



Badania biegłości w zakresie oznaczania składników mineralnych w paszach metodą AAS – przykłady wykorzystania wyników

**Waldemar Korol, Grażyna Bielecka,
Jolanta Rubaj, Sławomir Walczyński
Instytut Zootechniki PIB,
Krajowe Laboratorium Pasz w
Lublinie**



Zadania laboratorium referencyjnego wg rozp. (WE) nr 882/2004 PEiR



Art. 33 ust. 2 pkt 3) rozp. (WE) nr 882/2004

**3) organizacja badań porównawczych
pomiędzy krajowymi laboratoriami
urzędowymi oraz zapewnienie odpowiednich
późniejszych zastosowań takich badań
porównawczych**

Wybrane PT w zakresie badania składników mineralnych w paszach w latach 2004-10

Lp	PT/ILC symbol, rok (organizator)	Badane składniki mineralne metodami AAS	Liczba Lab	Liczba próbek	Liczba analiz
1	PT Pasze 2004 (KLP)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu	19	2	214
2	PT Pasze 2005 (KLP)		19	2	236
3	PT Pasze 2006 (KLP)		19	2	254
4	PT Pasze 2007 (KLP) ILC Selen 2007 (KLP)	Se w premiksach met. FAAS (1-5%)	23	2	278
			7	2	14
5	PT Pasze2008 (Pollab)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu	26	2	276
6	PT Prem 2008(Pollab)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Co, As, Cd, Pb	18	2	232
7	PT Pasze 2009 (KLP)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Se	23	2	274
8	PT Pasze 2010 (KLP)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Se	23	1	143
9	PT Prem 2010 (KLP)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, As, Cd, Pb	21	1	166
Razem PT (9) i ILC (1)			198(22)	18	2087

PT w zakresie badania homogeniczności pasz na podstawie składników mineralnych w latach 2006-10



PT w zakresie oceny homogeniczności produktów paszowych:

- Pt 2006 – Ca (250 g – 2 m-ki)
- PT 2007 – Ca (250 g – 2 m-ki)
- PT 2008 – Ca, Zn, Cu (250 g – 2 m-ki)
- PT 2008 – Ca Zn, Cu (100 g, 250 g – 2 m-ki)
- PT 2010 – Ca, Zn, Cu (100 g, m-ka, premiks)

65 lab – średnio 13/PT

**Badania biegłości
organizowane w ramach zadań
laboratorium referencyjnego w
latach 2004-2010**



**Techniki atomowej spektrometrii
absorpcyjnej AAS:**

- Technika płomieniowa FAAS- Ca, Mg, Na, K, Fe, Mn, Zn, Cu, Co, Se
- Technika bezpłomieniowa GFAAS – Cd, Pb
- Technika generowania wodoroków HGAAS – As, Se

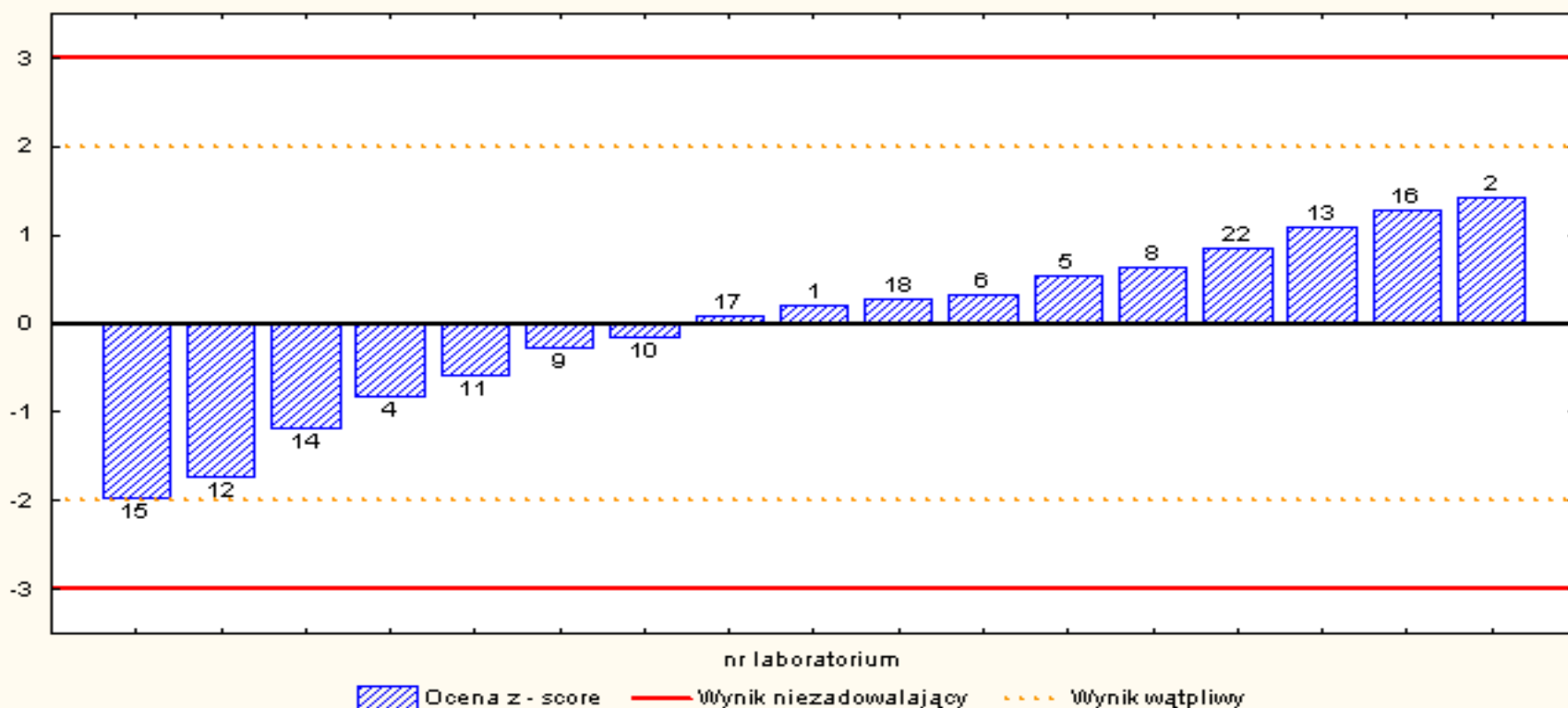
Organizacja PT

Do 2010 - Przewodnik ISO/IEC 43-1

Rok 2010 - PN-EN ISO/IEC 17043:2010

- badanie **homogeniczności materiałów testowych** wg FAPAS, ISO 17043:2010
- kodowanie próbek
- ocena statystyczna (wyniki **odbiegające** – np. test Grubbsa)
- **średnia**, mediana, odchylenie standardowe
- **wskaźnik z** (zeta score, liczba En gdy $|z| \sim 3 \sim 5$)
- ocena precyzji PT na podstawie **wskaźnika Horwitz'a** (Horrat H), $0,5 < H < 2$

Przykład: PT Pasze 2010. Histogram wyników badania miedzi w m-ce paszowej dla drobiu wartość przypisana 21,4 mg/kg; SD=1,49; H=0,47



Jak wykorzystać wyniki PT/ILC ?



Ocena kompetencji laboratoriów urzędowego nadzoru – PT Pasze 2010 (Z – 93,3%; H =0,84)

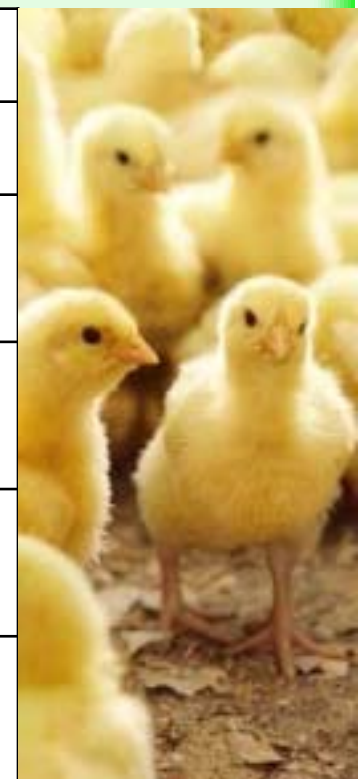
Parametr	n	Wartość przyp.	SD	Horrat H	Wyniki Z %
Wapń, g/kg	17	9,87	0,691	1,36	94,1
Magnez, g/kg	17	1,77	0,088	0,72	94,1
Sód, g/kg	16	1,43	0,073	0,70	93,7
Potas, g/kg	17	7,80	0,565	1,35	94,1
Miedź, mg/kg	17	21,4	1,49	0,47	100
Żelazo, mg/kg	17	201	30,5	1,50	88,2
Mangan, mg/kg	16	118	8,77	0,67	81,3
Cynk, mg/kg	17	144	7,71	0,50	94,1
Selen, mg/kg	9	0,35	0,034	0,31	100

Ocena kompetencji laboratoriów urzędowego nadzoru – PT Premiks 2010 (Z – 96,1%; H=0,87)

Parametr	n	Wartość przyp.	SD	Horrat H	Wyniki Z %
Wapń, g/kg	17	293	17,3	2,07	94,1
Magnez, g/kg	17	1,50	0,108	1,01	94,1
Sód, mg/kg	16	595	29,8	0,60	87,5
Potas, g/kg	17	1,32	0,094	0,98	94,1
Miedź, g/kg	17	1,55	0,068	0,19	100
Żelazo, g/kg	17	13,13	0,94	1,46	94,1
Mangan, g/kg	16	16,89	0,99	1,25	100
Cynk, g/kg	17	11,48	0,46	0,80	100
Selen, mg/kg	9	50,6	3,87	0,60	88,9
Arsen, mg/kg	7	4,25	0,26	0,31	100
Kadm, mg/kg	8	0,61	0,063	0,37	100
Olów, mg/kg	8	2,79	0,497	0,84	100

Ocena precyzji PT (kompetencji laboratoriów) na podstawie wskaźnika Horrat H ($0,5 < H < 2$)

Wyszczególnienie	Lata / wskaźnik Horrat H				
	2004	2005	2006	2007	2008
Makroelementy (Ca, P, Cl, Mg, Na, K)	1,9	1,1	1,2	1,2	1,3
Makroelementy-premiks- Ca, P, Cl, Mg, Na, K	-	-	-	-	1,7
Mikroelementy (Fe, Mn, Zn, Cu)	1,3	1,3	0,7	0,7	0,8
Mikroelementy-Premiks (Fe, Mn, Zn, Cu)	-	-	-	-	1,6

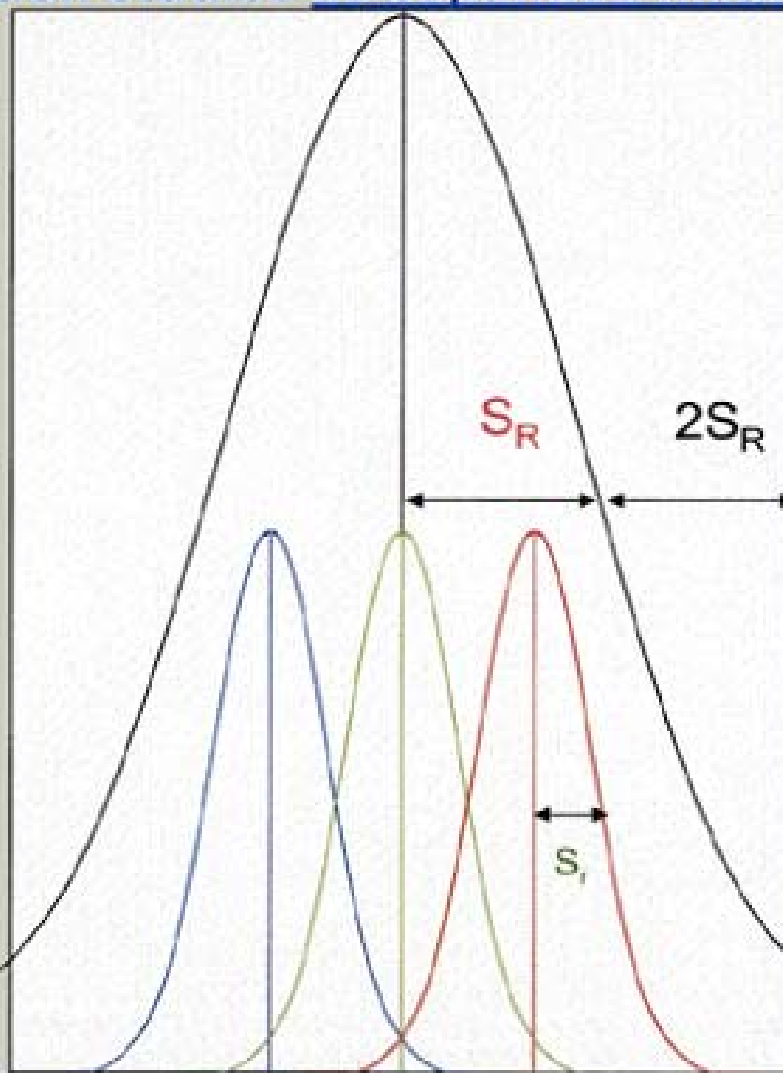


Ocena niepewności na podstawie wyników PT; $U = 2 \times SD$

- Wytyczne EA-04/16 – wskazują na możliwość wykorzystania odchylenia standardowego odtwarzalności z PT lub ILC jako złożonej niepewności standardowej u ($U = 2 \times u$).



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

(Outliers are to be eliminated)

Dr J. Schönherr (2006)

Porównanie rozszerzonych niepewności badania makro- i mikroelementów w paszach na podstawie PT 2004-2010



Składnik/ dodatek	Zakres zawartości	U=2 x CVR PT 2004-2008 Polska	U=2 x CVR LUFA Niemcy	U=2 x CVR (?) Węgry
Wapń	1-2 g/100g	5-14%	10%	10%
Magnez	do 1 g/100g	7-10%	13%	-
Sód	do 1g/100g	10-14%	14%	12,5%
Potas	do 1 g/100g	7-14%	11%	12,5%
Żelazo	>100 mg/kg	8-20%	16-22%	15%
Mangan	>100 mg/kg	10-15%	19%	15%
Cynk	>100 mg/kg	8-11%	16%	15%
Miedź	do 50 mg/kg	14-22%	20%	30%

Ocena niepewności na podstawie wyników PT – podejścia dośw. międzylab.

- wg RT Eurolab (2007) i Nordtest (2008)

- **Międzylaboratoryjne doświadczalne
podejście z wykorzystaniem badań
biegłości PT lub ILC**
- **Dane: (i) odtwarzalność
wewnątrzlaboratoryjna, (ii) wyniki
udziału w PT lub ILC – do obl.
obciążenia metody (bias)**

Szacowanie niepewności na podstawie wyników PT

- **Niezbędne dane:**
- **odtworzalność wewnątrzlaboratoryjna s**
- **błąd systematyczny b na podstawie wyników PT**

$$u = \sqrt{s^2 + b^2}$$

$$b = \sqrt{\Delta^2 + u_{ref}^2 + \frac{s_{ref}^2}{n}}$$

$$\Delta = \sqrt{\frac{\sum (bias_i)^2}{n}}$$

Wyniki badania niepewności U pomiaru miedzi metodą FAAS w mieszankach i premiksach i porównanie z danymi wg Horwitz'a



Miedź w paszach	Niep. rozsz. U = 2 x u - pod. dośw. z PT, %	Niep. rozsz. U = 2 x u - z równania Horwitz'a, %
Mieszanka paszowa (~ 20 mg/kg)	11,6%	20,3%
Premiks (~1500 mg/kg)	10,6%	10,6%

Jak sprawdzić dopuszczalne tolerancje wg rozp. 767/09 i rozp. 939/10 wykorzystując wyniki PT ?



Matematyczny model obliczania dopuszczalnych tolerancji



Dopuszczalne tolerancje wg zał IV rozp. 939/2010 obejmują odchylenia techniczne i analityczne (makroelementy) i techniczne (mikroelementy)

Aby obliczyć dopuszczalną standardową tolerancję tp (%) zastosowano model matematyczny oparty o prawo propagacji błędów Gaussa.

Matematyczny model obliczania dopuszczalnych tolerancji - cd



Standardową tolerancję t_p (%) obliczono wg wzoru [1]:

$$t_p = \sqrt{t_h^2 + t_a^2}$$

t_h – standardowa tolerancja techniczna – wyniki PT homogeniczność - RSD (%)

t_a – standardowa tolerancja analityczna (standardowa niepewność złożona metody (u) - wyniki PT/ILC - RSD (%).

Matematyczny model obliczania dopuszczalnych tolerancji - cd



**Szacowanie niepewności = tolerancji - P 95%.
Dopuszczalna tolerancję T_p (%) dla $k=2$:**

$$T_p = 2 \cdot t_p \quad [2]$$

Składnik paszy	Zawartość	PT/ILC RSD-% t_a -[1]*	Homo. CV-% t_h -[2]	t_p (%) Form. [1]	T_p (%) Form. [2]	T_p (% m/m)	Annex IV P. 2e	Oce- n a
Żelazo	371 mg/kg	10.6	4.2	11.4	22.8	-	20%	N
Żelazo	14.1 g/kg	7.4	4.2	8.5	17.0	-	10%	N
Mangan	210 mg/kg	7.0	4.2	8.2	16.4	-	20%	Z
Mangan	25.8 g/kg	6.0	4.2	7.3	14.6	-	10%	N
Cynk	212 mg/kg	5.5	4.2	6.9	13.8	-	20%	Z
Cynk	10.0 g/kg	6.5	4.2	7.7	15.4	-	10%	N
Miedź	25.8 mg/kg	8.1	6.7	10.5	21.0	-	20%	N
Miedź	4.16 g/kg	6.0	6.7	9.0	18.0	-	10%	N
Kobalt	159 mg/kg	8.6	4.2	12.3	24.6	-	20%	N
Kobalt	50 g/kg	8.6	1.5	8,7	17.4	-	10%	N
Selen	0.44 mg/kg	12.9	4.2	13.6	27.2	-	40%	Z
Selen	48.3 mg/kg	15.5	4.2	16.1	32.2	-	20%	N
Selen	45 g/kg	6.8	4.2	7,0	14,0	-	10%	N
Jod	1.46 mg/kg	10.7	4.2	11.5	23.0	-	20%	N
Jod	49.1 mg/kg	10.9	4.2	11.7	23.4	-	20%	N

Składnik paszy	Zawartość	PT/ILC RSD-% t_a -[1]*	Homo. CV-% t_h -[2]	t_p (%) Form. [1]	T_p (%) Form. [2]	T_p (% m/m)	Annex IV P. 2e	Oce- n a
Żelazo	371 mg/kg	10.6	4.2	11.4	8,4	-	20%	Z
Żelazo	14.1 g/kg	7.4	4.2	8.5	8,4	-	10%	Z
Mangan	210 mg/kg	7.0	4.2	8.2	8,4	-	20%	Z
Mangan	25.8 g/kg	6.0	4.2	7.3	8,4	-	10%	Z
Cynk	212 mg/kg	5.5	4.2	6.9	8,4	-	20%	Z
Cynk	10.0 g/kg	6.5	4.2	7.7	8,4	-	10%	Z
Miedź	25.8 mg/kg	8.1	6.7	10.5	13,4	-	20%	Z
Miedź	4.16 g/kg	6.0	6.7	9.0	13,4	-	10%	N
Kobalt	159 mg/kg	8.6	4.2	12.3	8,4	-	20%	Z
Kobalt	50 g/kg	8.6	4,2	8,7	8,4	-	10%	Z
Selen	0.44 mg/kg	12.9	4.2	13.6	8,4	-	40%	Z
Selen	48.3 mg/kg	15.5	4.2	16.1	8,4	-	20%	Z
Selen	45 g/kg	6.8	4,2	7,0	8,4	-	10%	Z
Jod	1.46 mg/kg	10.7	4.2	11.5	8,4	-	20%	Z
Jod	49.1 mg/kg	10.9	4.2	11.7	8,4	-	20%	Z

Szacowanie niepewności pobierania próbek pasz (inspiracja – PT Homo)



Homogeniczność (*homogeneity*) – **jednorodność**, podobieństwo rodzajowe (słownik)

Badamy homogeniczność i wyrażamy jako CV (%) (instr. GLW, kodeksy GMP). Czy słusznie ?

Przykład:

CV=5%. Co to znaczy ? Homogeniczność wynosi 5% czy raczej **niejednorodność wynosi 5%** a **homogeniczność wynosi** (100-5)% tj. **95%**

Szacowanie niepewności pobierania próbek pasz (inspiracja – PT Homo)



Przykład-c.d.:

CV=5%.

Pytanie? Jaki powinien być akceptowany przedział wartości z P = 95% (k=2)?

Odp. $2 \times CV = 2 \times 5\% = 10\%$.

Akceptowana homogeniczność badanego składnika 100 ± 10% (90% -110%)

CV badanego składnika zawiera 2 składowe:
(i) zmienność metody (powtarzalność)
(ii) zmienność składnika paszy (niejednorodność)
Jak rozdzielić te składowe aby obliczyć tylko
niejednorodność (tolerancję techniczną)
badanego składnika paszy ?



Sposób obliczenia niejednorodności nie obciążonej zmiennością metody – stosujemy prawo propagacji Gaussa



$$CV_m = \sqrt{CV_r^2 + CV_h^2}$$

$$CV_h = \sqrt{CV_m^2 - CV_r^2}$$

gdzie:

CV_m – obliczony współczynnik zmienności

CV_r – współczynnik zmienności metody (powtarzalność)

CV_h – współczynnik zmienności niejednorodności badanego składnika (standardowa niejednorodność)

Jak wykorzystać obliczoną niejednorodność do oszacowania niepewności badania z uwzględnieniem niep. pobierania próbek ?



Założenia:

- **Standardowa niejednorodność CV_h może stanowić składową niepewności pobierania próbki w budżecie niepewności.**
- **Sposób pobierania próbek pasz zgodny z zaleceniem (rozp. 152/2009): masa próbki pierwotnej ~ 100g, liczba próbek w serii – do 10 próbek (min 6)**

Korzyści z PT - wnioski

1. Ocena jakości pracy i kompetencji lab
2. Szacowanie niepewności metody z wykorzystaniem obciążenia metody (bias) z PT
3. Szacowanie niepewności metody z wykorzystaniem SDR (%), $U = 2 \times SDR$
4. Ocena dopuszczalnych tolerancji składników mineralnych w paszach wg rozp. PEiR 767/2009 – zmiana wymagań w rozp. Komisji 939/2010
5. Szacowanie niepewności pobierania próbek materiałów sypkich i niepewności przygotowania próbki do badań

Dziękuję za uwagę

Pytania ?



**Instytut Zootechniki-PIB, Krajowe Laboratorium Pasz,
ul.Chmielna 2, 20-079 Lublin, tel/fax +48 81 7436349**

www.klp.izoo.krakow.pl

Symposium GBC, Ślesin 16-18
maja 2011