη αναφοράς. Συνήθως για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης C άγνωστου δείγματος, απαιτείται κατασκευή καμπύλης αναφοράς με εξίσωση $y = a + bx$. Η τυπική αβεβαιότητα, u_C , στην προσδιοριζόμενη συγκέντρωση δίνεται από την εξίσωση [16]:

$$u_C = \frac{S_{y/x}}{b} \left\{ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} \quad (11)$$

όπου

b: η κλίση της καμπύλης αναφοράς

n: ο αριθμός των προτύπων διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς

m: ο αριθμός των επαναλήψεων κατά τη μέτρηση του άγνωστου δείγματος

y_o : ο μέσος όρος των αποκρίσεων αυτών των επαναλήψεων

\bar{y} : ο μέσος όρος των αποκρίσεων των προτύπων διαλυμάτων

x_i : η συγκέντρωση κάθε πρότυπου διαλύματος

\bar{x} : ο μέσος όρος των συγκεντρώσεων των προτύπων διαλυμάτων, και

$S_{y/x}$: η τυπική απόκλιση των υπολοίπων των τιμών y που προκύπτουν από τη γραμμική συσχέτιση (τυχαίοσφάλμα των y) και δίνεται από τη σχέση:

$$S_{y/x} = \left\{ \frac{\sum_i (y_i - \hat{y})^2}{n - 2} \right\}^{1/2} \quad (12)$$

Παρατηρούμε ότι η τελευταία εξίσωση χρησιμοποιεί τα y -υπόλοιπα (y -residuals), $y_i - \hat{y}$, όπου \hat{y} η προβλεπόμενη από την εξίσωση παλινδρόμησης τιμή y . Ο όρος $S_{y/x}$ υπολογίζεται από τα περισσότερα στατιστικά λογισμικά (αναφέρεται και ως “standard error”).

Παράδειγμα 5.1: Η καμπύλη αναφοράς κατασκευάστηκε με χρήση πρότυπων διαλυμάτων ($n=4$), με συγκεντρώσεις (x_i) 0,50, 1,00, 1,50 και 2,00 mg/L και καταγράφηκαν οι αντίστοιχες απορροφήσεις (y_i):

x_i (mg/L)	y_i
0.50	0.084
1.00	0.162
1.50	0.232
2.00	0.301

Η εξίσωση της γραμμικής παλινδρόμησης με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων δίνει:

$$y_i = 0,0145 + 0,1442x_i, \text{ με συντελεστή συσχέτισης } r=0.9996$$

Κατασκευάζονται οι πίνακες:

y_i	\hat{y}	$y_i - \hat{y}$	$(y_i - \hat{y})^2$
0.084	0.0866	-0.0026	6.76E-06
0.162	0.1587	0.0033	1.089E-05
0.232	0.2308	0.0012	1.44E-06
0.301	0.3029	-0.0019	3.61E-06
$\bar{y} = \mathbf{0.195}$		$\sum_i (y_i - \hat{y})^2 = 2.27E-05$	
		$S_{y/x} = \mathbf{0.003369}$	

x_i (mg/L)	$(x_i - \bar{x})^2$
0.50	0.5625
1.00	0.0625
1.50	0.0625
2.00	0.5625
$\bar{x} = \mathbf{1.25}$	$\sum_i (x_i - \bar{x})^2 = \mathbf{1.25}$

Στη συνέχεια μετράμε το διάλυμα του άγνωστου δείγματος πέντε φορές ($m=5$) και ο μέσος όρος των απορροφήσεων είναι $y_o=0.1062$. Από την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς, για $y_o=0.1062$ προκύπτει $C = 0.64$ mg/L. Η αβεβαιότητα στην συγκέντρωση που προσδιορίστηκε προκύπτει από την εφαρμογή της εξίσωσης (7) και είναι:

$$u_c = \frac{S_{y/x}}{b} \left\{ \frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_o - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \right\}^{1/2} = 0.013 \text{ mg/L}$$

και η σχετική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$\frac{u_c}{C} = \frac{0,013}{0,64} = 0,02$$

Υπολογισμός πρόσθετων παραγόντων αβεβαιότητας. Παράλληλα με όλα τα παραπάνω υπάρχουν και παράγοντες που δεν μπορούν να συμπεριληφθούν σε όλα τα παραπάνω και τα οποία πρέπει να συμπεριληφθούν στη συνδυασμένη αβεβαιότητα. Εκεί η εκτίμηση μπορεί να γίνει με κάποιο από τους παρακάτω προτεινόμενους τρόπους:

- Εκτίμηση μέσω πειραματικών διεργασιών
- Από άλλα δεδομένα, όπως μετρήσεις και πιστοποιητικά
- Μοντελοποίηση με βάση θεωρητικές αρχές
- Εκτίμηση από προηγούμενη εμπειρία ή πληροφορίες από θεωρητικά μοντέλα.

Υπολογισμός αβεβαιότητας μάζας και όγκου. Η μάζα και ο όγκος αποτελούν δύο μεγέθη, για τα οποία η αβεβαιότητά τους εκτιμάται με βάση τις θεωρητικές αρχές καθώς είναι πλήρως μελετημένα και πλήρως ιχνηλάσιμα στο SI. Η εκτίμηση της αβεβαιότητάς τους αναφέρθηκε ήδη στο υποκεφάλαιο 3.

Παράδειγμα 5.1 (συνέχεια): Έστω ότι ζυγίστηκαν εκ διαφοράς 125,6 mg πλαστικού. Με βάση τα δεδομένα του παραδείγματος 3.9, η αβεβαιότητα από το πιστοποιητικό υπολογίστηκε 0,11 mg. Άρα η σχετική τυπική αβεβαιότητα της ζύγισης είναι:

$$\frac{u(m)}{m} = \frac{0,11}{125,6} \approx 0,0009$$

Με βάση τη μέθοδο το διάλυμα που προκύπτει κατά τη χώνευση του πλαστικού αραιώνεται στα 50 mL. Άρα θα πρέπει να συμπεριληφθεί η αβεβαιότητα του όγκου της ογκομετρικής φιάλης. Τα δεδομένα είναι όμοια με αυτά του παραδείγματος 3.11 με εξαίρεση ότι δεν θα ληφθεί υπόψη η συνεισφορά της επαληψιμότητας γιατί έχει ήδη συνυπολογιστεί στα πειράματα αναπαραγωγιμότητας. Έτσι η αβεβαιότητα στον όγκο, με βάση τα δεδομένα είναι:

$$u(V) = \sqrt{u_1(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{0,012^2 + 0,024^2} = 0,027 \approx 0,03 \text{ mL}$$

Και η σχετική αβεβαιότητα:

$$\frac{u(V)}{V} = \frac{0,03}{50} = 0,0006$$

Συνήθως οι αβεβαιότητες πρέπει να ποσοτικοποιούνται χρησιμοποιώντας κάποια δεδομένα. Υπάρχουν όμως περιπτώσεις όπου δεν είναι δυνατός ο απευθείας υπολογισμός της αβεβαιότητας και που ο αναλυτικός χημικός πρέπει να κάνει μια εκτίμηση της τιμής της. Συνήθως αυτή βασίζεται σε προηγούμενη εμπειρία, η οποία μπορεί να βρεθεί και στη διεθνή βιβλιογραφία.

Παράδειγμα 5.8 : Η εκτίμηση αβεβαιότητας της διήθησης έγινε με βάση τη βιβλιογραφία [17], και εκτιμήθηκε τυπική αβεβαιότητα $u_F = 0,03$. Ο συντελεστής διόρθωσης του αποτελέσματος λόγω διήθησης θεωρείται μονάδα ($F_F = 1$) και επομένως η σχετική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$\frac{u_F}{F_F} = 0,03$$

5.1.4. Υπολογισμός της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας

Από τις συνιστώσες αβεβαιότητας που έχουν υπολογιστεί στα προηγούμενα στάδια υπολογίζεται η συνδυασμένη αβεβαιότητα με βάση τις εξισώσεις (6) και (7). Επειδή οι πηγές της αβεβαιότητας έχουν διαφορετικές μονάδες, η συνδυασμένη αβεβαιότητα υπολογίζεται συνήθως ως σχετική τυπική αβεβαιότητα στις χημικές μετρήσεις.

Παράδειγμα 5.1 (συνέχεια): Έχοντας υπολογίσει τις συνιστώσες αβεβαιότητας για τη συνδυασμένη αβεβαιότητα θα χρησιμοποιήσουμε την εξίσωση (7). Οπότε η σχετική τυπική αβεβαιότητα ισούται:

$$\begin{aligned} \frac{u_c([Cd])}{[Cd]} &= \sqrt{\left(\frac{u_{bias}}{Cd_{CRM}}\right)^2 + RSD_r^2 + \left(\frac{u_c(C)}{C}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2 + \left(\frac{u(m)}{m}\right)^2} = \\ &= \sqrt{0,013^2 + 0,0180^2 + 0,02^2 + 0,0006^2 + 0,0009^2} \\ &\Rightarrow \frac{u_c([Cd])}{[Cd]} = 0,030 \end{aligned}$$

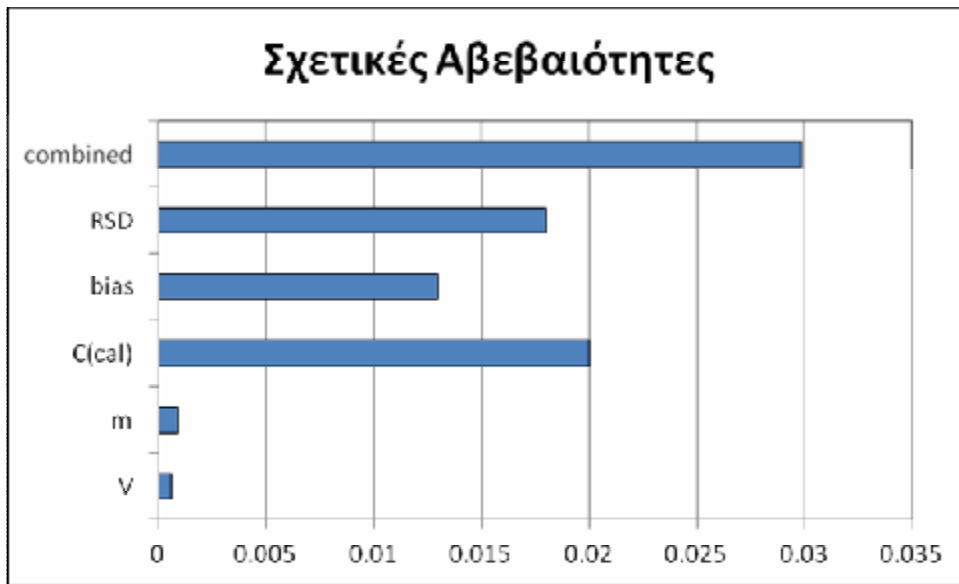
Υπολογίζοντας την περιεκτικότητα του δείγματος σε Cd (mg/Kg) από τη σχέση υπολογισμού της μεθόδου (βλ. §5.1.1) προκύπτει:

$$[Cd] = 254,8 \text{ mg/Kg}$$

Για τη συγκέντρωση αυτή η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_c([Cd]) = 0,030 \times 254,8 \approx 7,6 \text{ mg / Kg}$$

Στο παρακάτω γράφημα φαίνεται διαγραμματικά η συνεισφορά κάθε πηγής αβεβαιότητας στο τελικό αποτέλεσμα, καθώς και η συνδυασμένη αβεβαιότητα με τη μορφή σχετικών τυπικών αβεβαιοτήτων. Οι πηγές με τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι η βαθμονόμηση, η αβεβαιότητα από τα τυχαία σφάλματα και τα συστηματικά σφάλματα της μεθόδου. Τέλος η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων είναι αρκετά μεγάλη (>30%) ώστε να πρέπει να συμπεριληφθεί στην συνολική αβεβαιότητα παρόλο που το t-test έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων του CRM από το πιστοποιητικό και τις μετρήσεις.



Υπολογισμός της διευρυμένης τυπικής αβεβαιότητας. Από τον Πίνακα 3.1 παρατηρούμε ότι για στάθμη εμπιστοσύνης 95% (ή ακριβέστερα 95,45%) ο συντελεστής κάλυψης είναι $k = 2$. Οπότε η διευρυμένη αβεβαιότητα είναι:

$$U = 2 \times u_c$$

και για το συγκεκριμένο παράδειγμα:

$$U([Cd]) = 2 \times u_c([Cd]) = 2 \times 7,6 = 15,2 \text{ mg / Kg}$$

Επομένως γράφουμε ότι η περιεκτικότητα του Cd στο δείγμα πλαστικού είναι:

$$(255 \pm 15) \text{ mg/Kg}$$

5.2. Εκτίμηση της αβεβαιότητας κατά Nordtest

Η πολυπλοκότητα της εφαρμογής στις μετρήσεις της μεθοδολογίας του GUM, σε ορισμένες περιπτώσεις, έγινε αιτία να προταθούν διαφορετικές προσεγγίσεις για την εκτίμηση της αβεβαιότητας, που πολλές φορές δεν βασίζονται στη μαθηματική μοντελοποίηση που προτείνει ο GUM, αλλά σε περισσότερο πρακτικές μεθόδους εκτίμησης της αβεβαιότητας. Έτσι από το Nordtest προτάθηκε μια άλλη μεθοδολογία για την εκτίμηση της αβεβαιότητας σε περιβαλλοντικά εργαστήρια σε πρώτη φάση, η οποία στη συνέχεια υιοθετήθηκε από την EUROLAB στην τεχνική της αναφορά για την αβεβαιότητα [18]. Η μεθοδολογία βασίζεται στην εξής αρχή [19]:

- Ακρίβεια Μέτρησης = πιστότητα + ορθότητα
- Αβεβαιότητα Μέτρησης = ενδοεργαστηριακή Αναπαταγωγιμότητα + αβεβαιότητα συστηματικών σφαλμάτων (περιλαμβανομένου του ίδιου του “bias” εάν δεν είναι στατιστικά σημαντικό)

Δηλαδή η εκτίμηση της συνολικής αβεβαιότητας είναι ο συνδυασμός της αβεβαιότητας των τυχαίων σφαλμάτων με την αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων. Το παραπάνω μπορεί να εκφραστεί μαθηματικά ως εξής:

$$u_c = \sqrt{u(R_w)^2 + u(bias)^2} \quad (13)$$

Όπου:

$u(R_w)$, η αβεβαιότητα από την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα
 $u(bias)$, η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων.

Παρατήρηση: οι συμβολισμοί μπορεί να διαφέρουν στην εκάστοτε οδηγία, στην περίπτωση μας χρησιμοποιούμε τους συμβολισμούς της οδηγίας του Nordtest [12].

5.2.1. Υπολογισμός Ενδοεργαστηριακής Αναπαραγωγικότητας

Αυτό που τονίζεται στην εκτίμηση της αναπαραγωγικότητας από την οδηγία Nordtest είναι ότι θα πρέπει να καλύπτει όλη την αναλυτική διαδικασία, σε όσο το δυνατόν περισσότερες μήτρες, σε όλο το εύρος συγκεντρώσεων, καθώς και να καλύπτει όλες τις σε βάθος χρόνου .. Γι' αυτό προτείνεται για την εκτίμηση της αναπαραγωγικότητας να υπάρχουν ιδανικά πάνω από 50 μετρήσεις σε χρονικό διάστημα τουλάχιστον ενός έτους. Με βάση αυτό οι μεθοδολογίες εκτίμησης της αναπαραγωγικότητας διακρίνονται σε 3 κύριες κατηγορίες:

1. Σταθερά δείγματα ελέγχου που καλύπτουν όλη την αναλυτική διαδικασία, δηλαδή ένα δείγμα που αντιπροσωπεύει τα δείγματα ρουτίνας του εργαστηρίου.
2. Σταθερά δείγματα ελέγχου που δεν καλύπτουν όλη την αναλυτική διαδικασία, στις περιπτώσεις όπου δεν είναι εφικτή η ύπαρξη δειγμάτων ελέγχου που να καλύπτουν πλήρως όλες τις διαδικασίες ή τις μήτρες των δειγμάτων.
3. Ασταθή δείγματα ελέγχου άρα δεν είναι εφικτή η μακροχρόνια εκτίμηση.

Η πρώτη κατηγορία είναι ακριβώς η ίδια με την EURACHEM, όπου η αβεβαιότητα υπολογίζεται από την τυπική απόκλιση των τιμών του δείγματος και η σχετική αβεβαιότητα προκύπτει από RSD των τιμών σε περισσότερα του ενός επίπεδα συγκεντρώσεων. Η μόνη διαφορά είναι ότι η διαδικασία πραγματοποιείται για μεγάλο χρονικό διάστημα και μεγάλο αριθμό αποτελεσμάτων ($n > 50$).

Στην δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα δείγματα ελέγχου (CRM, RM κ.α.) έχουν διαφορετική μήτρα από τα φυσικά δείγματα ρουτίνας ή δεν καλύπτουν όλη την αναλυτική μεθοδολογία. Τότε για να εκτιμηθεί ορθότερα η αναπαραγωγικότητα προτείνεται παράλληλα με την ανάλυση του δείγματος ελέγχου σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων να πραγματοποιείται και διπλή ανάλυση του φυσικού δείγματος για την εκτίμηση των συνιστωσών που δεν καλύπτει το δείγμα ελέγχου. Έτσι επιπλέον από το δείγμα ελέγχου εκτελούνται διπλές μετρήσεις φυσικών δειγμάτων που παρέχουν την επαναληψιμότητα, σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων και τα αποτελέσματα τοποθετούνται σε ένα %R-διαγράμμα (%R-Chart). Η εκτίμηση της τυπικής απόκλισης και κατ' επέκταση της τυπικής αβεβαιότητας από το εύρος των διπλών αναλύσεων γίνεται μέσω του παρακάτω τύπου [12]:

$$s = \frac{R}{d_2} \quad (14)$$

Όπου

R: το εύρος των μετρήσεων, $R_{\max}-R_{\min}$

d_2 : συντελεστής που εξαρτάται από τον αριθμό των προσδιορισμών και για $n = 2$, $d_2 = 1,128$

Από το %R-Chart εκτιμάται μόνο η επαναληψιμότητα των φυσικών δειγμάτων. Στη συνέχεια εκτιμάται η τυπική αβεβαιότητα της πιστότητας από το συνδυασμό των δύο συνιστωσών, της αναπαραγωγιμότητας του δείγματος ελέγχου, όπως αναφέρθηκε παραπάνω και της επαναληψιμότητας των διπλών προσδιορισμών των φυσικών δειγμάτων.

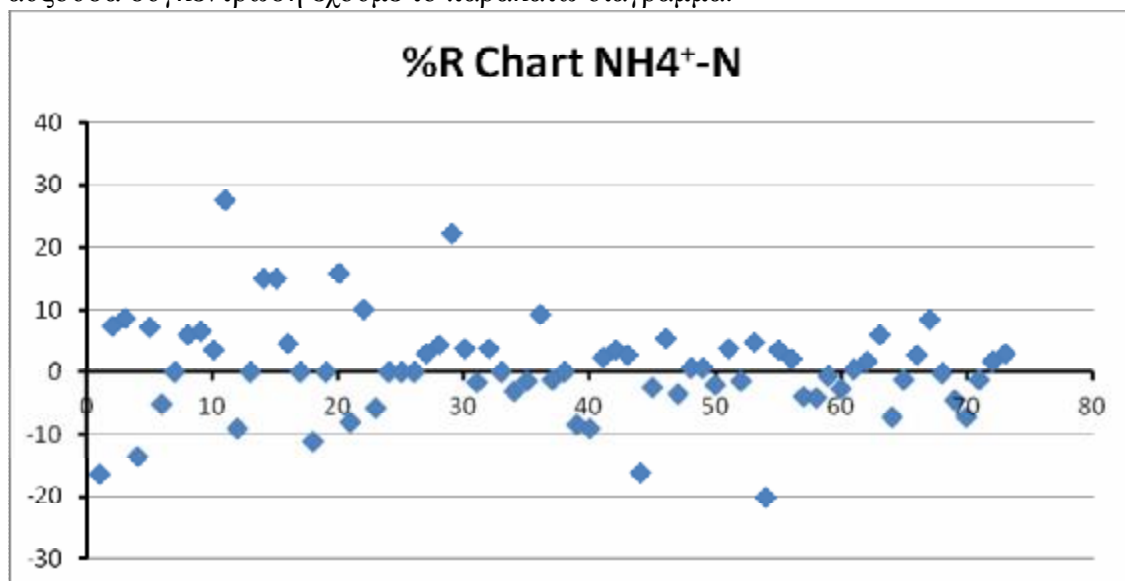
Παράδειγμα 5.9: Κατά το φωτομετρικό προσδιορισμό του Αμμωνίου σε νερά με βάση τη μέθοδο EN ISO 11732.11 έγινε εκτίμηση της αναπαραγωγιμότητας σε δύο επίπεδα (20 g/L και 250 g/L) από μετρήσεις δειγμάτων ελέγχου διάρκειας ενός έτους. Η επεξεργασία των μετρήσεων έδωσε τα εξής αποτελέσματα:

	Μέση τιμή (g/L)	Αριθμός μετρήσεων n	Τυπική απόκλιση (g/L)*	%RSD**
Δείγμα Ελέγχου 1	20,01	75	0,5	2,5
Δείγμα Ελέγχου 2	250,3	50	3,7	1,5

*Η τυπική απόκλιση ταυτίζεται με την τυπική αβεβαιότητα.

**Το RSD ταυτίζεται με τη σχετική τυπική αβεβαιότητα.

Παράδειγμα 5.10: Στο παράδειγμα 5.9 αν θεωρήσουμε ότι το δείγμα ελέγχου δεν καλύπτει όλες τις μήτρες του δείγματος, παράλληλα κατασκευάζεται το %R Chart για κάθε φυσικό δείγμα το ίδιο χρονικό διάστημα. Βάζοντας τα δεδομένα κατά αύξουσα συγκέντρωση έχουμε το παρακάτω διάγραμμα:



Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρείται ότι από ένα σημείο και μετά η διακύμανση των ευρών είναι μικρή. Το σημείο αυτό είναι για συγκέντρωση 15 g/L. Επομένως μπορούμε να κάνουμε εκτίμηση της αβεβαιότητας σε δύο επίπεδα

συγκεντρώσεων, για συγκεντρώσεις μικρότερες του 15 g/L και για μεγαλύτερες του 15 g/L. Από τα πρωτογενή δεδομένα και με βάση τον τύπο 14 προκύπτει από το %R-Chart:

Εύρος συγκεντρώσεων	Μέση τιμή (μg/L)	Μέσο εύρος (%)	Τυπική απόκλιση (μg/L)*	RSD (%)**
2-15 μg/L	6,5	6,44	0,37	5,71
>15 μg/L	816	4,08	29,6	3,63

*ταυτίζεται με την τυπική αβεβαιότητα.

**ταυτίζεται με την σχετική τυπική αβεβαιότητα.

Οπότε η εκτίμηση της αβεβαιότητας της πιστότητας υπολογίζεται από τα παραπάνω δεδομένα από το συνδυασμό των δύο αβεβαιοτήτων για κάθε επίπεδο συγκεντρώσεων:

	Συνιστώσα αβεβαιότητας δείγματος ελέγχου (%)	Συνιστώσα αβεβαιότητας φυσικού δείγματος (%R-Chart)	Αβεβαιότητα πιστότητας $\sqrt{u_{CRM}^2 + u_{\%R}^2}$ (%)
Χαμηλές συγκεντρώσεις	2,5	5,71	6,23
Υψηλές συγκεντρώσεις	1,5	3,63	3,92

Παρατήρηση: Τα πρωτογενή δεδομένα και οι πράξεις αναλυτικά βρίσκονται στο οδηγό Nordtest [12].

Τελευταία περίπτωση για την εκτίμηση της πιστότητας είναι σε ασταθή δείγματα. Αυτά αποτελούν ένα δύσκολο τμήμα για την εκτίμηση της αβεβαιότητας. Η εκτίμηση μπορεί να γίνει από την ανάλυση διπλών δειγμάτων (R-Chart ή %R-Chart). Ωστόσο ο συγκεκριμένος τρόπος εκτίμησης της αβεβαιότητας δίνει την εντός-μέρας διακύμανση χωρίς να συμπεριλαμβάνει τη μακροπρόθεσμη διακύμανση. Άρα το εργαστήριο θα πρέπει παράλληλα να θεσπίσει διαδικασία ώστε να εκτιμηθεί η μακροπρόθεσμη αβεβαιότητα. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί παραδείγματος χάριν με την μέτρηση ενός προτύπου διαλύματος για ένα χρονικό διάστημα και να υπολογιστεί η τυπική απόκλιση από μέρα σε μέρα. Περισσότερες λεπτομέρειες αναφέρονται στη οδηγία της Nordtest [12].

5.2.2. Υπολογισμός Σφάλματος Μεθόδου και Εργαστηρίου u(bias).

Η εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων που προτείνεται στον οδηγό Nordtest γίνεται με βάση πιστοποιημένα υλικά αναφοράς (CRM), διεργαστηριακές μετρήσεις και από πειράματα ανακτήσεων. Η κύρια κατεύθυνση σύμφωνα με τον οδηγό είναι ο υπολογισμός των συστηματικών σφαλμάτων βάσει δύο συνιστωσών:

- Το σφάλμα (bias), υπολογίζεται ως η % διαφορά της υπολογιζόμενης τιμής από την πραγματική (αποδεκτή) τιμή:

$$bias = \frac{x_{\text{upol ogizomenh}} - x_{\text{apodektj}}}{x_{\text{apodektj}}} \quad (15)$$

- Η αβεβαιότητα της πραγματικής (αποδεκτής) τιμής, όπως προκύπτει από τα πιστοποιητικά $u(C_{\text{ref}})$ ή $u(C_{\text{recovery}})$.

Επομένως ο υπολογισμός της αβεβαιότητας του συστηματικού σφάλματος γίνεται με βάση τον τύπο:

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2} \quad (16)$$

Όπου το RMS_{bias} ορίζεται ως $\sqrt{\frac{\sum (bias)^2}{n}}$, δηλαδή η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων όλων των σφαλμάτων (% διαφορά) που έχουν υπολογιστεί δια τον αριθμό αυτών.

Στις περιπτώσεις όπου η εκτίμηση έγινε με τη χρήση ενός μόνο CRM, τότε το RMS_{bias} (n=1) ισούται με το bias και παράλληλα προσθέτουμε και ένα ακόμη παράγοντα που αφορά την τυπική απόκλιση των μετρήσεων του CRM, όπως αναφέρεται και στη EURACHEM. Ειδικότερα η εξίσωση (16) γίνεται:

$$u(bias) = \sqrt{(bias)^2 + \left(\frac{s_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u(C_{ref})^2} \quad (17)$$

Παρακάτω αναφέρεται αναλυτικά για κάθε περίπτωση πως γίνεται ο υπολογισμός της αβεβαιότητας.

5.2.2.1. Πιστοποιημένο Υλικό Αναφοράς

Η εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων από ένα υλικό αναφοράς υπολογίζεται από την εξίσωση (17), ενώ όταν έχουν χρησιμοποιηθεί πάνω από ένα CRM χρησιμοποιείται η εξίσωση (16). Το $u(C_{\text{ref}})$ είναι η αβεβαιότητα του πιστοποιητικού και υπολογίζεται, όπως ακριβώς και στην οδηγία της EURACHEM.

Παράδειγμα 5.11: Κατά την ανάλυση ενός CRM φυσικού νερού για τον προσδιορισμό αμμωνιακών ιόντων βρέθηκε η μέση τιμή ότι είναι 11,9 και η τυπική απόκλιση 0,26 μg/L (n=12). Η αποδιδόμενη τιμή του πιστοποιητικού ήταν $11,5 \pm 0,5$ μg/L για 95% στάθμη εμπιστοσύνης. Να υπολογισθεί η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων.

Λύση: Αφού η τιμή του πιστοποιητικού είναι για 95% στάθμη εμπιστοσύνης τότε η $u(C_{\text{ref}})$ υπολογίζεται όπως στην οδηγία της Eurachem και θεωρείται ότι ακολουθεί κανονική κατανομή.

$$u(C_{ref}) = \frac{0,5}{1,96} = 0,26 \text{ και η \% σχετική αβεβαιότητα } u(C_{ref}) = \frac{0,26}{11,5} \times 100 = 2,22\% .$$

Το %σφάλμα υπολογίζεται από την εξίσωση (15).
 $(bias) = \frac{11,9 - 11,5}{11,5} \times 100 = 3,48\%$.

Τέλος αφού έχουμε μόνο ένα CRM, υπολογίζουμε και την αβεβαιότητα της προσδιοριζόμενης τιμής $\frac{s_{bias}}{\sqrt{n}} = \frac{2,2}{\sqrt{12}} = 0,635$, όπου s_{bias} είναι το %RSD, ώστε όλοι οι παράγοντες να είναι στην ίδια μορφή. Επομένως από την εξίσωση (17) έχουμε:

$$u(bias) = \sqrt{2,22^2 + 3,48^2 + 0,635^2} = 4,17\%$$

Παράδειγμα 5.12 : Παρακάτω δίνονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση 3 CRM που έχει αναλύσει ένα εργαστήριο. Να υπολογιστεί η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων.

CRM1: %(bias):3,48, s=2,2 (n=12), $u(C_{ref})=2,21\%$

CRM2: %(bias):-0,9, s=2,0 (n=7), $u(C_{ref})=1,8\%$

CRM3: %(bias):2,9, s=2,8 (n=10), $u(C_{ref})=1,8\%$

Λύση: Αφού υπάρχουν περισσότερα του ενός CRM ο υπολογισμός γίνεται από την εξίσωση (16).

$$RMS_{bias} = \sqrt{\frac{3,48^2 + (-0,9)^2 + 2,9^2}{3}} = 2,67\%$$

Και το $u(C_{ref})$ από το μέσο όρο των CRM.

$$u(C_{ref}) = \frac{2,21 + 1,8 + 1,8}{3} = 1,94\%$$

Άρα η συνολική αβεβαιότητα είναι

$$u(bias) = \sqrt{2,67^2 + 1,94^2} = 3,30\%$$

Παράδειγμα 5.13: Από τα δεδομένα του παραδείγματος 5.1 να υπολογιστεί η αβεβαιότητα του συστηματικού σφάλματος κατά Nordtest.

Λύση: Από τα δεδομένα του παραδείγματος 5.1 υπολογίζεται ο όρος (bias):

$$(bias) = \frac{199,1 - 197,9}{197,9} \times 100 = 0,61\%$$

ενώ οι υπόλοιποι όροι υπολογίζονται όπως στην οδηγία της EURACHEM, αλλά εκφράζονται ως %ποσοστό.

$$\frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{\%RSD}{\sqrt{6}} = \frac{1,29}{\sqrt{6}} = 0,527$$

$$u(C_{ref}) = \frac{4,8}{1,96} = 2,45 \text{ mg / Kg}$$

Εκφρασμένο ως ποσοστό

$$u(C_{ref}) = \frac{2,45}{197,9} \times 100 = 1,24\%$$

Επομένως η συνολική αβεβαιότητα του συστηματικού σφάλματος είναι:

$$u(\text{bias}) = \sqrt{0,61^2 + 0,53^2 + 1,24^2} = 1,48\%$$

Παρατηρήσεις:

1. Η Αβεβαιότητα που υπολογίστηκε από την Nordtest (= 0.0148) είναι λίγο μεγαλύτερη από αυτή της EURACHEM (= 0.013) γιατί προστέθηκε ο όρος (bias). Η προσθήκη του «bias» υποκαθιστά τις υπόλοιπες συνιστώσες που δεν λαμβάνει υπόψη η μεθοδολογία Nordtest (αβεβαιότητα εξοπλισμού, βαθμονόμησης, κλπ).
2. Στην οδηγία της Nordtest οι αβεβαιότητες συνήθως εκφράζονται ως %σχετική αβεβαιότητα σε αντίθεση με την οδηγία της EURACHEM όπου χρησιμοποιείται αυτούσια η σχετική αβεβαιότητα.

5.2.2.2. Διεργαστηριακές Δοκιμές Ικανότητας (Proficiency Test, PT)

Οι διεργαστηριακές δοκιμές ικανότητας αποτελούν τμήμα του εξωτερικού ελέγχου ποιότητας. Παράλληλα μπορούν να συμβάλουν στην εκτίμηση της αβεβαιότητας. Ωστόσο απαιτείται προσοχή στη χρήση των δεδομένων από τα διεργαστηριακά γιατί μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένη εκτίμηση της αβεβαιότητας. Βασιζόμενη σε αυτό η EUROLAB στην τεχνική οδηγία που εξέδωσε για τους εναλλακτικούς τρόπους εκτίμησης της αβεβαιότητας, επισημαίνει τα κριτήρια και τις προϋποθέσεις ώστε να είναι εφικτή η εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων μέσω δεδομένων που προκύπτουν από διεργαστηριακές δοκιμές [19].

Τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της χρήσης των διεργαστηριακών στην εκτίμηση της αβεβαιότητας έχουν ήδη αναφερθεί στο εισαγωγικό κείμενο του εδαφίου 5.1.3.2. Για να έχουμε ορθή εκτίμηση της αβεβαιότητας από τις διεργαστηριακές συγκρίσεις θα πρέπει να πληρούνται οι εξής προϋποθέσεις:

- Τα δείγματα θα πρέπει να είναι όσο το δυνατό αντιπροσωπευτικά των δειγμάτων ρουτίνας.
- Η αποδιδόμενη τιμή (assigned value) να έχει την κατάλληλη αβεβαιότητα.
- Ο αριθμός των συμμετοχών σε διεργαστηριακές δοκιμές να είναι κατάλληλος. Προτείνεται ως ελάχιστος αριθμός συμμετοχών 6, μέσα όμως σε κατάλληλο χρονικό διάστημα.
- Τέλος, στις περιπτώσεις όπου η αποδεκτή τιμή είναι η αποδιδόμενη από τα εργαστήρια (consensus value), τότε ο αριθμός των συμμετεχόντων θα πρέπει να είναι ικανοποιητικός. (Αρκετά μεγάλος για να γίνει σωστή εκτίμηση της αποδιδόμενης τιμής).

Για τον υπολογισμό χρησιμοποιείται η εξίσωση (16). Αναλυτικότερα πρώτα μετατρέπεται το z-score σε %διαφορά για κάθε διεργαστηριακή συμμετοχή και στη συνέχεια υπολογίζεται το RMS_{bias} . Στη συνέχεια το $u(C_{\text{ref}})$ υπολογίζεται από τον τύπο:

$$u(C_{\text{ref}}) = \frac{S_R}{\sqrt{n}} \quad (18)$$

Όπου:

S_R : η μέση τιμή των % RSD όλων των εργαστηρίων των διεργαστηριακών δοκιμών.

n : η μέση τιμή των συμμετεχόντων στις διεργαστηριακές δοκιμές.

Παράδειγμα 5.14: Τα αποτελέσματα των διεργαστηριακών δοκιμών ενός εργαστηρίου για τον προσδιορισμό της αφλατοξίνης από το 2000-2003 δίνονται

στον παρακάτω πίνακα. Να υπολογισθεί η αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων.

Έτος	Συγκέντρωση (μg/L)		z-score	RSD	n
	Lab	Consensus			
2000	17.6	14	1.20	0.214	20
2000	2.79	2.98	-0.30	0.213	55
2001	2.57	2.59	-0.04	0.193	92
2001	2.25	1.89	0.90	0.212	40
2001	14.4	16.10	-0.50	0.211	45
2003	11.4	9.1	1.20	0.211	24
2003	3.38	3.3	0.10	0.242	67

Από τα παραπάνω δεδομένα θα πρέπει να υπολογισθεί το (bias) και $u(C_{ref})$. Έτσι για το πρώτο διεργαστηριακό:

Μετατροπή του RSD σε SD:

$$SD = RSD \times Consensus_Val = 0,214 \times 14 = 2,994$$

Μετατροπή του z-score σε %bias. Το z-score πολλαπλασιάζεται με το SD οπότε υπολογίζεται η διαφορά και διαιρώντας με την αποδιδόμενη τιμή υπολογίζεται το (bias).

$$\%bias = \frac{z - score \times SD}{Consensus_Val} \times 100 = \frac{1,20 \times 2,996}{14} \times 100 = 25,7$$

Αντίστοιχα γίνεται για όλα τα διεργαστηριακά. Το συνολικό bias υπολογίζεται από το RMS_{bias} των διεργαστηριακών συμμετοχών.

Για το $u(C_{ref})$ υπολογίζεται ο μέσος όρος των %RSD¹ και ο μέσος όρος των συμμετεχόντων και ο όρος υπολογίζεται με βάση την εξίσωση (18). Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται αναλυτικά τα αποτελέσματα.

Έτος	Συγκέντρωση (μg/L)		z-score	Σφάλμα (%)	%RSD	RSD	SD	n
	Lab	Consensus Val						
2000	17.6	14	1.20	25.7	21.4	0.214	3.00	20
2000	2.79	2.98	-0.30	-6.4	21.3	0.213	0.635	55
2001	2.57	2.59	-0.04	-0.8	19.3	0.193	0.500	92
2001	2.25	1.89	0.90	19.0	21.2	0.212	0.401	40
2001	14.4	16.10	-0.50	-10.6	21.1	0.211	3.40	45
2003	11.4	9.1	1.20	25.3	21.1	0.211	1.92	24
2003	3.38	3.3	0.10	2.4	24.2	0.242	0.799	67
Μέσος όρος					21.4			49
RMS _{bias}				16.131				

Άρα για το $u(C_{ref})$ έχουμε:

¹ Χρησιμοποιείται το %RSD για να υπάρχουν οι ίδιες μονάδες και στο RMS_{bias} και στο $u(C_{ref})$.

$$u(C_{ref}) = \frac{\%RSD}{\sqrt{n}} = \frac{21,4}{\sqrt{49}} = 3,053$$

Άρα η αβεβαιότητα του συστηματικού σφάλματος από τις διεργαστηριακές δοκιμές και με βάση την εξίσωση (16) είναι:

$$u(bias) = \sqrt{RMS_{bias}^2 + u(C_{ref})^2} = \sqrt{16,13^2 + 3,053^2} = 16,4\%$$

5.2.2.3. Ανάκτηση

Τελευταία εναλλακτική μεθοδολογία για την εκτίμηση των συστηματικών σφαλμάτων είναι μέσω της ανάκτησης του αναλύτη από εμβολιασμένα δείγματα. Αντίστοιχα, για τις ανακτήσεις χρησιμοποιείται η εξίσωση (16) και το $u(C_{ref})$ αντιστοιχεί στην αβεβαιότητα της ανάκτησης $u(C_{recovery})$ και δίνεται από τον τύπο:

$$u(C_{recovery}) = \sqrt{u(conc)^2 + u(vol)^2} \quad (19)$$

όπου:

$u(conc)$: η αβεβαιότητα της συγκέντρωσης του διαλύματος όπως δίνεται από το πιστοποιητικό του πυκνού διαλύματος.

$u(vol)$: η αβεβαιότητα των όγκων που χρησιμοποιήθηκαν στον εμβολιασμό

Αντίστοιχα το RMS_{bias} υπολογίζεται από τη διαφορά της ανάκτησης από το 100% που θεωρείται το ιδανικό.

Παράδειγμα 5.15: Ένα εργαστήριο κατά την εκτίμηση της αβεβαιότητας των συστηματικών σφαλμάτων κατά Nordtest υπολόγισε τις ανακτήσεις 6 εμβολιασμένων δειγμάτων. Οι ανακτήσεις που βρέθηκαν ήταν 98, 95, 97, 96, 99, 96. Ενώ ο όγκος του διαλύματος που εμβολιάστηκε στο δείγμα ήταν 0,5 mL και η αβεβαιότητα του κατασκευαστή της πιπέτας ήταν 1,0% και η επαναληψιμότητα πιπέτας του εργαστηρίου 0,5%. Το πιστοποιητικό του πυκνού διαλύματος που έγινε ο εμβολιασμός έδινε αβεβαιότητα 1,2% για 95% στάθμη εμπιστοσύνης. Να υπολογιστεί η αβεβαιότητα του συστηματικού σφάλματος.

Λύση: Αρχικά, όσο αφορά την αβεβαιότητα του όγκου υπολογίζουμε όποιον παράγοντα γνωρίζει το εργαστήριο (κατασκευαστή ή επαναληψιμότητα εργαστηρίου), στην περίπτωσή μας είναι διαθέσιμα και τα δύο οπότε χρησιμοποιούνται και τα δύο. Για την αβεβαιότητα του κατασκευαστή αφού δεν υπάρχει στάθμη εμπιστοσύνης θεωρείται ότι ακολουθεί τετραγωνική κατανομή άρα $\frac{1,0\%}{\sqrt{3}} = 0,5773\%$ και επομένως η αβεβαιότητα του όγκου είναι

$u(vol) = \sqrt{0,5773^2 + 0,5^2} = 0,763\%$. Αντίστοιχα, στην αβεβαιότητα της συγκέντρωσης είναι γνωστή η στάθμη εμπιστοσύνης οπότε υπολογίζεται η αβεβαιότητα της συγκέντρωσης θεωρώντας ότι ακολουθεί κανονική κατανομή

$$u(conc) = \frac{1,2\%}{1,96} = 0,612\%$$

Επομένως από την εξίσωση (19) έχουμε:

$$u(Crecovery) = \sqrt{0,763^2 + 0,612^2} = 0,979\% .$$

Στη συνέχεια από τις ανακτήσεις υπολογίζεται το (bias) ως η διαφορά της ανάκτησης από το 100% και όλες μαζί αθροίζονται με βάση τον τύπο του RMS_{bias} . Οπότε προκύπτει ότι $RMS_{bias}=3,44\%$. Άρα η τελική αβεβαιότητα των συστηματικών σφαλμάτων είναι:

$$u(bias) = \sqrt{3,44^2 + 0,979^2} = 3,58\%$$

5.2.3. Υπολογισμός συνολικής αβεβαιότητας

Ο υπολογισμός της συνολικής αβεβαιότητας δεν διαφέρει σε σχέση με την οδηγία της EURACHEM, καθώς υπολογίζεται από το συνδυασμό της αβεβαιότητας της πιστότητας και του συστηματικού σφάλματος, όπως περιγράφεται από την εξίσωση (13) και υπολογίζεται η διευρυμένη αβεβαιότητα πολλαπλασιάζοντας με τον παράγοντα κάλυψης.

Συγκρίνοντας τις δύο μεθόδους εκτίμησης της αβεβαιότητας έχουμε τις εξής διαφορές [18]:

- Η μεθοδολογία Nordtest χρησιμοποιεί μόνο τις συνεισφορές της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (R_w) και του συστηματικού σφάλματος (bias) σε σχέση με τη μεθοδολογία κατά EURACHEM που απαιτεί εκτίμηση όλων των συνιστωσών (εξοπλισμού, προτύπων, κλπ). Επομένως η μεθοδολογία Nordtest είναι πιο απλή και ταχύτερη.
- Στη μεθοδολογία Nordtest χρησιμοποιείται και η τιμή του «bias», ως υποκατάστατο των συνιστωσών αβεβαιότητας που δεν λαμβάνονται υπόψη. Απαιτείται προσοχή, εάν η τιμή του «bias» είναι μεγάλη σε σχέση με την αναπαραγωγιμότητα R_w τότε το «bias» δεν είναι τυχαία συνιστώσα και δεν πρέπει να συνυπολογίζεται στη ολική αβεβαιότητα.
- Ωστόσο η μεθοδολογία Nordtest απαιτεί να υπάρχει μακροχρόνιος και προσεκτικός σχεδιασμός για την εκτίμηση της αβεβαιότητας, έτσι ώστε η R_w να υπολογίζεται σε πραγματικά συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας, σε αντίθεση με τη μεθοδολογία EURACHEM όπου υπολογίζεται άμεσα η αβεβαιότητα.

5.3. Εναλλακτικές μεθοδολογίες εκτίμησης της αβεβαιότητας

Η μεγάλη ανάπτυξη των χρωματογραφικών αναλυτικών τεχνικών με φασματομετρία μαζών έχει διευρύνει το εύρος των αναλυτών που μπορούν να ταυτοποιηθούν και να ποσοτικοποιηθούν. Παράλληλα έχει δώσει τη δυνατότητα να αναπτυχθούν μέθοδοι για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό μεγάλου αριθμού αναλυτών (>100). Αυτές οι δυνατότητες των συζευγμένων τεχνικών (tandem, GC/MS, LC/MS) έκαναν εύκολη την ανάπτυξη πολυ-υπολειμματικών μεθόδων που αφορούν τον προσδιορισμό φυτοπροστατευτικών προϊόντων (φυτοφάρμακα) και κτηνιατρικών καταλοίπων (αντιβιοτικά).

Οι μέθοδοι όμως αυτές, όπως και αρκετές άλλες χημικές μέθοδοι, σε αντίθεση με τις φυσικές μεθόδους περιέχουν πολλά στάδια, όπως υποδειγματοληψία, εκχύλιση, παραγωγοποίηση κ.λ.π., καθώς επίσης και μεγάλο αριθμό αναλυτών με αποτέλεσμα να κάνουν την εκτίμηση της αβεβαιότητας πολύπλοκη, χρονοβόρα, και με πειράματα υψηλού κόστους. Αποτέλεσμα αυτής της διαπίστωσης ήταν να προταθούν μεθοδολογίες απλούστερες, όπου η εκτίμηση γίνεται με πρακτικό τρόπο και χωρίς ιδιαίτερη επιβάρυνση του εργαστηρίου.

Με βάση όλα τα παραπάνω οι μεθοδολογίες για την εκτίμηση της αβεβαιότητας χωρίστηκαν σε δύο μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται η προσέγγιση της αβεβαιότητας [20]:

«**Bottom-up ή component-by-component**» προσέγγιση. Σ' αυτή η αβεβαιότητα εκτιμάται για κάθε στάδιο της μεθόδου ξεχωριστά. Οπότε η μέθοδος χωρίζεται σε πρωτογενείς διεργασίες, για κάθε μια από τις οποίες υπολογίζεται η αβεβαιότητα. Επομένως για να εφαρμοσθεί αυτή η μεθοδολογία πρέπει οι διεργασίες της μεθόδου να είναι γνωστές με λεπτομέρεια. Το πλεονέκτημά της προσέγγισης αυτής είναι ότι οι διεργασίες της μεθόδου είναι κατανοητές και πλήρως ξεκαθαρισμένες [20]. Μια τέτοια μεθοδολογία είναι η οδηγία του GUM, καθώς και η βασική μεθοδολογία της EURACHEM αν και με την νέα έκδοση η οδηγία γίνεται πλέον ευέλικτη ως προς την χρήση άλλων προσεγγίσεων [3,4].

«**Top-down**» προσέγγιση. Αυτή βασίζεται στην εκτίμηση της αβεβαιότητας από την επικύρωση της μεθόδου και χρησιμοποιεί δεδομένα που προέρχονται από τα διάγραμμα ελέγχου ποιότητας (QC charts), αποτελέσματα διεργαστηριακών δοκιμών και δεδομένα της επικύρωσης [20]. Οι «top-down» προσεγγίσεις είναι πιο πρακτικές, απλές και αποτελούν κυρίως εμπειρικές μεθόδους εκτίμησης της αβεβαιότητας. Μια τέτοια προσέγγιση είναι η μεθοδολογία Nordtest που περιγράφηκε παραπάνω. Στη συνέχεια αναφέρονται μερικές ακόμη μεθοδολογίες.

5.3.1. Χρήση εξίσωσης Horwitz

Η εξίσωση Horwitz αποτελεί μία εμπειρική σχέση που προέκυψε από συνδυασμό πολλών δεδομένων διεργαστηριακών συγκρίσεων. Η εξίσωση υπολογίζει τη διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα από τη συγκέντρωση του αναλύτη. Οι μορφές της εξίσωσης που χρησιμοποιούνται είναι:

$$s_R = 0,02 \times c^{0,8495} \quad (20)$$

$$\%RSD_R = 2^{1-0,5 \log c} \quad (21)$$

ή ισοδύναμα

$$\%RSD_R = 2 \times c^{-0,1505} \quad (22)$$

Όπου:

c: η συγκέντρωση του αναλύτη σε g/g.

s_R: η εκτιμώμενη διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (τυπική απόκλιση)

%RSD_R: η εκτιμώμενη εκατοστιαία σχετική διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα

Από τις παραπάνω εξισώσεις η πλέον συχνά χρησιμοποιούμενη είναι η εξίσωση (21) και για να υπολογιστεί η διευρυμένη αβεβαιότητα πρέπει να πολλαπλασιαστεί η διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα με τον αντίστοιχο παράγοντα κάλυψης.

Η χρήση της εξίσωσης Horwitz πλεονεκτεί ως προς της απλότητά της, το εύρος συγκεντρώσεων, καθώς επίσης ότι εμπεριέχει τη διακύμανση μεταξύ εργαστηρίων και αναλυτών επειδή έχει προέλθει μέσα από μεγάλο αριθμό διεργαστηριακών δοκιμών. Ωστόσο η χρήση της θα πρέπει να γίνεται με προσοχή, καθώς υπόκεινται σε περιορισμούς που αφορούν τη γενική εφαρμοσιμότητα του μοντέλου, δηλαδή δεν είναι αυτονόητο ότι αντιπροσωπεύει την απόδοση του

εργαστηρίου, καθώς τα δεδομένα ήταν από ένα μεγάλο εύρος εργαστηρίων, συγκεντρώσεων αναλυτών και δειγμάτων, που η συμπεριφορά τους ήταν διαφορετική. Επίσης η εξίσωση κάνει εκτίμηση της σχετικής αναπαραγωγιμότητας που δεν είναι απαραίτητο ότι ταυτίζεται με την αβεβαιότητα για ένα συγκεκριμένο εργαστήριο. Έτσι οι κατευθυντήριες οδηγίες προτείνουν τη χρήση της εξίσωσης βοηθητικά και σε περιπτώσεις που δεν υπάρχουν άλλα δεδομένα για την εκτίμηση της αβεβαιότητας [20,21].

5.3.2. Εξίσωση Thomson

Αποτελεί τροποποίηση της εξίσωσης Horwitz που πρότεινε ο Thompson [20, 22, 23]:

$$s_R = \begin{cases} 0,22c, & , c < 1,2 \times 10^{-7} \\ 0,02c^{0,8495} & \\ 0,01c^{0,5} & , c > 0,138 \end{cases} \quad (23)$$

Ότι ισχύει για την εξίσωση Horwitz ισχύει και για την εξίσωση Thompson.

5.3.3. Fit-For-Purpose RSD (FFP-RSD)

Αποκλειστικά για μεθόδους που αφορούν υπολείμματα φυτοφαρμάκων η ευρωπαϊκή ένωση έχει υιοθετήσει για διοικητικές αποφάσεις τη χρήση «de facto» τιμής για την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα στο 25% της τιμής της συγκέντρωσης (FFP-RSD) [20] και επομένως για διευρυμένη αβεβαιότητα 50%. Η FFP-RSD έχει προκύψει από στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων διεργαστηριακών δοκιμών και έχει αποδειχθεί ότι σε μήτρες χωρίς μεγάλα ποσοστά λίπους, η συσχέτιση είναι πολύ καλή [21]. Ωστόσο προτείνεται η χρήση της σε περιπτώσεις που δεν υπάρχουν άλλα δεδομένα και σε κάθε περίπτωση θα πρέπει να αποδειχθεί η εγκυρότητά της από δεδομένα που θα προκύψουν από την επικύρωση ή από τη συμμετοχή σε διεργαστηριακές δοκιμές [20].

Παράδειγμα 5.16: Να υπολογιστεί η σχετική αναπαραγωγιμότητα με τους παραπάνω τρόπους για αναλύτη συγκέντρωσης 1 µg/Kg και 1 mg/Kg.

Λύση: Το πρώτο βήμα για να υπολογίσουμε την αβεβαιότητα είναι να μετατρέψουμε τη συγκέντρωση σε μονάδες g/g. Οπότε για κάθε αναλύτη η συγκέντρωση γίνεται 1×10^{-9} και 1×10^{-6} , αντίστοιχα. Στη συνέχεια εφαρμόζουμε τη σχέση στην εξίσωση (21) για να υπολογίσουμε τη σχετική αβεβαιότητα με βάση την εξίσωση Horwitz, ενώ για τον αναλύτη χαμηλής συγκέντρωσης υπολογίζουμε την αβεβαιότητα από το 1^ο μέλος της εξίσωσης Thompson και για τον αναλύτη υψηλής συγκέντρωσης ο υπολογισμός ταυτίζεται με την εξίσωση Horwitz (2^ο σκέλος εξίσωσης Thompson). Τέλος για την αβεβαιότητα FFP-RSD δεν χρειάζεται κάποιος υπολογισμός. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

	1µg/Kg	1mg/Kg
Horwitz	45	16
Thompson	22	16
FFP-RSD	25	25

Παρατηρούμε ότι στις χαμηλές συγκεντρώσεις η εξίσωση Horwitz δίνει μεγαλύτερη εκτίμηση της αναπαραγωγιμότητας, ενώ η FFP-RSD είναι μεγαλύτερη στην υψηλή συγκέντρωση. Η διευρυμένη αβεβαιότητα δίνεται το διπλάσιο της αναπαραγωγιμότητας.

Παράδειγμα 5.17: Ένα εργαστήριο βρήκε 0,40 mg/Kg του φυτοφαρμάκου chlorpyrifos σε δείγμα ντομάτας. Να υπολογιστεί η τυπική αβεβαιότητα και η διευρυμένη αβεβαιότητα για 95% στάθμη εμπιστοσύνης με τους παραπάνω τρόπους.

Λύση: Η μετατροπή των μονάδων της συγκέντρωσης σε g/g δίνει 4×10^{-7} . Επομένως θα χρησιμοποιήσουμε το πρώτο σκέλος της εξίσωσης Thompson. Κάνοντας τους υπολογισμούς έχουμε αντίστοιχα (Horwitz) 18,4%, (Thompson) 22%, και FFP-RSD 25%. Επομένως υπολογίζουμε την αβεβαιότητα και πολλαπλασιάζοντας με 2 υπολογίζουμε τη διευρυμένη αβεβαιότητα. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

mg/Kg	Τυπική Αβεβαιότητα	Διευρυμένη Αβεβαιότητα
Horwitz	0,073	0,15
Thompson	0,088	0,18
FFP-RSD	0,10	0,20

5.4. Εκτίμηση της αβεβαιότητας με τη χρήση προσομοιώσεων Monte Carlo

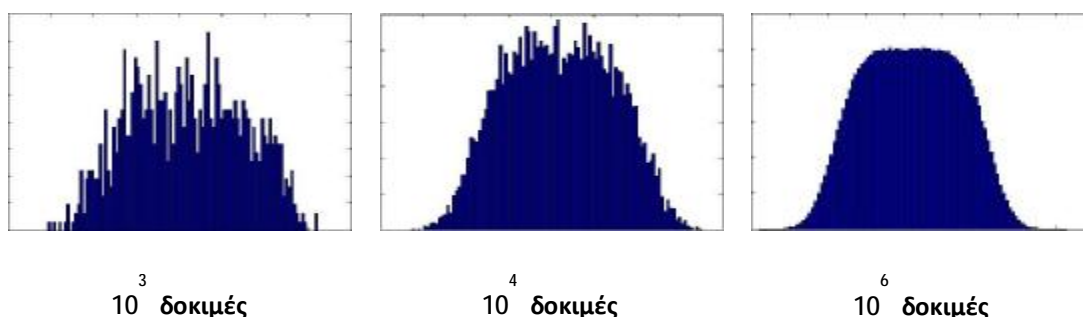
Το 2008 το BIMP στο πρώτο συμπλήρωμα του GUM που εξέδωσε πρότεινε μια διαφορετική προσέγγιση για την εκτίμηση της αβεβαιότητας [24]. Η μεθοδολογία αυτή χρησιμοποιεί για την εκτίμηση της αβεβαιότητας προσομοιώσεις Monte-Carlo (MC). Αποτελεί μια τελείως διαφορετική προσέγγιση της αβεβαιότητας σε σχέση με αυτές που προαναφέρθηκαν. Οι προσομοιώσεις MC βασίζονται στην παραγωγή μιας σειράς από ψευδο-τυχαίους αριθμούς από μία υπολογιστική μηχανή. Η κύρια χρήση της μεθόδου αυτής στα μαθηματικά είναι στην εκτίμηση (υπολογισμό) πολύπλοκων σχέσεων. Στην περίπτωση της εκτίμησης της αβεβαιότητας ο υπολογισμός της αβεβαιότητας γίνεται με την τυχαία δειγματοληψία μεγάλης ποσότητας αριθμών ($>10^6$) και την εφαρμογή καθενός στη σχέση υπολογισμού του μεγέθους. Από αυτό το μεγάλο αριθμό αποτελεσμάτων που θα προκύψουν μπορεί να υπολογιστεί αριθμητικά πλέον η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση, το διάστημα εμπιστοσύνης και η συνάρτηση κατανομής πιθανότητας (Probability Density Function, PDF) μέσα στην οποία κυμαίνονται τα αποτελέσματα. Η τελευταία δυνατότητα είναι που δίνει ένα επιπλέον πλεονέκτημα σε σχέση με τις προηγούμενες μεθόδους γιατί στις άλλες μεθοδολογίες εκτίμησης της αβεβαιότητας θεωρούμε ότι το τελικό αποτέλεσμα ακολουθεί κανονική κατανομή, γι' αυτό χρησιμοποιούμε ένα συγκεκριμένο συντελεστή κάλυψης, πράγμα που σε κάποιες περιπτώσεις μπορεί να μην ισχύει (αν και γενικά είναι σπάνιο στις χημικές αναλύσεις).

5.4.1. Υπολογισμοί στην μεθοδολογία Monte-Carlo

Για τους υπολογισμούς είναι απαραίτητη η χρήση υπολογιστή, καθώς και του αντίστοιχου προγράμματος. Υπάρχουν διάφορα προγράμματα για την εκτίμηση της

αβεβαιότητας με τη μεθοδολογία MC, όπως το WINCERT, Evaluator, MUSE, Uncertainty Manager, αλλά και προγράμματα στα οποία με τη χρήση πρόσθετων προγραμμάτων (add-ins) είναι δυνατή η εκτίμηση της αβεβαιότητας με τη μεθοδολογία MC [25]. Τέλος το MATLAB ως μαθηματικό πρόγραμμα περιέχει γεννήτρια παραγωγής τυχαίων αριθμών με αποτέλεσμα να είναι εφικτή η εφαρμογή της μεθοδολογίας MC, ωστόσο για να γίνει αυτό θα πρέπει ο χρήστης να έχει κάποιες γνώσεις προγραμματισμού ή χρήσης του προγράμματος ώστε να γίνουν και οι υπόλοιποι υπολογισμοί.

Το σημαντικότερο σημείο της μεθοδολογίας MC είναι ο αριθμός των δειγματοληψιών-δοκιμών που θα πραγματοποιηθούν. Ο αριθμός των δοκιμών (M) που θα πραγματοποιηθούν είναι πολύ σημαντικός για την αξιοπιστία του αποτελέσματος. Αν ο αριθμός των δοκιμών είναι μικρός, τότε μπορεί να μην υπάρχει σωστή εκτίμηση της PDF, οπότε να και μην έχουμε και σωστή εκτίμηση της αβεβαιότητας. Στο σχήμα 5.2 φαίνονται οι PDF που λαμβάνονται για αριθμό δοκιμών 10^3 , 10^4 και 10^6 . Παρατηρούμε ότι για μικρό αριθμό δοκιμών ($<10^3$) δεν είναι αξιόπιστη η εκτίμηση της μορφής που έχει η PDF, ενώ σε μεγαλύτερο αριθμό η μορφή της PDF διακρίνεται πιο ξεκάθαρα. Τέλος σε αρκετά μεγάλο αριθμό δοκιμών έχουμε ξεκάθαρη τη μορφή της PDF. Επομένως ο αριθμός των δοκιμών έχει σημαντικό ρόλο, καθώς αποτελεί σημείο που καθορίζει την αξιοπιστία του αποτελέσματος. Ως εκ τούτου έχουμε δύο τρόπους με τους οποίους μπορεί να γίνει η μεθοδολογία MC, είτε με **προκαθορισμένο αριθμό δοκιμών**, είτε με **προσαρμοσμένο αριθμό δοκιμών**. Κατά τον προκαθορισμένο αριθμό δοκιμών ο χρήστης ορίζει τον αριθμό των δοκιμών και το σύστημα εκτελεί όλες τις δοκιμές και προκύπτει το αποτέλεσμα. Στην περίπτωση αυτή ο χρήστης δεν μπορεί να επέμβει στο σύστημα. Επομένως για να έχουμε αξιόπιστο αποτέλεσμα με βάση την οδηγία του GUM για 95% διάστημα εμπιστοσύνης προτείνεται αριθμός δοκιμών $M = 10^6$ [25]. Στον προσαρμοσμένο αριθμό δοκιμών το πρόγραμμα αυξάνει προοδευτικά τον αριθμό των δοκιμών και παράλληλα ελέγχει τότε τα αποτελέσματα που λαμβάνονται είναι σταθερά, και όταν σταθεροποιηθεί το αποτέλεσμα σταματάει τις δοκιμές.



Σχήμα 5.2 Οι PDF που προκύπτουν για το ίδιο αποτέλεσμα με διαφορετικό αριθμό δοκιμών.

Επομένως τα βασικά στάδια για τη μεθοδολογία MC είναι τα εξής:

1. Ορισμός παραμέτρων.
2. Ορισμός PDF που συνεισφέρουν στην αβεβαιότητα του αποτελέσματος.
3. Παραγωγή (ψευδο-)τυχαίων αριθμών από τη μηχανή παραγωγής τυχαίων αριθμών.
4. Εφαρμογή στη σχέση υπολογισμού.
5. Έλεγχο σταθεροποίησης (μόνο για τον τρόπο προσαρμοσμένου αριθμού).

6. Υπολογισμός μέσης τιμής, τυπικής αβεβαιότητας και διαστήματος εμπιστοσύνης.



Σχήμα 5.3 Ο Αλγόριθμος που ακολουθείται για την εκτέλεση της μεθοδολογίας MC (με κόκκινο χρώμα είναι τα στάδια που αναφέρονται μόνο στον προσαρμοσμένο αριθμό).

Αναλυτικότερα για κάθε στάδιο:

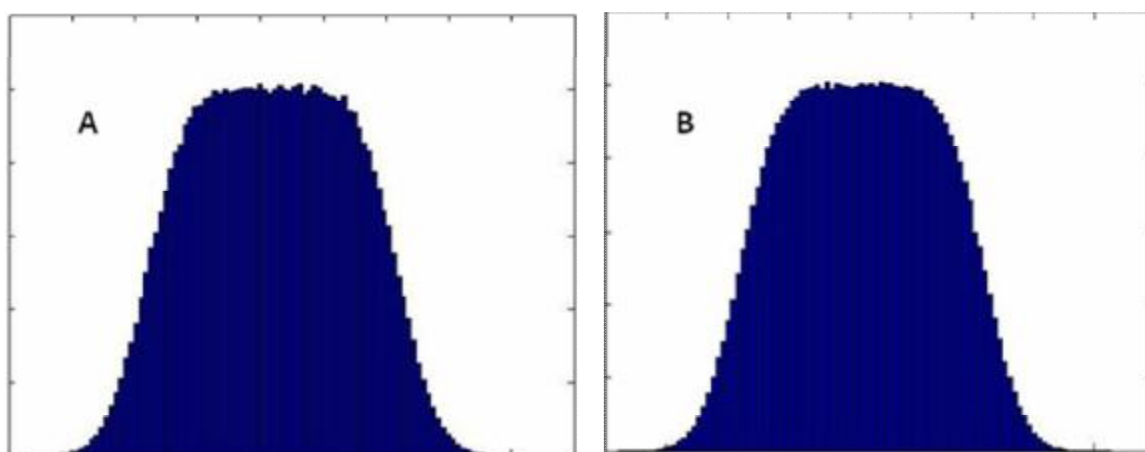
Ορισμός παραμέτρων. Οι βασικοί παράμετροι που απαιτούνται για την εκτέλεση της μεθοδολογίας είναι ο αριθμός δοκιμών (M), η στάθμη εμπιστοσύνης ($100 p\%$) και για τον προσαρμοσμένο αριθμό χρειάζεται και ο αριθμός των σημαντικών ψηφίων (n_{dig}) ώστε να μπορέσει να εφαρμοστεί το κριτήριο σταθεροποίησης. Επίσης στον προσαρμοσμένο αριθμό αν και το σύστημα υπολογίζει τον αριθμό των δοκιμών, ο χρήστης θα πρέπει να ορίσει τον ελάχιστο και το μέγιστο αριθμό δοκιμών που θα εκτελεί το σύστημα σε κάθε σειρά δοκιμών. Τέλος ο χρήστης θα πρέπει να ορίσει την σχέση υπολογισμού του αποτελέσματος ώστε να εφαρμοστεί στα επόμενα στάδια.

Ορισμός PDF που συνεισφέρουν στην αβεβαιότητα του αποτελέσματος. Ο ορισμός είναι απαραίτητος ώστε να μπορεί να γίνει η τυχαία δειγματοληψία από τη μηχανή παραγωγής. Αυτό το στάδιο μπορεί να είναι και ο ανασταλτικός παράγοντας ώστε να εφαρμοστεί η μεθοδολογία MC γιατί δεν είναι πάντα γνωστή η PDF.

Παραγωγή (ψευδο-)τυχαίων αριθμών και εφαρμογή στη σχέση υπολογισμού. Είναι δύο στάδια που γίνονται κατευθείαν από το υπολογιστή μέσω του προγράμματος και φυσικά λόγω του πολύ μεγάλου αριθμού δεδομένων που προκύπτουν αποθηκεύονται

στο σύστημα του υπολογιστή. Τα στάδια αυτά δεν είναι συνήθως προσβάσιμα στο χρήστη.

Έλεγχος σταθεροποίησης. Είναι ένα στάδιο που χρησιμοποιείται μόνο στον προσαρμοσμένο αριθμό. Ως κριτήριο σταθεροποίησης χρησιμοποιείται η αριθμητική ανοχή (numerical tolerance) δ που ορίζεται ως το ημιέυρος του μικρότερου δυνατού διαστήματος που περικλείει όλους εκείνους τους αριθμούς που μπορούν να εκφράσουν ένα συγκεκριμένο αποτέλεσμα με καθορισμένα σημαντικά ψηφία [25]. Ένα παράδειγμα είναι ο αριθμός 2,3 οποίος μπορεί να εκφραστεί με αριθμούς από 2,25 έως 2,34 επομένως η αριθμητική ανοχή είναι το ημιέυρος αυτού του διαστήματος δηλαδή 0,05 [25]. Με βάση τον GUM για να έχω σταθεροποίηση του αποτελέσματος πρέπει το διπλάσιο της τυπικής απόκλισης του αποτελέσματος να είναι μικρότερο από την αριθμητική ανοχή της αβεβαιότητας του αποτελέσματος [24]. Στο σχήμα 5.4 φαίνεται η διαφορά στις PDF με τους δύο τρόπους (προκαθορισμένο & προσαρμοσμένο αριθμό). Παρατηρούμε ότι με τον προσαρμοσμένο αριθμό απαιτείται μικρότερος αριθμός δοκιμών σε σχέση με τον προκαθορισμένο.



Σχήμα 5.4 Οι PDF που προκύπτουν για το ίδιο αποτέλεσμα με: A)προσαρμοσμένο ($7,3 \times 10^5$) & B)προκαθορισμένο (10^6) αριθμό δοκιμών.

Υπολογισμός μέσης τιμής, τυπικής απόκλισης-αβεβαιότητας, διαστήματος εμπιστοσύνης. Ο τρόπος υπολογισμού της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης δεν διαφέρει στους δύο τύπους προσομοίωσης, αλλάζουν μόνο τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται. Έτσι στον προκαθορισμένο αριθμό για τον υπολογισμό της μέσης τιμής και της τυπικής απόκλισης-αβεβαιότητας χρησιμοποιούνται οι εξισώσεις (24) και (25), όπου M ο συνολικός αριθμός των δοκιμών που πραγματοποιούνται.

$$\tilde{y} = \frac{1}{M} \sum_{r=1}^M y_r \quad (24), \quad u(\tilde{y}) = \sqrt{\frac{1}{M-1} \sum_{r=1}^M (y_r - \tilde{y})^2} \quad (25)$$

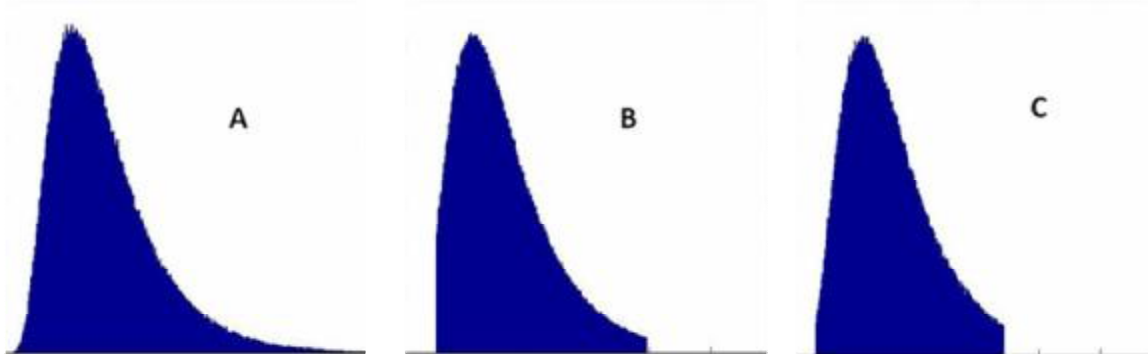
Στον τρόπο προσαρμοσμένου αριθμού σε κάθε σειρά δοκιμών, υπολογίζεται η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση της σειράς με βάση τις εξισώσεις (24) και (25) και από τα αποτελέσματα της κάθε σειράς δοκιμών υπολογίζεται η συνολική μέση τιμή και η τυπική απόκλιση μεταξύ των σειρών δοκιμών σύμφωνα με τις εξισώσεις (26) και

(27), όπου h είναι ο αριθμός των σειρών που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι εκείνη τη στιγμή.

$$y = \frac{1}{h} \sum_{r=1}^h y^{(r)} \quad (26), \quad s_y = \sqrt{\frac{1}{h(h-1)} \sum_{r=1}^h (y^{(r)} - y)^2} \quad (27)$$

Στη συνέχεια γίνεται έλεγχος σταθεροποίησης με βάση το προαναφερθέν κριτήριο και αν το κριτήριο δεν ικανοποιείται, τότε το h αυξάνεται κατά ένα και πραγματοποιείται νέα σειρά δοκιμών ακολουθώντας την ίδια διαδικασία. Όταν τα αποτελέσματα σταθεροποιηθούν, τότε υπολογίζεται η συνολική μέση τιμή και η τυπική αβεβαιότητα που προκύπτει από τις $h \times M$ δοκιμές (συνολικός αριθμός), αντίστοιχα από τις εξισώσεις (24) και (25).

Τέλος και με τις δύο μεθοδολογίες πρέπει να υπολογιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης. Με τη μεθοδολογία MC δίνεται το πλεονέκτημα από τη στιγμή που γνωρίζουμε τη συνάρτηση κατανομής να μπορεί ο χρήστης να υπολογίσει το διάστημα εμπιστοσύνης, σε αντίθεση με τις προηγούμενες μεθοδολογίες, όπου θεωρείται ότι το αποτέλεσμα ακολουθεί κανονική κατανομή χωρίς παράλληλα να υπάρχει κάποια απόδειξη γι' αυτό. Υπάρχουν δύο πιθανοί τρόποι που μπορεί να εκτιμηθεί το διάστημα εμπιστοσύνης. Ο πρώτος είναι με τη χρήση του πιθανοτικά συμμετρικού διαστήματος εμπιστοσύνης (probabilistically symmetric coverage interval) και ο δεύτερος με τη χρήση μικρότερου δυνατού διαστήματος εμπιστοσύνης (shortest coverage interval). Στο συμμετρικό διάστημα εμπιστοσύνης ανάλογα με τη συνάρτηση κατανομής υπολογίζεται το διάστημα εμπιστοσύνης αφαιρώντας συμμετρικά από τα δύο άκρα τις τιμές που δεν περιλαμβάνονται μέσα σ' αυτό. Παραδείγματος χάριν για 95% στάθμη εμπιστοσύνης αποκλείονται το 5% των τιμών, άρα το 2,5% των τιμών από το δεξιό άκρο και 2,5% από το αριστερό άκρο. Από την άλλη στο μικρότερο δυνατό διάστημα εμπιστοσύνης ξεκινώντας από το ένα άκρο υπολογίζονται τα πιθανά διαστήματα εμπιστοσύνης που έχουν 95% διάστημα εμπιστοσύνης και αυτό που δίνει τη μικρότερη τιμή διαφοράς μεταξύ της μέγιστης και της ελάχιστης τιμής είναι το επιθυμητό διάστημα. Με αυτό τον τρόπο εκτίμησης υπολογίζεται το διάστημα εμπιστοσύνης γύρω από την αναμενόμενη τιμή της συνάρτησης κατανομής. Ωστόσο η διαφορά αυτή των δύο προσεγγίσεων είναι εμφανής μόνο σε περιπτώσεις που η PDF δεν είναι συμμετρική, όπου η πρώτη προσέγγιση δίνει σαφώς λανθασμένα αποτελέσματα γιατί αποκλείει τιμές που έχουν μεγάλη πιθανότητα να εμφανιστούν καθότι δεν αποκλείει τιμές που βρίσκονται γύρω από την αναμενόμενη τιμή, αλλά συμμετρικά, σε αντίθεση με τη δεύτερη προσέγγιση. Πρακτικά τα παραπάνω φαίνονται στο σχήμα 5.5, όπου παρουσιάζεται λογαριθμική PDF η οποία εξ ορισμού είναι ασύμμετρη (A) και μετά φαίνεται η συνάρτηση αφού έχουν διαγραφεί όλες οι τιμές που δεν περιλαμβάνονται στο διάστημα εμπιστοσύνης 95% και με τους δύο τρόπους (B, C). Είναι εμφανές ότι ο υπολογισμός με το μικρότερο διάστημα υπολογίζει ορθότερα γύρω από την αναμενόμενη τιμή σε σχέση με τη συμμετρική θεώρηση του διαστήματος εμπιστοσύνης.

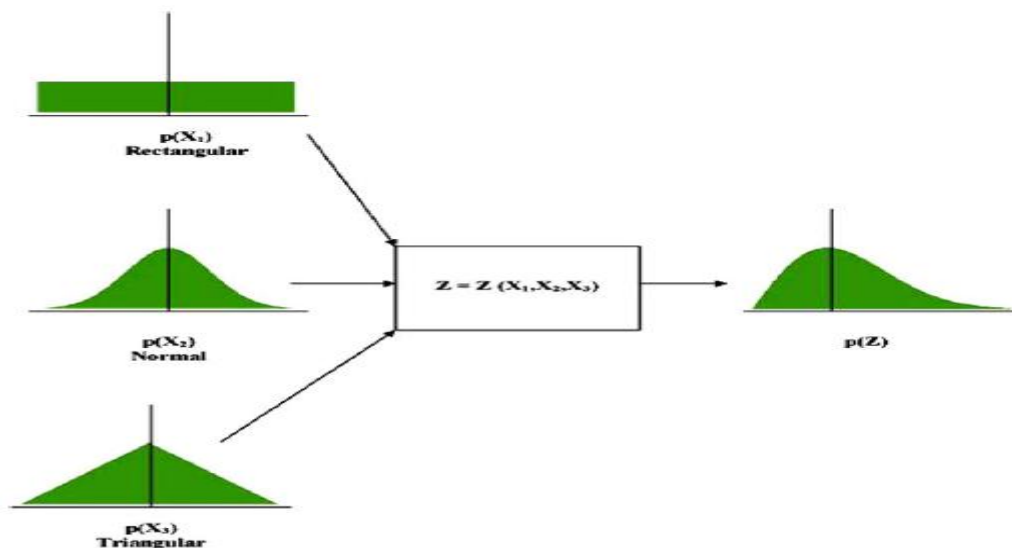


Σχήμα 5.5 Λογαριθμική PDF: A) ολόκληρη, B) συμμετρικό, C) μικρότερο δυνατό διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

5.4.2. Συγκριση κλασικής και Monte-Carlo μεθοδολογίας στην εκτίμηση της αβεβαιότητας

Από τις μεθοδολογίες εκτίμησης της αβεβαιότητας που αναφέρθηκαν μέχρι τώρα είναι εμφανές ότι οι μεθοδολογίες της EURACHEM και NORDETTEST βασίζονται στην ίδια νοοτροπία σε αντίθεση με τη μεθοδολογία MC, όπου βασίζεται σε μια εντελώς διαφορετική προσέγγιση. Από τα παραπάνω μπορούμε να συμπεράνουμε τα εξής [25,26]:

Η κλασική μεθοδολογία βασίζεται στην αρχή της διάδοσης της αβεβαιότητας (σειρά Taylor) και το θεώρημα του κεντρικού ορίου (κανονική κατανομή), ενώ η μεθοδολογία MC βασίζεται στην αρχή συνδυασμού των συναρτήσεων κατανομής, όπως φαίνεται και στο σχήμα 5.6. Έτσι η αβεβαιότητα στη μεθοδολογία MC υπολογίζεται πιθανοτικά σε αντίθεση με τις κλασικές προσεγγίσεις, όπου υπολογίζεται ντετερμινιστικά.



Σχήμα 5.6 Διάδοση των κατανομών για τυχαίο παράδειγμα χρησιμοποιώντας μια από τις πιο χαρακτηριστικές [26].

Οι κλασικές μεθοδολογίες υπόκεινται σε περιορισμό που αφορά τη γραμμικότητα του μοντέλου, καθώς αν δεν είναι γραμμικό το μοντέλο δεν ισχύουν οι εξισώσεις (6) και (7) που προκύπτουν από την 1^{ης} τάξης σειρά Taylor και θα πρέπει να εισαχθούν και

άλλες τάξεις κάνοντας το μοντέλο πολύπλοκο, πρόβλημα που δεν υφίσταται στην μεθοδολογία MC. Επίσης στις κλασικές μεθοδολογίες θεωρούμε de facto ότι το τελικό αποτέλεσμα ακολουθεί κανονική κατανομή, άρα και ο παράγοντας κάλυψης θεωρείται ίσος με 2 για στάθμη εμπιστοσύνης 95%, το οποίο δεν χρησιμοποιείται στη

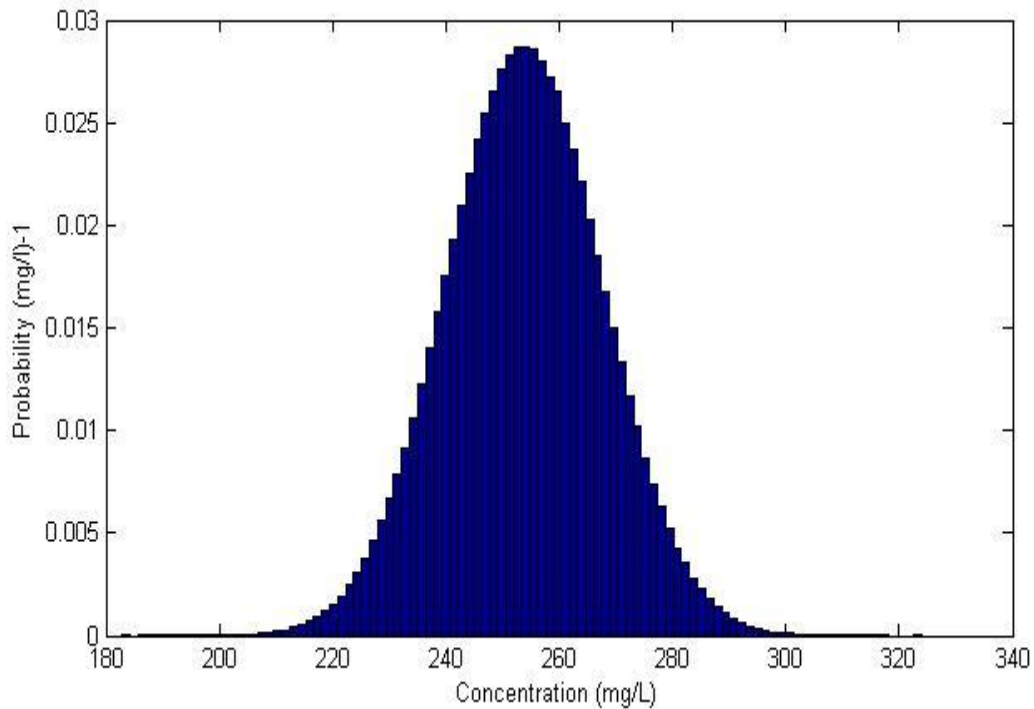
	Monte Carlo	EURACHEM
Μέση τιμή	253,80	254,80
Αβεβαιότητα	13,9	15,2
Διάστημα εμπιστοσύνης	[226,5, 280,9]	[239,6, 270]
Αριθμός Δοκιμών	$2,31 \times 10^6$	-

μεθοδολογία MC γιατί υπολογίζεται από τα αποτελέσματα το διάστημα εμπιστοσύνης, ανάλογα με την επιθυμία του χρήστη. Πάραλληλα όμως υπάρχουν και περιπτώσεις όπου οι κλασικές μέθοδοι υπερτερούν σε σχέση με τη μεθοδολογία MC, όπως όταν δεν είναι γνωστές όλες οι συνάρτησεις κατανομής των παραγόντων που επιδρούν στην αβεβαιότητα, οπότε η χρήση της μεθοδολογίας MC είναι αδύνατη. Τέλος ο χρόνος της προσομοίωσης είναι επίσης ένας ανασταλτικός παράγοντας για τη χρήση της μεθοδολογίας MC, καθώς σε πολύπλοκα μοντέλα ο χρόνος μπορεί να γίνει πολύ μεγάλος.

Παράδειγμα 5.18: Από τα δεδομένα του παραδείγματος 5.1 να υπολογιστεί η αβεβαιότητα με τη χρήση της μεθοδολογίας MC. Έχουμε τη σχέση υπολογισμού, την εξίσωση της καμπύλης αναφοράς, καθώς επίσης και τα δεδομένα που αφορούν την αβεβαιότητα του όγκου και της μάζας. Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι παράγοντες που επιδρούν στην αβεβαιότητα, καθώς και οι συναρτήσεις κατανομής για κάθε ένα από αυτούς.

	Κατανομή	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
Απορρόφηση	Κανονική	0,106	0,005
Μάζα	Τετραγωνική	125,00	0,14
Όγκος / πιστοποιητικό	Τετραγωνική	50,00	0,02
Όγκος / Θερμοκρασία	Τετραγωνική	0	$\pm 0,042$

Από τα παραπάνω δεδομένα εφαρμόζεται η μεθοδολογία MC και υπολογίζεται η αβεβαιότητα και προκύπτουν τα εξής αποτελέσματα και η αντίστοιχη συνάρτηση κατανομής:



Από τη σύγκριση των δύο αποτελεσμάτων φαίνεται ότι δεν διαφέρουν σημαντικά τα αποτελέσματα πράγμα που είναι αναμενόμενο καθότι και οι δύο συναρτήσεις κατανομής φαίνεται ότι ακολουθούν κανονική κατανομή.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] JCGM 200:2012, International Vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms. 3rd edition. 2008 with minor corrections.
- [2] EURACHEM GUIDE, Terminology in Analytical Measurement – Introduction to VIM 3, 1st edition, 2011.
- [3] EURACHEM GUIDE/CITAC Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2nd edition, 2000.
- [4] S L R Ellison and A Williams (Eds). Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third edition, (2012) ISBN 978-0-948926-30-3. Available from www.eurachem.org.
- [5] JCGM 100:2008, Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement, 1st edition, 2008 (GUM 1995 with minor corrections).
- [6] ISO/IEC 17025, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories, Geneva, Switzerland, 2nd edition, 2005.
- [7] Labnetwork.org. Chemical Lab. Uncertainty of measurement. <http://www.labnetwork.org/en/chemical-lab-recent/112-uncertainty-of-measurement> (Τελευταία επίσκεψη: 28-02-2012)
- [8] D. Luc Massart, B. G. M. Vandeginste, L. M. C. Buydens, S. de Jong, P. J. Lewi, J. Smeyers-Verbeke, Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A, Elsevier, Amsterdam, 1997.
- [9] M. Thompson, Estimation of Uncertainty in Atomic Spectrometry, Workshop, 10th BNASS, UK, 2000.

- [10] E. Hund, D. Luc Massart, J. Smeyers-Verbeke, Trends Anal. Chem., 20 (2001) 394–406.
- [11] A. Williams, Accred. Qual. Assur., 1 (1996) 14-17.
- [12] NORDTEST Technical Report 537: Handbook for calculation of measurements uncertainty in environmental laboratories. NORDTEST 2003 (www.nordtest.org).
- [13] T. P.J. Linsinger, Trends Anal. Chem., 27 (2008) 916-923.
- [14] B. Magnusson, S.L.R. Ellison, Anal Bioanal Chem, 390 (2008) 201-213.
- [15] A. Maroto, R. Boque, J. Riu, F. Xavier Riu, Accred. Qual Assur, 7 (2002) 90-94.
- [16] J. N. Miller and J. C. Miller, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, 5th ed., Pearson, Prentice Hall, 2005.
- [17] J. Hlavay, K. Polyak, Accred. Qual. Assur., 6 (2001) 310-316.
- [18] Κουμπάρης Μ., Εκτίμηση Αβεβαιότητας Αναλυτικών Μεθόδων με τη Μεθοδολογία Nordtest – Σύγκριση με Μεθοδολογία GUM-EURACHEM, 4^ο Συνέδριο Μετρολογίας, Αθήνα 2012.
- [19] EUROLAB Technical Report No 1/2007, Measurement Uncertainty revised: Alternative approaches to uncertainty evaluation, March 2007.
- [20] CAC/ GL 59-2006, Guidelines on estimation of uncertainty of results, Codex alimentarius, 2011.
- [21] L. Alder, W. Korth, A. L. Patey, H. A. Van der Schee, S. Schoeneweiss, J AOAC, 84 (2001) 1569-1577.
- [22] M. Thompson, Analyst, 125 (2000) 385-386.
- [23] P. Medina-Pastor, A. Valverde, T. Pihlstrom, S. Masselter, M. Gamon, M. Mezcuca, C. Rodriguez-Tirreblanc, A.R. Fernandez-Alba, J. Agr. Food Chem, 59 (2011) 7609-7619.
- [24] JCGM 101:2008, Evaluation of measurement data – Supplement 1 to the "Guide to the expression of uncertainty in measurement" – Propagation of distributions using a Monte Carlo method, 2008.
- [25] M. Solaguren-Beascoa Fernandez, J. M. Alegre Calderon, P. M. Bravo Diez, Accred Qual Assur 14 (2009) 95-106.
- [26] Herrador M. A. and Gonzalez A.G., Talanta, 64 (2004) 415-422.