

ODHAD NEJISTOT KVALITATIVNÍCH VÝSLEDKŮ ZKOUŠEK

UNCERTAINTY ESTIMATION OF THE QUALITATIVE TEST RESULTS

Otto DVORÁK
ottodvorak@cvut.cz

Abstract

The article briefly describes literary knowledges and presents an example of a possible statistical probability approach to uncertainties estimations of qualitative SPME - GC/MS chemical analyses of fire samples.

Key words

Qualitative chemical analysis, fire samples, SPME-GC/MS, uncertainty estimation, Bayes theorem.

Úvod

ČSN EN ISO/IEC 17025 [1] požaduje, aby zkušební akreditované a kalibrační laboratoře měly a používaly postupy pro stanovení nejistoty měření. Při jejich odhadování musí zvažovat všechny složky nejistoty za použití vhodných metod analýz. Zavádění koncepce stanovení nejistot výsledků zkoušek podle uvedené normy specifikuje mj. dokument ILAC č. G-17:2002 [2]. Již podle definice nejistoty (uncertainty) je patrné, že se týká kvantitativního výsledku měření/zkoušky. Definice a postupy odhadu nejistot uvádí např. tzv. GUM [4], norma ČSN P ENV 13005 [5] a řada dalších dokumentů, např. [6]–[8].

Účelem kvalitativních chemických analýz je v principu určit/ověřit látkovou podstatu analyzované látky/materiálu identifikací jedné nebo více složek s postačujícím výsledkem, např. ano/ne, nepravda (false)/pravda (true). Výše uvedený dokument [2] konstatuje, že „se stále zvažuje, jak aplikovat nejistotu měření u kvalitativních testů. Jedním z přístupů je stanovení pravděpodobnosti nesprávně vyjádřených pozitivních nebo negativních výsledků. Za tímto účelem byla ustanovena mezinárodní pracovní skupina, která má připravit příslušný dokument. Stručnou literární studii v této oblasti je článek S. L. R. Ellisona a kol. [15]. Uvádí mj.: – *kvalitativní chem. analýzy mohou být chápány jako mnohem důležitější než kvantitativní, které pracují s předpokladem správnosti identifikace látky/látek, které jsou předmětem kvantifikace, – selektivita, specifická, detekční limit, falešné pozitivní a falešné negativní hodnocení jsou relevantními parametry pro interpretaci kvalitativních výsledků, – zavádí termín „jistota identifikace“ (identification certainty) jako parametr kvantifikující míru jistoty následně klasifikace. Stručně rekapituluje publikované práce se závěrem, že Bayesův teorém představuje solidní rámec pro vyjádření nejistoty klasifikace (zatřídění), která se obvykle provádí na základě výsledku kvalitativní zkoušky/zkušební analýzy. Uvádí příklad aplikace tohoto teorému ve forenzní vědě, např. k identifikaci typu krve, skla, DNA [11]–[12].*

Je zřejmé, že tyto postupy lze aplikovat též při kvalitativních měřeních/zkouškách/analýzách obecně. Např. chromatografické metody jsou frekventovaně užívány chemickými laboratořemi k chemickým analýzám vzorků za tímto účelem.

1 Bayesův teorém

Možnosti statistického vyhodnocení kvantitativních výsledků laboratorních měření/zkoušek autor již popsal [9]. Postup je v principu aplikovatelný též na výsledky např. kvantitativních chemických analýz.

Základní vztah Bayesova teorému dle rovnice č. 3 a č. 4 lze odvodit ze známých vztahů, viz např. [14], pro podmíněnou pravděpodobnost hypotézy H vzhledem k experimentu/důkazu E , $P(H/E)$, rovnice (1) a naopak podmíněné pravděpodobnosti experimentálního důkazu E vzhledem k hypotéze H ($P(E/H)$, rovnice (2).

$$P(H/E) = \frac{P(H \cap E)}{P(E)} \quad (1)$$

$$P(E/H) = \frac{P(H \cap E)}{P(H)} \quad (2)$$

kde:

$P(H \cap E)$ je pravděpodobnost průniku hypotézy H a experimentálního důkazu E ,
 $P(H)$ a $P(E)$ jsou nepodmíněné, tzv. „apriorní“ pravděpodobnosti hypotézy H a důkazu E a
 jsou rozdílné od nuly,
 $P(H/E)$ a $P(E/H)$ jsou podmíněné, tzv. „aposteriorní“ pravděpodobnosti.

$$P(H/E) = \frac{P(H) \cdot P(E/H)}{P(E)} \quad (3)$$

$$P(E/H) = \frac{P(E) \cdot P(H/E)}{P(H)} \quad (4)$$

Když vyjádříme $P(E)$ pomocí známého vztahu (5), jeho dosazením do rovnice 3 lze odvodit další praktický tvar Bayesova teorému, viz rovnice (6).

$$P(E) = P(H \cap E) + P(\bar{H} \cap E) = P(E/H) \cdot P(H) + P(E/\bar{H}) \cdot P(\bar{H}) \quad (5)$$

kde \bar{H} je doplněk hypotézy /události H (opačná hypotéza/událost) a platí, že $P(\bar{H}) + P(H) = 1$.

$$P(H/E) = \frac{P(H) \cdot P(E/H)}{P(H) \cdot P(E/H) + P(E/\bar{H}) \cdot P(\bar{H})} \quad (6)$$

V praxi bývá využíván též poměrový tvar Bayesovy rovnice, viz (7).

$$\frac{P(H/E)}{P(\bar{H}/E)} = \frac{P(H)}{P(\bar{H})} \cdot \frac{P(E/H)}{P(E/\bar{H})} \quad (7)$$

kde:

zlomek na levé straně rovnice $\frac{P(H/E)}{P(\bar{H}/E)}$ je *aposteriorní poměr šancí/nadějí* hypotézy H
 vzhledem k experimentu E (posteriori odds),

zlomek $\frac{P(H)}{P(\bar{H})}$ je *apriorní poměr šancí/nadějí* hypotézy H vzhledem k její negaci (priori odds),

a výraz $\frac{P(E/H)}{P(E/\bar{H})}$ je tzv. *věrohodnostní poměr (LR – likelihood ratio)*.

2 Aplikace Bayesova teorému pro potřebu kvalitativních chemických analýz

Pro aplikaci výše uvedených vztahů je pro názornost vybrán příklad frekventovaně se vyskytujících chemických analýz vzorků z požářiště na obsah akceleračních (převážně automobilového benzínu (AB) a motorové nafty (NM)) k potvrzení či vyvrácení hypotézy žhářství. Postup hodnocení nejistoty této hypotézy na základě výsledku testů lze vyjádřit následujícími kroky:

2.1 Zajištění vstupních dat – chemického složení odebraných vzorků

- AB [16]:

charakteristika	výsledek/složení
Destilační rozmezí (°C)	(30–210)
Uhlovodíkové složení (% obj)	- Olefiny: max. 18, typicky cca 10
	- Aromáty: max. 35, typicky (30–35) z toho benzen: max. 1, cca 0,7
	- Parafiny (n+i+cyklo): zbytek do 100
	- charakteristické analyty: Etery (obvykle MTBE): max. 15 (může být ETBE) a Ethanol (bioethanol), max. 5,
Celkový obsah kyslíku (% m/m)	max. 2,7
Obsah síry (mg/kg)	max. 10

- NM [16]:

charakteristika	výsledek/složení
Destilační rozmezí (°C)	(180–360)
Uhlovodíkové složení (% obj.)	- Aromáty: (20–30), z toho polyaromáty max 8
	- Parafiny (n+i+cyklo): zbytek do 100 z toho n-alkany (10–25)
	- charakteristické analyty: Pristan, Phytan, - FAME (MEŘO): max. 7
Obsah síry (mg/kg)	max. 10

Vysvětlivka:

ETBE Ethyl - terc. butylether

FAME Methylester nenasycených kyselin

MEŘO Methylester řepkového oleje

MTBE Methyl - terc. butylether

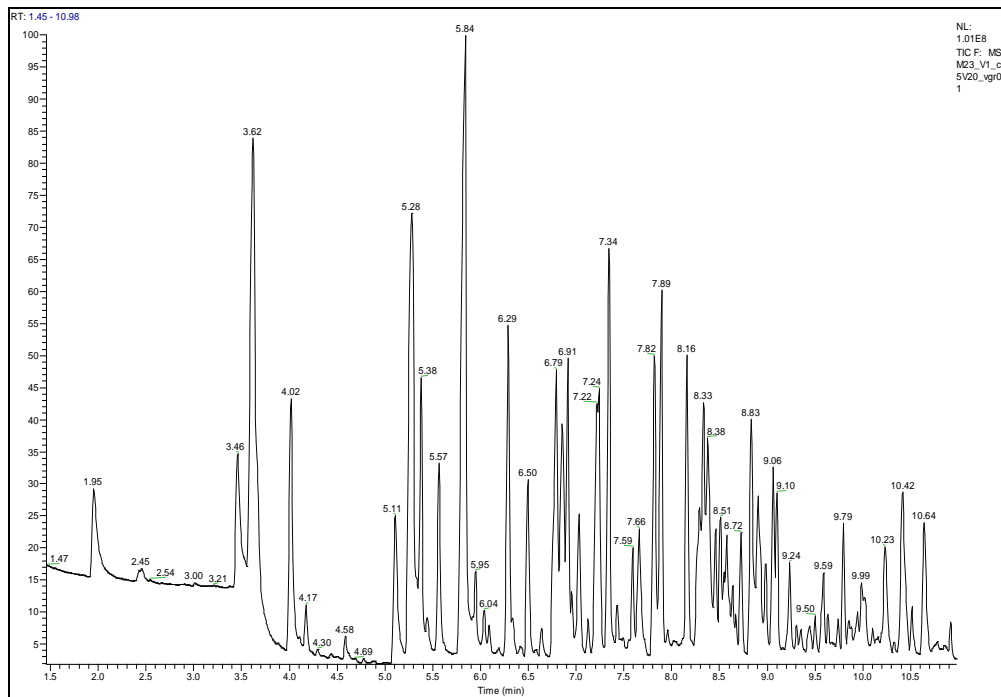
Phytan 2,6,10,14 - tetramethylhexadekan

Pristan 2,6,10,14 - tetramethylpentadekan

Pro potřebu validace techniky SPME (Mikroextrakce na tuhou fázi) – GC/MS (plynová chromatografie/hmotnostní spektroskopie) byl připraven SWS (sekundární pracovní standard) z bezolovnatého AB odpařeného ze 75 % v roztoku metanolu o koncentraci 5000 µg/ml (Restek).

K výpočtům validačních parametrů byly užity výšky píků vybraných chemických sloučenin v elektronických jednotkách z vyhodnocovacího chromatografického programu Xcalibr.

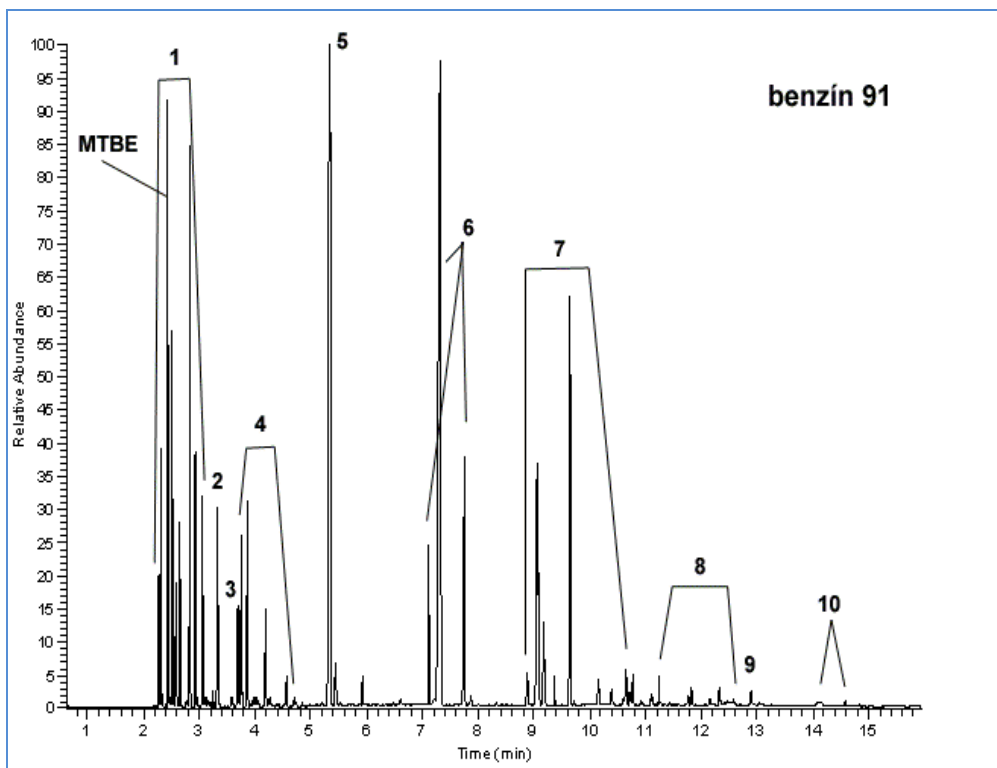
Obecně lze konstatovat, že vypařováním vzorku, degradačními změnami, přítomností zplodin hoření se charakteristické profily obou paliv mění. Interpretace chromatogramů proto vyžaduje zkušenost, viz obr. č. 1 s tab. č. 1 a pro porovnání obr. č. 2 a tab. č. 2.



Obr. 1
Chromatogram SWS [17]

Tabulka 1
Charakteristické složky nalezené metodou GC-MS ve vzorku SWS [17]

Retenční čas [min]	Název analytu
1,95	toluen
3,52	ethylbenzen
3,62	m-p-xylen
4,02	o-xylen
5,84	1,2,4 -trimethylbenzen
7,34	2- dimethyl-1-4-ethylbenzern
10,42	2- methylnaftalen
10,64	1- methylnaftalen



Obr. 2

Chromatogram vzorku čerstvého AB (GC – přímý nástřik 0,3 μ l vzorku) [17]

Tabulka 2

Charakteristické složky nalezené metodou GC-MS ve vzorku čerstvého AB [17]

označení	Název složky
1, 3, 4	Skupina C5 - C8 nasycených alkanů
MTBE	Terc. butyl-methylether (CAS: 1634-04-4)
2	Benzen
5	Toluen
6	Izomery xylenů
7	skupina C3 alkyl-benzenů
8	skupina C4 (C5) alkyl- benzenů
9	Naftalen
10	Izomery 1 methylnaftalenů
atd. (AB - celkem asi 300 - 400 složek)	

Obecně lze opět konstatovat, že vypařováním vzorku, degradačními změnami, přítomností zplodin hoření se charakteristické profily obou paliv mění. Interpretace chromatogramů proto vyžaduje zkušenost.

2.2 Citlivost, detekční limit pro hledané analyty, linearita, opakovatelnost a selektivita aplikované metody chem. analýzy

Vhodnost analytického postupu technikou SPME-GC/MS pro daný účel byl validován studií, kterou byly stanoveny analytické charakteristiky: citlivost, mez detekce, linearita, selektivita a mez opakovatelnosti. Použitá terminologie:

Analyt = složka vzorku stanovená analýzou.

Citlivost metody = je definována jako rozdíl v koncentraci analytu, který vyvolá odezvu měř. přístroje (S) větší, než je trojnásobek úrovně šumu pozadí (N). Pro lineární závislost se jedná o směrnici přímky (první derivace rovnice přímky).

Mez detekce (LOD-Limit of Detection) = nejmenší koncentrace analytu, která ještě vyvolá odezvu měřicího systému rozpoznatelnou od ostatních vlivů s přijatelnou statistickou jistotou = $3 h_n/m$ (podíl šumu základní linie a směrnice kalibr. přímky).

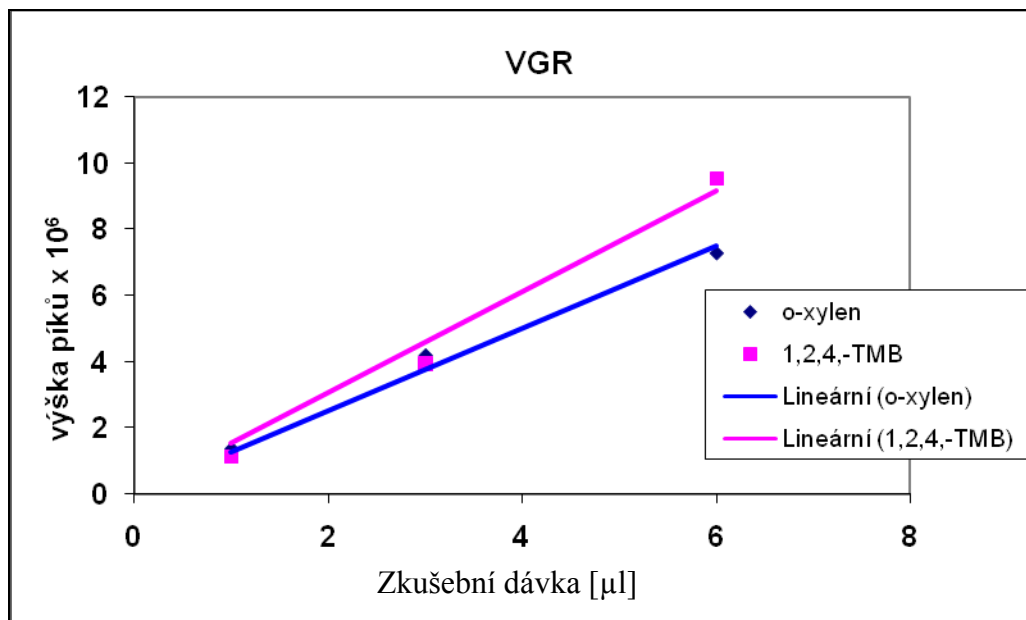
Linearita = přímková závislost mezi dvěma, např. analytickým signálem a koncentrací analytu. Těsnost vzájemné závislosti charakterizuje korelační koeficient $R = \Sigma(x_i \cdot y_i) / (\Sigma x_i^2 \Sigma y_i^2)^{1/2}$ shody mezi závislou veličinou (výškou píku) a nezávislou veličinou (koncentrací analytu v roztoku SWS). Vyjadřuje se směrnici regr. přímek (TIC hodnoty versus koncentrace analytu).

Mez opakovatelnosti = hodnota, o níž lze s pravděpodobností 95 % předpokládat, že bude pod ní ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu mezi dvěma výsledky zkoušek/měření naměřených za podmínek opakovatelnosti. Vyjadřuje se směrodatnou odchylkou r pro hladinu významnosti 0,95 pro 5 analýz (Studentův koeficient rozpětí 3,86).

Selektivita = v TIC záznamech je dostatečná rozlišitelnost mezi jednotlivými píky.

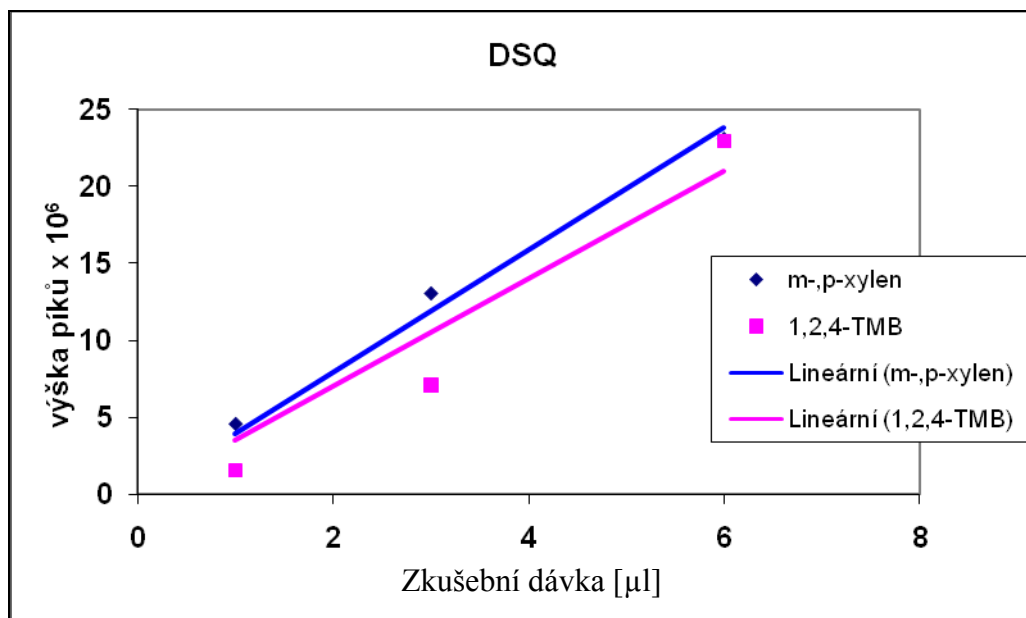
x... číselné vyjádření plochy píků TIC (total ion chromatogram) záznamu v elektronických jednotkách určených pomocí chromatografického programu Xcalibur.

Kalibrace: Kalibrační bylo ověřováno, zda odezva u různě koncentrovaných směsí má lineární průběh. Na vrstvu stejného množství vyžíhaného písku v plechových odběrových nádobách byl nanesen referenční roztok SWS v rozdílných zkušebních dávkách m_1 (μl); m_2 (μl) a m_3 (μl) k vytvoření 3 rozdílných koncentrací pro konstrukci kalibračních přímek. Po analýze na obou výše zmíněných chromatogramech byly vyneseny kalibrační přímky, viz obr. č. 3 a 4, a u vybraných složek vypočteny parametry uvedené v tabulce č. 3.



Obr. 3

Kalibrační přímka – Plynový chromatograf GC 8000 Top s hmotnostním spektroskopem MS: Voyager (Thermo Quest Finnigan) [17]



Obr. 4

Kalibrační přímka – Plynový chromatograf Trace GC Ultra s hmotnostním spektroskopem MS: DSQ II (Thermo Electron Corporation) [17]

Vyhodnocené validační charakteristiky, viz tabulka č. 3.

Tabulka 3
Výsledky kalibrace s referenčním roztokem SWS [17]

GC-MS	VGR	DSQ	VGR	DSQ
analyt parametr	o-xylen	1,2,4-TMB	m-p-xylen	1,2,4-TMB
Citlivost (směrnice kal. p.)	1,253	1,525	3,962	3,492
Mez detekce (LOD) ^x	3801087	8144842	99404691	81662592
Linearita (R)	0,992	0,990	0,994	0,961
Mez opakovatelnosti r ^x	66467301	876281118	127900702	105034905

2.3 Zavedení symbolů a jejich definic

Předpokládejme:

H ... symbol značí hypotézu přítomnosti analytu ve vzorku, pozitivní výsledek,

\bar{H} ... hypotéza nepřítomnost hledaného analytu ve vzorku,

E ... důkaz (pozitivní výsledek analýzy),

$P(H)$... apriorní pravděpodobnost H (předtím, než byla provedena chemická analýza s důkazem E),

\bar{E} ... důkaz (pozitivní výsledek chemické analýzy),

\bar{E} ... důkaz (negativní výsledek chem. analýzy),

$P(E/H)$...pravděpodobnost kladného důkazu E (přítomnosti analytu) za předpokladu H , že analyt je přítomen. Pokud je experimentální výsledek pozitivní, blíží se tato pravděpodobnost 1. Není tomu tak, pokud naměřená koncentrace je v blízkosti detekčního limitu přístroje/analyt. metody. V tom případě je výhodné počítat pravděpodobnost podle vztahu (8).

$$P(E/H) = 1 - P(\bar{E}/H) \quad (8)$$

když $P(\bar{E}/H)$ je pravděpodobnost falešně negativního výsledku (výsledek je negativní, i když je analyt přítomen),

$P(E/\bar{H})$ je pravděpodobnost falešně pozitivního výsledku chemické analýzy (výsledek je pozitivní, i když analyt není přítomen),

$P(H/E)$ je „aposteriorní“ pravděpodobnost přítomnosti analytu ve vzorku vzhledem k experimentálnímu důkazu, výsledku chemické analýzy E ,

$P(E/H) = 1$ pokud byl pokusem akcelarant nalezen. Výjimkou je případ, kdy je naměřená koncentrace analytu v blízkosti detekčního limitu.

Pro interpretaci rovnice 3 lze předpokládat:

když $P(H/E) = 0,5$, pravděpodobnost správnosti hypotézy je 50 %,
 $= 0,99$, pravděpodobnost správnosti hypotézy je s jistotou 99 %.

Při interpretaci výsledků podle rovnice (6) je navržena následující stupnice hodnot $P(H/E)$:

$< 0,5$ hypotéza zhárství je irelevantní,
 $0,5$ hypotéza zhárství není potvrzena ani vyvrácena,

- $>0,5$ a $\leq 0,7$ hypotéza žhářství je pravděpodobná,
 $>0,7$ a $\leq 0,8$ hypotéza žhářství je vysoce pravděpodobná,
 $> 0,8$ hypotéza žhářství je relevantní s jistotou.

3 Příklady výpočtu a interpretace jejich výsledků

3.1 podle rovnice (6)

Vstupní data na základě experimentálních zkušeností autora a výsledky výpočtu jsou uvedeny v tab. č. 4.

Tabulka 4
Výpočet $P(H/E)$ na základě výsledku chem. analýzy odebraného vzorku

$P(H)$	$P(\bar{H})$	$P(E/H)$	$P(E/\bar{H})$	$P(\bar{E}/H)$	$P(H/E)$
0,5	0,5	0,99	0,03	0,01	0,9706
0,95	0,05	0,99	0,03	0,01	0,9843

Výsledky lze v obou případech interpretovat s vysokou jistotou oprávněnosti hypotézy žhářství. Je-li apriorní pravděpodobnost hypotézy $P(H)$ zvýšena na hodnotu 0,95 (např. proto, že vzorek byl odebrán v místě, kde ho označil vycvičený/certifikovaný pes), zvýší se též jistota správnosti hypotézy.

3.2 podle rovnice (7)

Po dosažení údajů podle tab. č. 4 vychází v prvním případě hodnota

$$\frac{P(H/E)}{P(\bar{H}/E)} = (0,5/0,5) \cdot (0,99/0,03) = 1 \cdot 33 = 33$$

a v druhém případě

$$\frac{P(H/E)}{P(\bar{H}/E)} = (0,95/0,05) \cdot (0,99/0,03) = 1,9 \cdot 33 = 62,7$$

když $LR = 33$.

V prvním i druhém případě lze výsledky interpretovat tak, že hypotéza žhářství je relevantní/byla potvrzena. Tento závěr předpokládá, že hořlavá kapalina identifikovaná jako akcelerant nebyla v daném prostoru používána či ukládána v souladu s provozními předpisy a/nebo výpověďmi odpovědných osob/svědků.

Závěr

Nejistota je charakteristika, která by měla být odhadována jak u kvantitativních, tak i u kvalitativních výsledků zkoušek k potvrzení jejich správnosti. Odhady nejistoty u kvalitativních výsledků nemohou být vyjádřeny jako u kvantitativních výsledků číselným

intervalem přiřazeným k výsledku, o němž se tvrdí, že uvnitř něho leží s určitou pravděpodobností správná hodnota. Bayesův teorém a jeho možné formy vyjádření jsou pro kvalitativní výsledky měření/zkoušek/chemických analýz vhodné pomocí *aposteriorní pravděpodobnosti ověřované hypotézy/události, aposteriorního poměru, šanci/nadějí hypotézy H vzhledem k experimentu E a věrohodnostního poměru (LR)*, které lze odhadnout na základě výsledků použitých kvalitativních, validovaných testů/zkoušek/chem. analýz.

Lze předpokládat, že v podmínkách praktických aplikací budou kvalifikovaně využívány i ve stavebnictví při kvalitativních rozborech neznámých nebo přesně nespecifikovaných stavebních hmot/výrobků včetně identifikace neznámých polymerů.

Bayesův teorém je aplikovatelný např. i jako součást hodnocení spolehlivosti stavebních konstrukcí v souladu s platnými normami a předpisy, např. [18]–[21].

Literatura

- [1] ČSN EN ISO/IEC 17025. *Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří*. Praha: Český normalizační institut, 2005. 48 s.
- [2] *Zavádění koncepce stanovení nejistot zkoušení v návaznosti na aplikaci normy ISO/IEC 17025. Dokument ILAC – G17:2002*. Praha: Český institut pro akreditaci, o. p s., 2004. 5 s.
- [3] ČSN ISO 3534-1 až 3. *Statistika – Slovník a značky. Část 1: Pravděpodobnost a obecné statistické termíny*. Praha: Český normalizační institut, 1994. 56 s.
- [4] *GUM – Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*. Švýcarsko: BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP a OIML, 1995. 101 s.
- [5] ČSN ISO 5725-1 až 6. *Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Část 1: Obecné zásady a definice*. Praha: Český normalizační institut, 1997. 24 s.
- [6] ČSN P ISO/TS 21748. *Pokyn pro použití odhadů opakovatelnosti, reprodukovatelnosti a správnosti při odhadování nejistoty měření (Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation)*. Praha: Český normalizační institut, 2005. 36 s.
- [7] ČSN EN ISO 10012. *Systémy managementu měření – Požadavky na procesy měření a měřicí vybavení*. Praha: Český normalizační institut, 2003. 36 s.
- [8] *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Eurachem/CITAC Guide CG 4*. 2000. 120 s.
- [9] DVOŘÁK, O. Statistické posouzení kvantitativních jakostních parametrů stavebních výrobků při posuzování shody a certifikaci v oblasti požární ochrany. *TZB-info*: 30.11.2015. [10]Den Boef, G. Hulanicki, A. *Pure Appl. Chem.* 1983, Vo. 55, s. 553.
- [11] van GINNEKEN, A.M., A.W.M. SMEULDERS. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 1991.
- [12] EVVET, I. W. J., P. GILL. *Electrophoresis*. 1991, Vo. 12, s. 226.
- [13] DVOŘÁK, O. Možnosti statistického vyhodnocení výsledků laboratorních stanovení jakostních parametrů technických prostředků PO a hasiv pro potřeby certifikace. In: *Požární ochrana 2005*. Ostrava: VŠB-TUO, 2005, s. 115–119.
- [14] HEBÁK, P., J. KAHOUNOVÁ. *Počet pravděpodobnosti v příkladech*. Praha: Polytechnická knihovna, 1988. 309 s.
- [15] ELLISON, Stephen L. R. Uncertainty in qualitative testing and analysis. *Accred Qual Assur.* 2000, 5:346-348.
- [16] Motorové nafty a Bezolovnaté automobilové benzíny. *Bezpečnostní listy podle Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1907/2006*.
- [17] CHARVÁTOVÁ, V., O. DVOŘÁK. Validace postupu chemických analýz na obsah akceleračních pomůcek pomocí SPME-GC/MS. In: *Sborník přednášek PO 2008*. Ostrava: VŠB-TUO, 2008, s. 178–181.

- [18] ČSN EN ISO 9001. *Systém managementu kvality – Požadavky*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2016. 48 s.
- [19] ČSN ISO 13 822. *Zásady navrhování konstrukcí – Hodnocení existujících konstrukcí*. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2014. 44 s.
- [20] ISO 12 491. *Statistical method for quality control of buiding materials and components*. 2014.
- [21] Nařízení vlády č. 163/2002 Sb., ze dne 6. března 2002, kterým se stanoví technické požadavky na vybrané stavební výrobky, ve znění pozdějších předpisů.