



Nowa aparatura – stare problemy przygotowania próbki do badań na przykładzie pasz

**Waldemar Korol, Sławomir
Walczyński, Jolanta Rubaj,
Grażyna Bielecka**

**Instytut Zootechniki-PIB,
Krajowe Laboratorium Pasz
w Lublinie**



Wprowadzenie



Nowe techniki analityczne i nowa aparatura dostępna w zasadzie bez ograniczeń, pozwalają na stosowanie coraz bardziej czułych metod badawczych. Jednak wynik badania nie służy tylko do określenia zawartości badanego analitu w odważce analitycznej, której masa zmniejsza się wraz ze wzrostem czułości metod, lecz może być wykorzystany do oceny zgodności ocenianej partii materiału z wymaganiami (PN-EN ISO/IEC 17025 , DAB-07).

Wprowadzenie



W świetle wymagań (klient, obszar regulowany) ważne jest właściwe pobranie próbki, przygotowanie próbki zbiorczej ocenianej partii materiału i wyodrębnienie z niej próbki laboratoryjnej.

Problem:

Laboratorium zwykle nie odpowiada za pobranie próbki (**5% pobiera**)

Wprowadzenie



Laboratorium → odpowiada za przygotowanie próbki laboratoryjnej do badań

Z próbki laboratoryjnej należy wyodrębnić próbkę do badań o masie około 100 g i rozdrobnić, w sposób właściwy dla wykonywanych badań, celem przygotowania odważki analitycznej.

Wprowadzenie

Niepewność przygotowania próbki do badań w laboratorium powinna być sprawdzona dla wszystkich typowych matryc badanych w laboratorium i uwzględniona w niepewności postępowania analitycznego i pomiaru.

Wprowadzenie

Animal feeding stuffs — Guidelines for
sample preparation

*Aliments des animaux — Lignes directrices pour la préparation des
échantillons*

Pomocna dla laboratorium może być norma **EN ISO 6869** zawierająca wytyczne w zakresie przygotowania próbki do badań na przykładzie pasz, zwłaszcza dotyczące podziału próbki laboratoryjnej i jej rozdrabniania.

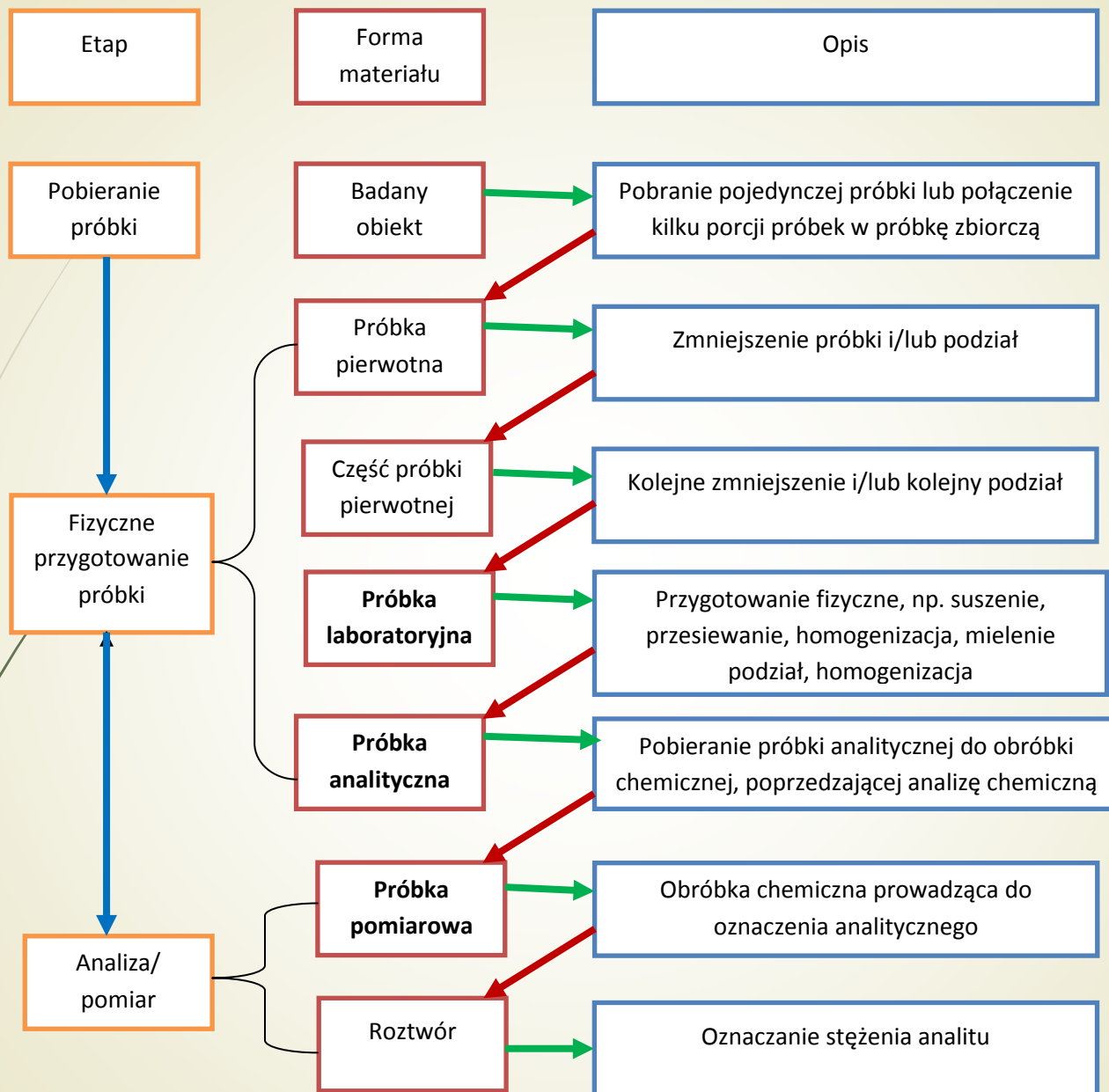
Wprowadzenie – Wymagania w zakresie pobierania próbek. Przewodnik EURACHEM /CITAC 2007.

Biuletyn Inf. POLLAB nr 1/52/2009

W uzasadnionych przypadkach Eurachem zaleca do oceny zgodności, oszacowanie **całkowitej niepewności pomiaru**, obejmującej:

- (i) niepewność pobierania próbki,
- (ii) niepewność przygotowania próbki do badań w laboratorium,
- (iii) niepewność postępowania analitycznego łącznie z pomiarem.





Rys. 1. Schemat typowego procesu pomiarowego

Cel prezentacji

Celem prezentacji jest przedstawienie sposobów podziału i rozdrabniania próbki laboratoryjnej oraz wpływu przygotowania próbki i jej rodzaju na wyniki badania niepewności tego etapu postępowania.

Do przygotowania próbek mieszanek paszowych pełnoporcjowych i uzupełniających oraz premiksów zastosowano normę **EN ISO 6498.**

Badano podstawowe składniki odżywcze, składniki mineralne i dodatki paszowe w różnych paszach.

Materialy i metody

INTERNATIONAL
STANDARD

ISO
6498

Third edition
2012-06-01

**Animal feeding stuffs — Guidelines for
sample preparation**

*Aliments des animaux — Lignes directrices pour la préparation des
échantillons*

Materiały i metody. Niepewność przygotowania próbek (6 x PdB)

Próbka końcowa
(laboratoryjna) ok. 0,5 kg

Rozdzielacz
szczelinowy →

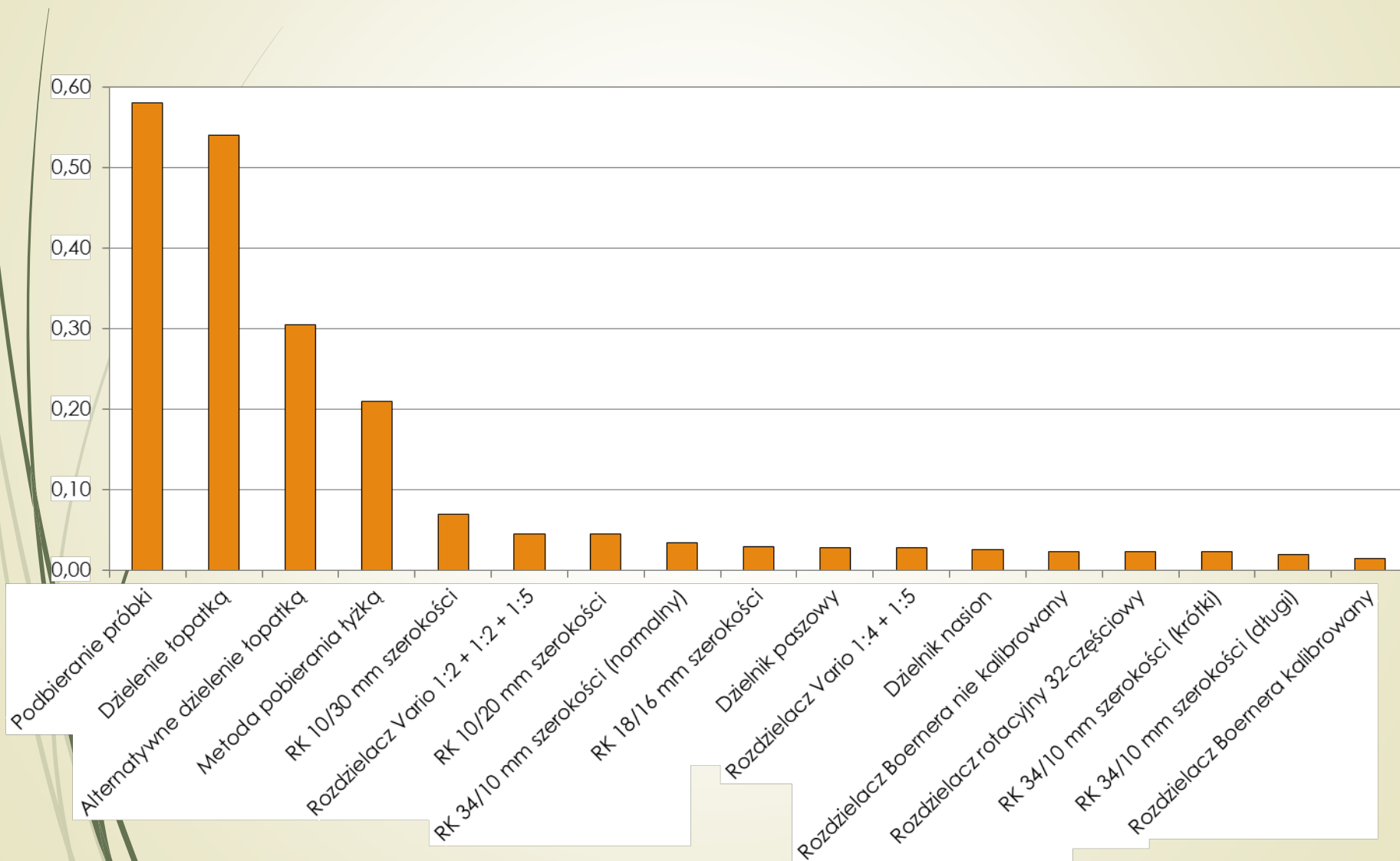
Próbka do
badań
ok. 100 g

Składniki
odżywcze,
Makro-
Elementy,
Mikro-
elementy,
Dodatki
paszowe
(2 powt.)

Rozdrabniacz
Retsch ZM 200,
sito 0,5 mm (lub 1
mm)



Rys. 1 Zbiorcza reprezentatywność, r^2 , równa kwadratowi wartości obciążenia plus kwadrat wartości precyzji, dla przykładowej mieszanki pszenicy, rzepaku i szkła – wg ISO 6498; $r^2 \leq 0,1$



Tablica 2 — Wyniki badań z podziału mieszaniny zawierającej ułamek masowy 60 % gruboziarnistego piasku i 40 % drobnoziarnistego piasku (ISO 6498 → ISO 664 ^[1])

Metoda ^a	Liczba części	Odchylenie standardowe próbek %	Rozbieżność % ²	Określony maksymalny błąd próbki %
		s_r	s_r^2	
Stożkowa lub kwadratowa	2	6,81	46,4	22,7
Rozdzielacz szczelinowy stały	10 to 12	1,01	1,02	3,4
Rozdzielacz szczelinowy obrotowy	>100	0,125	0,016	0,42
Zmienność losowa		0,076	0,005 8	0,25

Rozdzielacze laboratoryjne i zestaw sit – pomiar wielkości cząstek



Zestaw sit



**Rozdzielacz
szczelinowy**



**Rozdzielacz
obrotowy**

Rodzaje młynków (rozdrabniaczy)

Rodzaje młynków wg zaleceń ISO 6498:

- tnące
- rozdrabniające
- tnąco-rozdrabniające (miksery)
- udarowe
- strumieniowe
- planetarne (kulowe)



Materiały i metody



Materiał do szacowania niepewności przygotowania próbek stanowiły wybrane produkty paszowe o różnej podatności do segregacji:

- sypka mieszanka paszowa uzupełniająca MPU,**
- granulowana mieszanka paszowa pełnoporcjowa MPP,**
- premik paszowy 0,5% (przedmieszka mineralno-witaminowa) - bez rozdrabniania $\text{Ø}=416 \mu\text{m}$**
- premiks 0,5% - po rozdrobnieniu $\text{Ø}=260 \mu\text{m}$**

Sposób realizacji celu

- ▶ Niepewność przygotowania próbki oszacowano wykorzystując **prawo propagacji błędów Gauss'a**.
- ▶ Istotą proponowanego sposobu oceny niepewności przygotowania próbki jest **rozdzielenie dwóch składowych zmienności** wyniku pomiaru wyrażonej jako współczynnik zmienności CV_p (%): **zmienności analitycznej CV_a (%)** i **zmienności technicznej CV_h (%)** odpowiadającej **niejednorodności** badanego składnika podczas przygotowania próbki do badań w laboratorium.

Materiały i metody

Zmienność analityczną metody obliczano **z rozstępu**, na przykładzie RT Nordtest. Do obliczeń wykorzystano poniższe wzory:

$$CV_p = \sqrt{CV_h^2 + CV_a^2}$$

$$CV_h = \sqrt{CV_p^2 - CV_a^2}$$

Materiały i metody

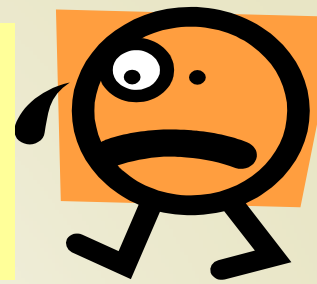
Przyjęto, że współczynnik zmienności technicznej CV_h jest miarą niepewności przygotowania próbki i może być uznany jako standardowa niepewność przygotowania próbki ($CV_h = u_p$) w budżecie niepewności pomiaru u_t , obliczonym wg wzoru:

$$u_t = \sqrt{u_p^2 + u_a^2}$$

w którym u_a jest niepewnością postępowania analitycznego i pomiaru.

$$U_T = u_t \cdot 2$$

Sposób oceny niepewności przygotowania próbki do badań



Jak obliczyć powtarzalność ?

1) dane z walidacji, karta kontrolna (precyzja pośrednia)

2) z rozstępu pomiędzy powtórzeniami wg przewodnika Nordtest –

Zaleta: badamy ten sam materiał, w którym określamy niejednorodność składnika (analitu)

Obliczanie powtarzalności z rozstępu (Nordtest TR 2008 - Biuletyn POLLAB 2/51/2008)

**Powtarzalność obliczamy
z rozstępu pomiędzy powtórzeniami:
($X_1 - X_2 \dots X_n$)**

**Odchylenie standardowe, s
obliczamy wg wzoru:**

$$s = \frac{\textit{rozstep}}{d_2}$$

**gdzie d_2 jest zależne od
liczby powtórzeń (n)**

Obliczanie powtarzalności z rozstępu (Nordtest: 2008 - Biuletyn POLLAB 2/51/2008)

Liczba powtórzeń	Czynnik, d_2
n=2	1,128
n=3	1,693
n=4	2,059
n=5	2,326
n=6	2,534
n=7	2,704
n=8	2,847
n=9	2,970
n=10	3,078

**Obliczanie powtarzalności z rozstępu
(Nordtest: 2008 - Biuletyn POLLAB 2/51/2008)-
przykład – Ca w MPP gran., g/kg**

	X1	X2	ŚREDNIA	d	r%
1	8,27	8,68	8,475	-0,41	4,8378
2	8,51	8,31	8,41	0,2	2,3781
3	8,2	8,36	8,28	-0,16	1,9324
4	8,33	8,26	8,295	0,07	0,8439
5	8,7	8,51	8,605	0,19	2,208
6	8,13	8,1	8,115	0,03	0,3697
		SD =	0,1711		
			CV_m = 2,05%		
		X =	8,3633		2,095
			d₂ = 1,128		
				S=	1,8572

Sposób oceny niepewności przygotowania próbki do badań – Ca w MPP gran. - przykład obliczeń

Wyszczególnienie – źródło danych

Współczynnik zmienności $CV_m = 2,05\%$ (dane lab)

Powtarzalność obliczona z rozstępu $CV_r = 1,86\%$ (dane lab – szablon Excel)

Współczynnik zmienności technicznej $CV_h = 0,86\%$ - wzór →

Standardowa niepewność badania wapnia z budżetu niepewności $u = 5,0\%$; $U=10,0\%$

**Standardowa niepewność badania Ca z niepewnością przygotowania próbki w laboratorium $u_{s+h} = 5,1\%$
- wzór →**

**Niepewność rozszerzona $U_{s+h} = 10,2\%$
~ $10,0\%$**

$$CV_h = \sqrt{CV_p^2 - CV_a^2}$$

$$u_{s+h} = \sqrt{u_s^2 + CV_h^2}$$

Zestawienie wyników badań niepewności przygotowania próbek różnych pasz na podstawie badań składników podstawowych i mineralnych

Składnik	MPU sypka		MPP granul.		Premiks nrozd. Ø=416 µm		Premiks rozd. Ø=260 µm Ø=250 µm - ISO	
	U _{s+h}	U	U _{s+h}	U	U _{s+h}	U	U _{s+h}	U
Białko	4,3	3	4,8	4	nb	nb	nb	nb
Popiół	6,8	4	4,6	4,2	nb	nb	nb	nb
Wapń	12,4	10	10,2	10	14,8	10	10	10
Sód	13,9	10	10,4	10	nb	nb	nb	nb
Cynk	18,1	15	15,8	15	22,8	10	12,6	10
Żelazo	nb	nb	15,8	15	14,2	10	10,4	10
Mangan	nb	nb	16,2	15	17,2	10	11,0	10
Miedź	nb	nb	23,2	20	22,4	10	11,8	10
Kobalt	nb	nb	24,8	24	nb	nb	nb	nb
Molibden	30,9	20	22,0	20	nb	nb	nb	nb
Selen	28,0	15	16,0	15	nb	nb	nb	nb

Wyniki badania homogeniczności premiksu paszowego 0,5% (bez rozdrabniania) na podstawie analizy chlorków (1 g ~ 416 μm), g/kg;

$S^2 < C \rightarrow$ spełnione kryterium homogeniczności !

Próbka	0,5% premiks PDR	
	a	b
1	10,5	10,2
2	10,0	10,5
3	10,7	10,7
4	10,7	10,4
5	11,3	10,1
6	11,3	10,6
7	10,4	10,8
8	10,1	10,6
9	10,1	10,2
10	9,90	10,1
Średnia	10,46	
S^2 – wariancja między próbkami	0,014	
Wartość krytyczna C	0,1491	



Zestawienie wyników badań niepewności przygotowania próbek mieszanek paszowych na podstawie oznaczania witamin A i E

Dodatek	Pasza sypka MPU		Pasza granulowana MPP	
	U	U _{s+h}	U	U _{s+h}
Vitamin A	19.4	31.1	27.5	28.0
Vitamin E	17.1	20.4	13.1	13.1

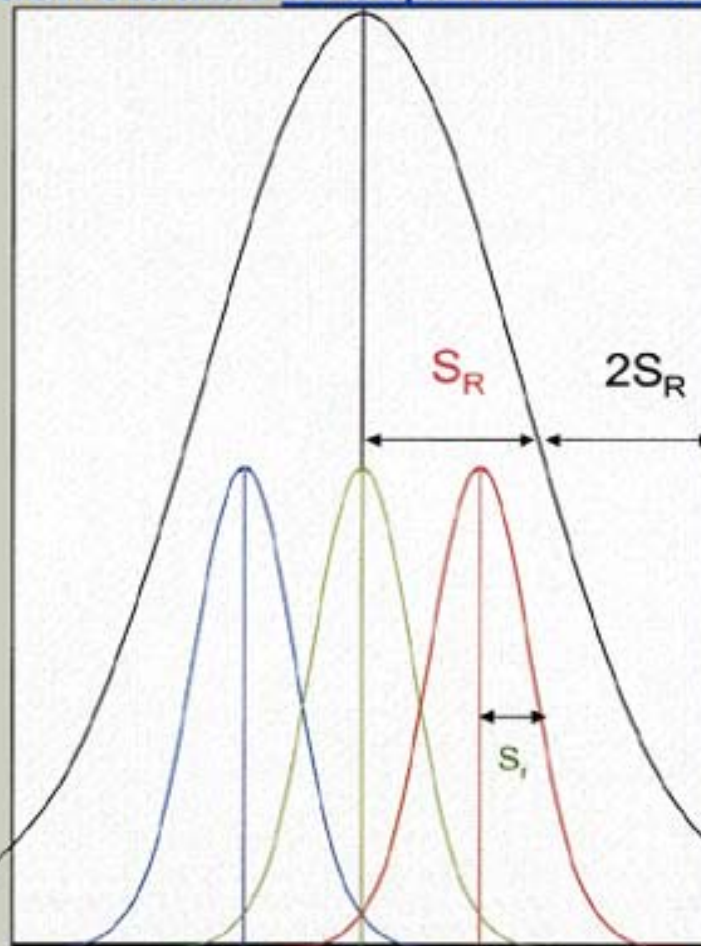
Ocena niepewności przygotowania próbki i niepewności analitycznej wg VDLUFA

- Wytyczne EA-04/16 - dopuszczają wykorzystanie **SD z Badań Mlab** jako **złożonej niepewności standardowej** u ($U = 2 \times u$).
- Wartości SD z Mlab (s_{PT}), w których brały udział urzędowe laboratoria stosujące te same oficjalne metody mogą być wykorzystane do budowy jednolitego systemu szacowania niepewności pomiarów i budowy spójnego systemu interpretacji wyników ($U = 2 \cdot s_{PT}$), **(Mlab/PT organizowane przez VDLUFA: próbka nie rozdrobniona 0,5 kg; s_{PT} uwzględnia błędy przygotowania próbki przez laboratoria)**

System oceny wyników badań pasz

– dr J. Schönherr, 2006

The use of the double reproducibility ($2 \cdot S_R$) derived from results of collaboration studies as expanded measurement uncertainty



means that with 95% probability the value determined in the first laboratory will be within a range of $\pm 2 \cdot S_R$ around the average value which would determine a lot of different laboratories under reproducibility conditions.

S_R = standard deviation of the reproducibility
(Dispersion between laboratories)

S_1 = standard deviation of the repeatability
(Dispersion within a laboratory)

(Outliers are to be eliminated)

Przykład „PT Pasze 2013” (org. KLP Lublin) – MPP gran.
(M/13). Masa próbki ~ 0,5 kg - **laboratorium uczestniczące
w PT samo rozdziela i rozdrabnia próbkę**



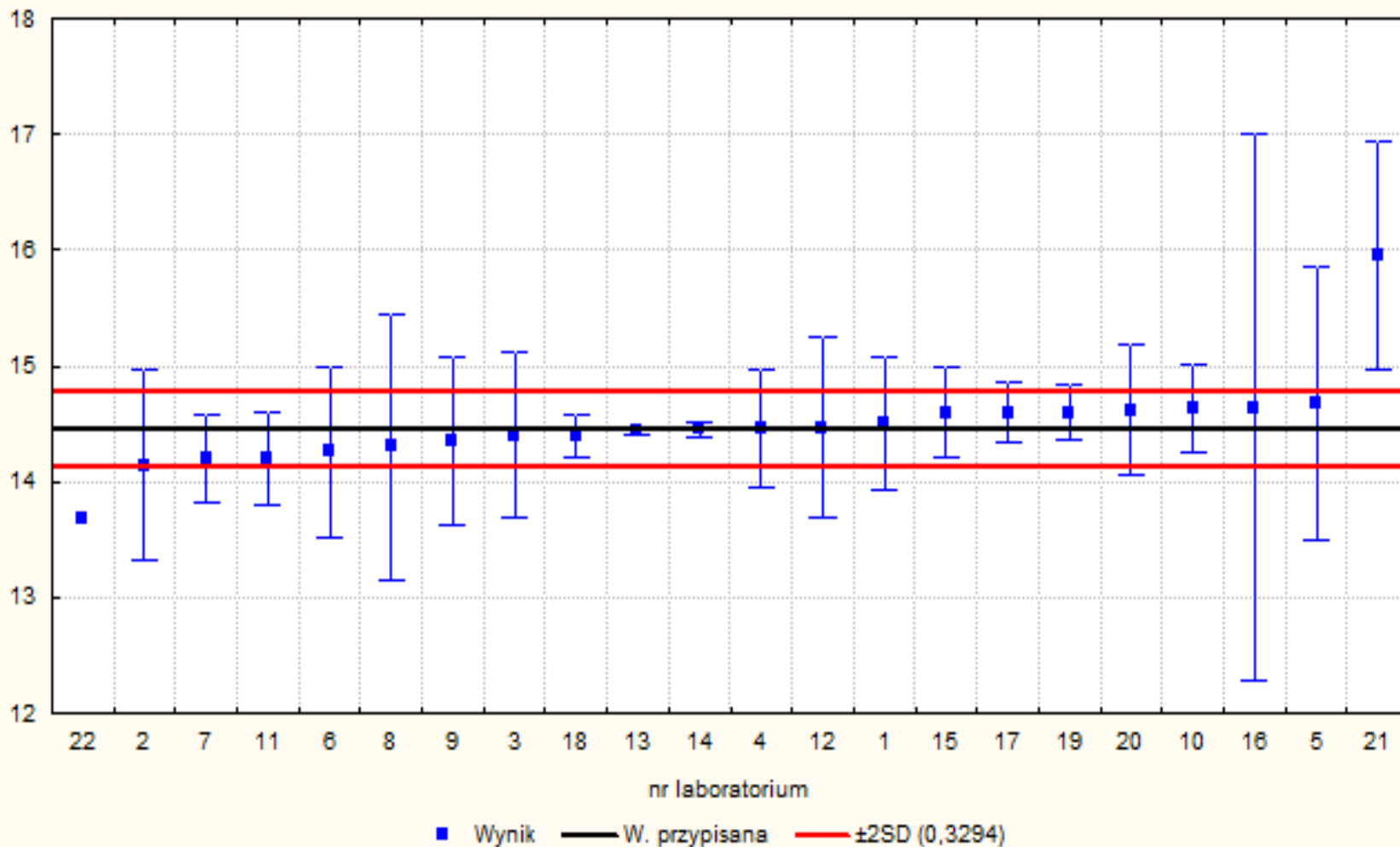


Przykład „PT Pasze 2013” Homogeniczność ?



- MPP gran. dla kurcząt brojlerów (M/13)
- Odchów trwa ~ 40 dni; zużycie paszy / 1 brojler = 4 kg
→ 100 g/ dziennie (m.c. = 2,3-2,5 kg)
- W dawce dziennej paszy ~ 100 g brojler powinien pobrać wszystkie niezbędne składniki odżywcze.
- Składniki odżywcze powinny być homogeniczne (równomiernie rozłożone) w 100 g paszy
- Homogeniczność składników odżywczych w 100 g paszy jest dostosowana do celu badań (odchów).
- Próbkę do badań wydzielona z próbki laboratoryjnej
→ 100 g

Wyniki badania białka ogólnego ($\bar{X} \pm U$, g/100g) w próbce M/13; $\bar{X}=14,45$ g/100g; $SD=0,165$; $H=0,35$
 $U= 2 \times SD = 0,33$ g/100g (2,28%) – niepewność rozszerzona z PT z niepewnością przygotowania



Wnioski

- Przedstawione tu proste statystyczne podejście do szacowania niepewności przygotowania próbek materiałów sypkich na przykładzie pasz może być użyteczne dla laboratorium współpracującym z klientem **w poznaniu charakterystyk fizykochemicznych badanych materiałów**, zwłaszcza ich jednorodności i skłonności do segregacji.
- Zaletą proponowanego sposobu jest **rozdzielenie składowej zmienności analitycznej od składowej zmienności technicznej** dzięki obliczeniu zmienności analitycznej (powtarzalności) z rozstępu pomiędzy powtórzeniami wg Nordtest TR 537 [2008] dla każdego badanego materiału.
- Zastosowane podejście pozwala na oszacowanie niepewności przygotowania próbki; jest **dostosowane do celu badań**
- Laboratorium powinno dążyć do **poznania właściwości fizykochemicznych (homogeniczność) badanych materiałów i produktów sypkich**.

**Dziękuję za uwagę
Pytania ?**

