

Hodnotenie kvality laboratórnych výsledkov

TERÉZIA VACOVÁ

V potravinárskych kontrolných laboratóriách, ktoré sú podstatnou časťou vnútropodnikového kontrolného systému, získavajú sa údaje o kvalite základných a pomocných potravinárskych surovín, medziproduktov a hotových výrobkov ako nevyhnutný predpoklad všetkých rozhodovaní pri výrobe — od nákupu surovín až po expedíciu hotových výrobkov. V záujme zvýšenia akosti potravinárskych výrobkov je preto nevyhnutné skvalitniť a zrýchliť proces získavania laboratórnych údajov — racionalizovať všetky činnosti zúčastňujúce sa na tomto procese. Jedným z viacerých problémov, ktorým treba venovať pozornosť v súvislosti so sprogresívnovaním laboratórnych činností, je spoľahlivosť laboratórnych výsledkov. Je to jedna z podmienok objektívneho charakterizovania sledovaných parametrov a možnosti vzájomného porovnávania laboratórnych výsledkov (časovo i priestorovo) a perspektívneho začlenenia potravinárskych kontrolných laboratórií do automatizovaných systémov riadenia potravinárskych podnikov.

Spoľahlivosť laboratórnych výsledkov z potravinárskych kontrolných analýz sa doteraz uvádza v platných ČSN ako „presnosť“ (rozdiel medzi dvoma paralelnými stanoveniami) a „zhodnosť“ (rozdiel medzi stanoveniami dvoch laboratórií). Povolný rozdiel sa niekedy uvádza ako absolútny rozdiel hodnôt vo výsledku, niekedy ako percentuálna hodnota z výsledku (príp. z priemeru výsledkov), niekedy sa vôbec neuvádza. Niekoľko príkladov z ČSN je v tabuľke 1.

Na základe medzinárodných dohôd, ako ich uvádza „ISO Recommendation R 78“ sa má uplatniť v našich normách táto definícia spoľahlivosti:

Opakovateľnosť (presnosť): Veľmi podobné výsledky získané tou istou metódou na identickom skúšobnom materiáli a za rovnakých podmienok — ten istý pracovník, ten istý prístroj, rovnaké laboratórium, rovnaký čas.

Reprodukovateľnosť (zhodnosť): Veľmi podobné výsledky získané tou istou metódou na tom istom skúšobnom materiáli, ale za rozličných podmienok — rozliční pracovníci, rozličné prístroje, rozličné laboratóriá a (alebo) rozličné časy. Na základe toho sa opakovaním rozboru na druhý deň neoveruje presnosť, ale zhodnosť, lebo nastala zmena v čase.

Správnosť (rozdiel medzi hodnotou skutočnou a stanovenou) analytické

Tabuľka 1. Spôľahlivosť niektorých laboratórnych metód podľa platných ČSN

ČSN	Metóda	Presnosť	Zhodnosť
56 0116 (metódy skúšania pekárenských výrobkov)	stanovenie obsahu sodíka a draslíka	$\pm 3 \%$ z priemeru výsledkov	$\pm 5 \%$ z priemeru výsledkov
	stanovenie stupňa kyslosti striedky	0,3 ml	0,5 ml
56 0240 (metódy skúšania nealkoholických nápojov)	stanovenie obsahu redukujúcich cukrov — vážková metóda	0,1 g/100 ml	0,2 g/100 ml
57 0105 (metódy skúšania sušených a zahustených mliečnych výrobkov)	stanovenie vody— rozhodujúca metóda	neuvádza sa	neuvádza sa
57 0185 (metódy skúšania mäsa, mäsových výrobkov a konzerv)	číslo kyslosti tuku — rozhu- júca metóda	0,2 mg KOH	0,3 mg KOH
	číslo kyslosti tuku — informač- ná metóda	10 % z výsledku	15 % z výsledku
57 0530 (metódy skúšania mlieka a tekutých mliečnych výrobkov)	stanovenie bielko- vinového titra formolovou titrá- ciou — prevádz- ková metóda	0,1 ml 0,143 N NaOH	0,2 ml 0,143 N NaOH

normy neudávajú, lebo je zakotvená v hodnotách predmetových noriem s rešpektovaním predpísanej metódy.

Predpokladom na zabezpečenie spoľahlivosti laboratórnych údajov je poznanie zdrojov možných chýb a existencia vhodného systému priebežného hodnotenia správnosti a presnosti, resp. zhodnosti (súhrnne spoľahlivosti) laboratórnych výsledkov. Výsledky priebežného hodnotenia určujú parametre spoľahlivosti laboratórnych výsledkov a tak rozhodujú o ich využiteľnosti.

Okrem chýb vyplývajúcich z nedôsledností pri prenose údajov a pri odbere vzoriek na analýzy existujú viaceré možnosti zásahu rušivých vplyvov do analytického procesu, čo môže znížiť kvalitu údajov. V laboratóriách sa najčastejšie vyskytujú chyby:

— Pri výbere metódy [nešpecifická metóda; ťažko reprodukovateľná; málo citlivá; málo vhodná (reakčný produkt citlivý na svetlo; príliš nízka koncentrácia substrátu; spontánna hydrolýza substrátu; rušenie reakcie niektorými zložkami vzorky)].

— Pri odovzdávaní a dokumentácii pracovných návodov (ústne oznámený

pracovný postup; chybné alebo nedostatočne spracovaný návod; nedodržanie pracovného postupu).

— Pri používaní roztokov [znečistenie zásobného roztoku priamym pipetovaním zo zásobnej fľaše; používanie starých roztokov; vykryštalizovanie substancie, zákal, prítomnosť baktérií a i.; nebadaná zmena prázdnej (tzv. slepej) hodnoty reagentie alebo denne používanej štandardnej hodnoty].

— Pri skladovaní roztokov (skladovanie pri nevhodnej teplote; nezabezpečenie ochrany proti svetlu alebo CO_2 — ak je to potrebné; neuzavreté nádoby s roztokmi; koncentrované lúhy v sklenených nádobách; organické rozpúšťadlá alebo oxidačné činidlá v polyetylénových nádobách).

— Pri navažovaní (otvorené analytické váhy — priberanie vlhkosti zo vzduchu; znečistená miska váh navažovanou látkou, teda menšia navažka).

— Pri titracii (znečistená byreta; netesný kohút — nekontrolované vytekánie kvapaliny; nedostatočné miešanie titrovaného roztoku).

— Pri meraní pH roztokov (použitá elektróda nespĺňa svoju funkciu; nedostatočne uzemnený prístroj; príliš krátka odčítacia stupnica, preto nepresné odčítanie; nepresný štandardný tlmivý roztok, napr. viazaním CO_2 zo vzduchu).

— Pri spracovaní analyzovaného materiálu (nedostatočne zhomogenizovaná vzorka; vzorka skladovaná pri nevhodnej teplote) — denaturácia enzýmov a i.; vzorka sa neanalyzuje v predpísanom čase; zámena vzorky nevhodnou alebo nezreteľnou identifikáciou; nerešpektovanie špeciálnych podmienok niektorých analýz.

— Pri používaní sklenených nádob (znečistené sklo — detergenty, ťažké kovy a i.; povrch skla viditeľne poškodený silnými lúhmi; nedostatočne suché odmerné nádoby).

— Pri používaní pipiet (špinavé alebo zapchaté pipety; nekalibrované alebo neoznačené pipety; nasatý vzduch; neprepláchnutá pipeta; obsah pipety vyfúknutý, teda nedostatočne vyprázdnený).

— Pri miešaní činidiel (nedostatočné zamiešanie alebo, naopak, príliš intenzívne, takže sa tvorí pena; strata vzorky alebo reagentie pri miešaní; uzavretie nádob špinavými zátkami).

— Pri filtrovaní (nevhodný filter — zakalený filtrát; adsorpcia zložiek na filtračnom papieri; elúcia rušiacich látok z filtračného papiera — napr. zložky, ktoré vykazujú absorpciu UV svetla; papierové vlákno vo filtráte).

— Počas inkubácie (nedodržaný inkubačný čas alebo teplota; spolupôsobenie svetla pri inkubácii — reakčný produkt sa rozloží alebo sa ho tvorí viac; neuzavreté reakčné nádoby počas inkubácie — odparenie kvapaliny a stanovenie vyššej koncentrácie reakčného produktu).

— Pri fotometrickom meraní (oslabený zdroj svetla; nemeria sa svetlom s predpísanou vlnovou dĺžkou — nesprávne okalibrovaný monochromátor, poškodený filter, nesprávne použitý filter; nepoužilo sa monochromatické svetlo; nesprávna clona vo fotometri; znečistené kyvety alebo kyvety s nevhodnou hrúbkou; nedostatočne naplnené kyvety, meranie v rozsahu, pre ktorý neplatí Lambertov a Beerov zákon; nesprávne odčítanie absorpcie).

— Pri prepočte výsledkov (nerešpektuje sa prázdna hodnota; nesprávne zaradená desatinná čiarka; výsledky udávané s nezmyselne veľa desatinnými miestami).

Okrem uvedených zdrojov chýb sa môžu vyskytovať i rozličné ďalšie —

k chybám môže dôjsť prakticky pri každej elementárnej činnosti. Ak teda uvažíme množstvo jednotlivých úkonov potrebných na získanie konečného výsledku analýzy, je pochopiteľné, že viacnásobným opakovaním analýz rovnakej vzorky (v sérii analýz alebo v rozličných sériách) stanovíme hodnoty, ktoré sa odlišujú navzájom a odlišujú sa aj od skutočnej (hľadanej) hodnoty o isté chyby. Podľa veľkosti vplyvu chýb na analytické výsledky sa tieto orientačne rozdeľujú na:

1. Náhodné chyby. Tieto spôsobujú rozptyl stanovených hodnôt pri viacnásobnej analýze vzorky okolo určitej priemernej hodnoty. Čím je väčší počet meraní (stanovení) toho istého materiálu, tým viac sa približuje priemerná stanovená hodnota „skutočnej hodnote“, pričom dosiahnutá presnosť závisí od pracovníka, metódy, použitých odmerných nádob a i.

2. Systematické chyby. Vyskytujú sa vo všetkých výsledkoch série analýz, príp. vo viacerých sériách výsledkov jednej analytickej metódy, takže spôsobujú odchýlku výsledkov od skutočnej hodnoty. Príčinou sú najmä nevhodné metódy, zle použité prístroje, zlé návyky pracovníkov, nesprávne pripravené štandardné roztoky a i.

3. Veľké chyby. Je to napríklad zámena vzoriek, nesprávna obsluha meracieho prístroja, chyby pri výpočte alebo pri prenose výsledkov atď.

Možnosti zistenia náhodných chýb

a) Vykonávanie paralelných analýz

Veľkosť náhodnej chyby sa dá odhadnúť z rozptylu dvoch výsledkov analýz. Pritom treba zdôrazniť, že rozptyl analyzovanej hodnoty závisí od rozličných faktorov, najmä od druhu a koncentrácie analyzovanej zložky a od metódy. Nemožno preto predpísať maximálnu veľkosť odchýlky výsledkov tej istej vzorky pre rozličné postupy.

b) Kontrola presnosti (zhodnosti) kontrolnou vzorkou a kontrolnou kartou priemernej hodnoty.

Rozptyl analytických výsledkov „zo dňa na deň“ je približne dvakrát taký veľký ako pri analýze v jednej sérii. Je to spôsobené tým, že podmienky analýzy sú každý deň iné (rozličná laboratórna teplota, nové roztoky, iné pipety atď.). Na zistenie rozptylu výsledkov „zo dňa na deň“ sa analyzuje v každej sérii tzv. kontrolná vzorka, ktorá má podobné zloženie ako ostatné analyzované vzorky, pričom obsah analyzovanej zložky vo vzorke sa dlhšie nemení. Kontrolná vzorka sa musí spracovať rovnakým postupom ako ostatné analyzované vzorky. Vyhodnotenie výsledkov slúži na štatistickú kontrolu presnosti.

V prípravnej perióde (najmenej 20 pracovných dní) sa analyzujú kontrolné vzorky v zodpovedajúcich analytických sériách. Zo zistených hodnôt sa vypočíta priemerná hodnota

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n},$$

kde x_i sú jednotlivé stanovené hodnoty; n je počet analýz kontrolnej vzorky a štandardná odchýlka

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

Pred určením platnosti parametrov treba overiť, či súbor výsledkov kontrolnej vzorky neobsahuje odľahlú hodnotu, pomocou kritéria T. Ak je to potrebné, treba nahradiť odľahlú hodnotu hodnotou z nasledujúceho 21. dňa, kým sa súbor stane homogénnym. Z parametrov \bar{x} a s sa zistia rozsahy $(\bar{x} - 2s)$ až $(\bar{x} + 2s)$ a $(\bar{x} - 3s)$ až $(\bar{x} + 3s)$, ktoré podľa normálneho — Gaussovho rozdelenia zahŕňajú 95,5%, resp. 99,7% všetkých hodnôt. Z platnej priemernej hodnoty \bar{x} a štandardnej odchýlky s sa vyhotoví tzv. kontrolná karta, kde sa znázorní \bar{x} ; $\bar{x} \pm 1s$; $\bar{x} \pm 2s$; $\bar{x} \pm 3s$. V ďalšom období sa denne analyzujú rovnaké kontrolné vzorky a získané výsledky sa nanášajú s príslušným dátumom na kontrolnú kartu. Tieto musia ležať vo vnútri stanoveného kontrolného rozmedzia. Ak výsledky prekročia určené hranice, treba analytickú sériu včítane kontrolnej vzorky opakovať, zistiť príčinu a odstrániť chybu. Významné zmeny na kontrolnej karte sa často vyskytnú pri zmene pracovníka, keďže presnosť analýz závisí i od kvality pracovnej sily a zvyšuje sa skúsenosťami a praxou. Výsledky získané analýzou „neznámych“ vzoriek sa môžu uvoľniť a odovzdať až vtedy, keď sú už výsledky kontrolnej analýzy v rámci daného rozmedzia. Kvôli dokonalej kontrole treba mať kontrolné vzorky so zníženými, normálnymi i zvýšenými koncentráciami sledovaných zložiek.

Keďže štandardná odchýlka závisí od priemernej hodnoty, nedajú sa porovnávať jej hodnoty pri rozličných pracovných postupoch. Na porovnanie treba použiť relatívnu štandardnú odchýlku (variačný koeficient)

$$v = \frac{s \cdot 100}{\bar{x}} (\%).$$

Relatívna štandardná odchýlka by nemala pri bežných analytických metódach prekročiť 5%.

S kontrolnou kartou sa dobre zisťujú zmeny presnosti, ktoré sa však nedajú exaktne dokázať za dlhší čas. Také posúdenie je možné F testom, pričom sa uvažuje s významnosťou rozdielov štandardných odchýlok v uvažovanom čase.

Výnimku z analytických metód, ktoré možno kontrolovať kontrolnými vzorkami, tvoria metódy založené na určitých vlastnostiach bielkovín (enzymatické a elektroforetické metódy).

c) Analýza vzoriek z predchádzajúcej analyzovanej série

Pri uvedenom spôsobe kontroly presnosti, resp. zhodnosti analyzuje sa rovnaká kontrolná vzorka každý deň. Keďže pracovník už výsledok kontrolnej analýzy pozná, často ho to zvädza k tomu, aby vzorku analyzoval s nezvyčajnou pozornosťou, prípadne aby vzorku vôbec neanalyzoval a výsledok odhadol. Objektivita pri analýzach sa preto dá dosiahnuť tak, že sa do každej analyzovanej série anonymne zaradi jedna vzorka z predchádzajúceho dňa (alebo predchádzajúcej analytickej série), ktorá bola vhodne uskladnená. Pracovník o tom vie, čo ho núti pracovať presne rovnakým postupom ako v predchádzajúci deň. Vyhodnocujú sa rozdiely medzi výsledkami jednej vzorky za dva dni.

d) Kontrola presnosti (zhodnosti) pomocou karty R

Pre metódy, ktoré sa nedajú kontrolovať spôsobom uvedeným v bode b) sa uvádza spôsob kontroly presnosti pomocou paralelného stanovenia a karty R . V každej sérii sa ľubovoľná analýza robí paralelne a zisťuje sa rozdiel paralelných hodnôt

$$R = x_{\max} - x_{\min}.$$

Z prvých 20 hodnôt sa vypočíta priemerné R podľa rovnice:

$$\bar{R} = \frac{\sum_{i=1}^{20} R_i}{20}.$$

Pomocou \bar{R} sa zostrojí kontrolná karta, pričom $2\bar{R}$; $2,5\bar{R}$ a $3\bar{R}$ sa označia ako kontrolné hranice. Na kontrolnú kartu sa nanášajú hodnoty R_i s príslušným dátumom. Kontrolné hranice vyplývajú z tzv. R rozdelenia. Ak sa toto integruje v hraniciach 0 až $2\bar{R}$; 0 až $2,5\bar{R}$ a 0 až $3\bar{R}$, leží približne 90, 95 a 99% všetkých hodnôt v zodpovedajúcich rozsahoch. Táto kontrolná metóda sa využíva zriedkavo.

Možnosti zistenia systematických chýb

Podobne ako pri kontrole presnosti, musí sa i pri kontrole správnosti najprv zistiť, či je metóda vôbec správna. Na to sú potrebné kontrolné vzorky so známymi hodnotami analyzovaných zložiek. Dodávateľ kontrolných vzoriek (napr. príslušné referenčné laboratórium) dodá súčasne i zistené priemerné hodnoty výsledkov a rozptyl výsledkov pri danej konkrétnej metóde.

Kvôli kontrole správnosti by sa v každej sérii analýz mali analyzovať dve vzorky s rozličnou koncentráciou analyzovanej zložky. Ak sú výsledky v rozmedzí rozsahu udaného výrobcem (dodávateľom kontrolnej vzorky) pre danú metódu, resp. daný meračí prístroj, analytický systém sa nachádza „v rámci kontroly“. Hodnoty kontroly správnosti sa dokumentujú aj na kontrolných kartách, čo umožňuje posudzovať súčasne správnosť i presnosť (súhrnne spoľahlivosť).

Ak sa vyskytnú systematické chyby, výsledky kontrolných analýz vzoriek nebudú rozptýlené okolo priemernej hodnoty na kontrolnej karte, ale nadobudnú novú hodnotu (odklon, odkláňanie). Správnosť sa pokladá za nespoľahlivú, ak osem po sebe nasledujúcich hodnôt prekročí čiaru priemernej hodnoty smerom hore alebo dole; štyri z piatich po sebe nasledujúcich hodnôt prekročia hranice presnosti $(\bar{x} + s)$, resp. $(\bar{x} - s)$ a dve z troch po sebe nasledujúcich hodnôt prekročia hranice presnosti $(\bar{x} + 2s)$, resp. $(\bar{x} - 2s)$. Zmeny správnosti sa dajú dokázať T testom.

Treba ešte poznamenať, že kontrolné vzorky nie sú štandardnými roztokmi, preto sa nesmú použiť na prepočet výsledkov v analyzovaných vzorkách. Na tento účel sa používajú štandardné kalibračné roztoky, príp. príslušné prepočítavacie faktory.

Možnosti redukovania veľkých chýb

Časť veľkých chýb sa dá odstrániť účelným plánovaním práce. Pomerne veľkým problémom je odstránenie chýb, ktoré sa vyskytnú nesprávnym priradením identifikácie vzorky, k čomu môže dôjsť pri odbere vzorky, ako aj pri spracovaní v laboratóriu. Veľké chyby sa dajú redukovať pri dodržiavaní istých zásad:

- pokoj v laboratóriu, keďže každé rozptýlenie znižuje schopnosť sústrediť sa na prácu (telefonické hovory a i.);

- vybavenie pracovného miesta tak, aby boli k dispozícii všetky potrebné zariadenia (prístroje, reagentie a pod.);

- presne vypracované pracovné návody;

- dôkladné zapracovanie nových pracovníkov;

- objektivizácia analýz (napr. automatická registrácia absorbcie na fotometri);

- kontrola všetkých prázdnych hodnôt reagentii;

- pracovné listy (laboratórne denníky), na ktoré sa zaznamenávajú všetky namerané hodnoty;

- vykonávanie paralelných analýz (viacnásobným stanovením sa identifikujú chyby spôsobené znečisteným sklom, nesprávnym pipetovaním a i. Pravdepodobnosť, že veľké chyby sa presne zopakujú a tým sa získa nesprávny výsledok, je veľmi malá);

- kontrola prijateľnosti výsledkov, ktorú musí vykonávať skúsený odborný pracovník.

Uvedené možnosti kontroly spoľahlivosti laboratórnych výsledkov sú iba jednoduchými príkladmi z viacerých dostupných možností. Tieto metódy sa dnes už plne využívajú v každodennej praxi, napríklad v klinickej biochémii. Sú pomerne nenáročné a umožňujú získať sústavný prehľad o spoľahlivosti jednotlivých metód, prístrojov, pracovníkov a pod., pričom sa väčšina chýb dá rýchlo zistiť a tak odstrániť a produkované výsledky sú spoľahlivé. Okrem uvedeného existujú i ďalšie možnosti kontroly spoľahlivosti laboratórnych výsledkov na základe matematických štatistických metód.

Vzrastajúci význam laboratórnej kontroly v potravinárskom priemysle stavia do popredia otázku kvality laboratórnych údajov i v tejto oblasti, preto ju bude potrebné riešiť na vedeckých princípoch. Práca, ktorá sa dnes ešte môže zdať „prácou navyše“, v budúcnosti sa prejaví ako nevyhnutná podmienka skvalitnenia laboratórnych údajov a v konečnom dôsledku i skvalitnenia riadenia potravinárskej výroby.

Súhrn

V príspevku sú uvedené hlavné zdroje chýb vyskytujúcich sa v laboratórnej činnosti a niektoré metódy hodnotenia spoľahlivosti laboratórnych výsledkov. Spoľahlivosť výsledkov kontrolných analýz v potravinárskom priemysle je jednou zo základných podmienok kvalitného riadenia výroby a dosahovania dobrej akosti potravinárskych výrobkov.

Literatúra

1. Vacová, T. — Škorvagová, A.: Prieskum a analýza súčasného stavu riadenia oddelenia klinickej biochémie NsP ÚNZ. (Čiastková výskumná správa.) Bratislava, Výskumný ústav lekárskej bioniky 1976.
2. Gabrieli, R. E.: Clinically Oriented Documentation of Laboratory Data. New York — London 1972.
3. Riek, W.: Klinische Chemie und Mikroskopie. 2. Aufl. Heidelberg — New York 1973.
4. Eilers, R. J.: Medical Instrumentatin, 8, 1974, s. 53.
5. Driver, R., M.: Chemistry in Britain, 6, 1970, s. 154.
6. ČSN 01 0250.
7. ČSN 56 0116.
8. ČSN 56 0240.
9. ČSN 57 0105.
10. ČSN 57 0185.
11. ČSN 57 0530.
12. ISO Recommendation R 78.

Оценка качества лабораторных результатов

Выводы

В статье приводятся основные источники ошибок, встречающихся в лабораторной практике и некоторые методы оценки надежности лабораторных результатов. Надежность результатов контрольных анализов в пищевой промышленности является одним из основных условий качественного управления и достижения хорошего качества пищевых продуктов.

Quality evaluation of laboratory results

Summary

In the study the main sources of errors in laboratory work occuring and some methods of laboratory results solidity evaluation are mentioned. Results solidity of checking analysis in food industry is one of the fundamental conditions of production quality operation and how food products good quality to attain.