

# BADANIA BIEGŁOŚCI W ZAKRESIE WYBRANYCH SUBSTANCJI NIEPOŻĄDANYCH I SZKODLIWYCH W PASZACH

Waldemar Korol

Instytut Zootechniki Państwowy Instytut Badawczy  
Krajowe Laboratorium Pasz w Lublinie (Polska)

*Oceniono wyniki wieloletnich badań biegłości (PT) w zakresie wybranych substancji niepożądanych i szkodliwych w paszach. Wyniki wykorzystano do oceny kompetencji laboratoriów upoważnionych do badań w ramach urzędowej kontroli i do oceny obciążenia (bias) metody oraz oszacowania niepewności na podstawie podejść doświadczalnych międzylaboratoryjnych. Do oceny precyzji PT wykorzystano wskaźnik Horwitz'a (HorRat - H). Niepewność obliczano na podstawie odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej i obciążenia metody z PT/ILC wg Raportu Technicznego Eurolab nr 1/200 i/lub podręcznika Nordtest. Kryteria wykorzystania wyników PT do badania obciążenia metody i niepewności pomiaru to oparcie obliczeń na co najmniej sześciu wynikach PT ( $PT \geq 6$ ), uwzględnianie tylko wyników zadowolających uzyskanych przez laboratorium o wskaźniku  $z < 2$  (najlepiej  $\leq 1$ ) i akceptowanej precyzji PT ( $0,5 < H < 2$ ).*

Wyniki badań pasz prowadzonych przez upoważnione laboratoria w ramach urzędowej kontroli służą do potwierdzenia wymagań określonych w przepisach i stanowią podstawę podejmowania decyzji przez upoważnione instytucje. Wyniki badań powinny być wiarygodne, stanowiąc podstawę do obiektywnej oceny zgodności badanej paszy z wymaganiami. Istotnym elementem systemu zapewnienia jakości w laboratorium jest uczestnictwo w badaniach biegłości (PT). Pozwala na określenie błędu systematycznego (obciążenie) metody i laboratorium, co jest istotne zwłaszcza w przypadku trudności w pozyskaniu certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) o matrycach paszowych. Pozwala również na obliczenie niepewności pomiaru badanego składnika daną metodą.

Znajomości niepewności metody jest niezbędna do właściwej interpretacji wyników badania substancji niepożądanych i szkodliwych w paszach i oceny zgodności z wymaganiami w tym zakresie. W związku z przypadkami fałszowania wysokobiałkowych materiałów paszowych mocznikiem w celu podwyższenia zawartości białka ogólnego, również mocznik uznano za substancję niepożądaną, w przypadku braku deklaracji o jego obecności.

Podstawowe (modelowe) podejście szacowania niepewności pomiaru w laboratorium opiera się na tworzeniu budżetu składowych niepewności i wykorzystaniu prawa propagacji błędów Gauss'a. Podejście to, powszechnie stosowane przez laboratoria, zostało przedstawione w przewodniku GUM (3) i w dostępnym już trzecim wydaniu przewodnika EURACHEM /CITAC [1]. W praktyce laboratoria nie uwzględniają wszystkich składowych w budżecie niepewności, zwłaszcza obciążenia metody (*bias*), co może skutkować jej niedoszacowaniem. Szacowanie niepewności metodą standardową [3] jest trudne, zwłaszcza w przypadku równoległego badania wielu składników lub w przypadku nietrwałych analitów w nietrwałych matrycach (np. badania materiałów biologicznych). Dlatego ważna jest możliwość sprawdzenia niepewności przy wykorzystaniu innych, praktycznych podejść.

Podstawy doświadczalnego podejścia do szacowania niepewności pomiaru z wykorzystaniem wyników badań certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) i wyników uczestnictwa laboratorium w badaniach biegłości (PT) lub porównaniach międzylaboratoryjnych (ILC) podano w Raporcie Technicznym (RT) Eurolab nr 1/2007 [2] i w podręczniku Nordtest (4). Wg przewodnika Eurachem/CITAC (1) dane z badań biegłości PT mogą dostarczyć użytecznych

informacji do oceny niepewności pomiarów w laboratorium i/lub sprawdzenia niepewności określonej metodą standardową [3]. Zaletą PT jest duże podobieństwo badanych materiałów testowych do rzeczywistych próbek badanych rutynowo w laboratorium. Wadą może być brak możliwości wykazania spójności pomiarowej w przypadku gdy wartość przypisana jest określana na podstawie wyników uczestników.

Celem pracy było określenie kryteriów wykorzystanie wyników PT/ILC do oceny obciążenia metody i niepewności pomiaru wybranych substancji niepożądanych jak Ares, fluor kadm i ołów oraz mocznika i wykorzystanie tych parametrów do oceny wyników badań. Wyniki badania niepewności uzyskane na podstawie danych z PT/ILC porównano z uzyskanymi przy wykorzystaniu podejścia modelowego [4] oraz z obliczonymi z równania Horwitz'a [5].

**Materiały i metody.** Krajowe Laboratorium Pasz IZPIB (KLP), w ramach zadań laboratorium referencyjnego, organizuje od 2004 r. PT/ILC z udziałem laboratoriów krajowych upoważnionych do badań pasz w ramach urzędowej kontroli (laboratoria ZHW i inne upoważnione). Celem tych badań jest ocena kompetencji laboratoriów i wykorzystanie wyników PT/ILC do walidacji i akredytacji metod badań. Przeprowadzono 16 PT i 24 ILC. Do roku 2009 PT/ILC były organizowane zgodnie z przewodnikiem ISO/IEC 43-1 a od 2010 r. zgodnie z normą ISO 17043 [6]. Zbadano 22 próbki materiałów paszowych, mieszanek paszowych pełnoporcjowych i uzupełniających MPU oraz premiksów. Wykonano łącznie 279 analiz. Informację dotyczącą organizowanych PT/ILC zamieszczono w tab. 1. Ponadto KLP uczestniczyło w licznych międzynarodowych badaniach biegłości organizowanych przez laboratoria referencyjne krajów UE (Austria, Węgry). Dane z PT/ILC zostały wykorzystane m.in. do oszacowania niepewności na podstawie podejścia międzylaboratoryjnego.

Tabela 1

**Badania biegłości (PT) i porównania międzylaboratoryjne (ILC) w zakresie substancji niepożądanych i szkodliwych wykonane w latach 2006-2013**

Lp.	Symbol PT/ILC, rok	Badane składniki, substancje	Liczba Lab	Liczba próbek	Ilość analiz
10	PT Premiks 2008	Arsen, fluor, kadm, ołów w premiksach paszowych	9	2	68
11	PT Premiks 2010		7	1	26
12	PT Premiks 2011		7	1	28
13	PT Premiks 2012		6	2	50
14	PT 2008 Azotyny	Azotyny w mączce mięsnej	9	1	9
	ILC Mocznik 2007	Mocznik ( mieszanki, drożdże)	7	3	21
	ILC Mocznik 2007	Mocznik w mieszankach paszowych	7	3	21
	ILC Mocznik 2013	Mocznik w drożdżach paszowych	8	3	24
19	ILC Fluor 2006	Fluor w fosforanach paszowych	4	2	8
20	ILC Fluor 2007		4	1	4
21	ILC Azotyny 2010	Azotyny w wysłódkach buraczanych	7	1	7
22	ILC Azotyny 2011	Azotyny w materiale paszowym	8	1	8
23	ILC Gossypol 2010	Gossypol w nasionach bawełny	5	1	5
Razem PT i ILC (36) tab 1 i 2			88	22	279

Jako kryterium oceny własnych wyników przyjęto wskaźnik z (lub zeta –score) stosowany zwykle przez organizatora PT/ILC i uwzględniano tylko wyniki zadowolające. Do oceny jakości i precyzji PT/ILC przyjęto wskaźnik Horwitz'a (HorRat H) obliczony z równania Horwitz'a [5]. Jeżeli wartość wskaźnika HorRat mieściła się w granicach  $0,5 < H < 2$ , uznawano oceniane PT/ILC za wystarczająco precyzyjne. Jeżeli  $H > 3$  wyniki PT/ILC nie były brane pod uwagę przy szacowaniu niepewności pomiaru.

Do oceny obciążenia i niepewności pomiaru wykorzystano wyniki PT/ILC w zakresie badania substancji niepożądanych i szkodliwych. Metodą ETAAS oznaczano kadm i ołów,

natomiast arsen badano metodą HGAAS, zgodnie z zalecanymi procedurami. Fluor badano metodą potencjometryczną z wykorzystaniem elektrody jonoselektywnej ISE. Mocznik badano oficjalną metodą spektrofotometryczną, zgodnie z rozp. 152/2009 [7].

Standardowa niepewność złożona ( $u$ ) była obliczana na podstawie odtwarzalności wewnątrzlaboratoryjnej ( $s$ ) jako miary precyzji pomiaru i obciążenia metody ( $b$ ) wg wzoru (1). Niepewność rozszerzoną obliczano przy zastosowaniu współczynnika rozszerzenia  $k=2$ .

$$u = \sqrt{s^2 + b^2} \quad (1)$$

Obciążenie obliczano z równania (2) podanego w Raporcie Technicznym Eurolab nr 1/2007 (2)

$$b = \sqrt{\Delta^2 + u_{PT}^2 + \frac{s_{PT}^2}{n}} \quad (2)$$

lub z równania (3) w podręczniku Nordtest (4),

$$b = \sqrt{\Delta^2 + u_{PT}^2} \quad (3)$$

$$\Delta = \sqrt{\frac{\sum (bias_i)^2}{n}} \quad (4)$$

w których:  $\Delta$  – średnie odchylenie wyników laboratorium;  $u_{PT}$  – niepewność wartości przypisanej obliczona wg ISO 13528 ( $u_{PT} = 1.25 s_{PT} / \sqrt{n}$ );  $s_{PT} / \sqrt{n}$  – niepewność pomiarów obciążenia. Do oceny precyzji PT/ILC stosowano wskaźnik HorRat (H), obliczony jako iloraz  $\sigma/s_{PT}$  gdzie  $\sigma$  jest docelowym odchyleniem standardowym obliczonym z równania Horwitza w modyfikacji Thompsona (8)  $\sigma = 0,023 \cdot C^{0,826}$  (akceptowane wartości  $0,5 < H < 2$ ) a  $s_{PT}$  jest odchyleniem standardowym z PT/ILC.

**Wyniki i dyskusja.** Wyniki oceny obciążenia metod badania mocznika (tab. 2) wskazywały na brak różnic większych niż 0,4 % pomiędzy wartościami obliczonymi z równań (2) i (3), nawet przy niewielkiej liczbie PT ( $\geq 4$ ) i niskiej średniej liczbie laboratoriów uczestniczących w PT (6-9). W przypadku badania mocznika należy odnotować zadowalającą precyzję PT ( $H \approx 1$ ).

Tabela 2

**Ocena precyzji PT i wykorzystanie wyników badania makroelementów, mikroelementów i pierwiastków toksycznych w paszach do obliczenia obciążenia (b,%) i niepewności pomiaru (u,%)**

Pierwiastek, zawartość średnia	n PT	n lab /PT	H średnie	$s_w$ (%)	Równanie (2)			Równanie (3)		
					b (%)	u (%)	U (%)	b (%)	u (%)	U (%)
As, 4,3 mg/kg	7	11	0,44	6,1	6,7	9,0	18,0	6,2	8,6	17,2
F, 35 mg/kg	4	3	0,60	6,4	10,7	12,5	25,0	9,9	11,8	23,6
Cd, 0,70 mg/kg	13	19	0,53	7,8	8,3	11,4	22,8	7,8	11,1	22,2
Pb, 4,0 mg/kg	11	16	0,79	4,7	12,1	12,9	25,8	11,3	12,2	24,4
Mocznik, 38 g/kg	4	7	1,05	2,5	5,6	6,1	12,2	5,4	5,9	11,8

nPT – liczba PT na podstawie których wykonano obliczenia; n lab – średnia liczba laboratoriów w PT

W tab. 3. porównano niepewności rozszerzone obliczone na podstawie danych z PT/ILC, metodą standardową wg GUM (3) i z równania Horwitz'a [5]. W przypadku arsenu kadmu i ołowiu niepewności pomiaru obliczono na podstawie podejścia doświadczalnego wewnątrzlaboratoryjnego z wykorzystaniem CRM (tab. 3). Były one zbliżone do uzyskanych z PT i z reguły niższe od obliczonych z równania Horwitz'a [5]. Niepewność pomiaru mocznika obliczona metodą wg GUM była zbliżona do uzyskanej prezentowaną tu metodą na podstawie wyników ILC (tab. 3). Największe różnice stwierdzono w przypadku fluoru, co może wskazywać na niedoszacowanie niepewności obliczonej metoda standardową wg GUM [3].

**Porównanie wyników badania niepewności rozszerzonych na podstawie danych z PT/ILC, obliczonych metodą modelową wg GUM (3) i obliczonych z równania Horwitz'a (5), U (%)**

Badany składnik, zawartość średnia	PT/ILC	Wg GUM	Horwitz
As, 4,3 mg/kg	18,0	25,0*	25,5
F, 35 mg/kg	25,0	10,2	18,6
Cd, 0,70 mg/kg	22,8	24,0*	33,5
Pb, 4,0 mg/kg	25,8	16,0*	25,8
Mocznik, 38 g/kg	12,2	10,0	6,6

\* niepewność obliczona na podstawie podejścia doświadczalnego wewnątrzlaboratoryjnego z wykorzystaniem CRM; h - obliczono z równania Horowitza; a – obliczono z PT/ILC w latach 2004-2008

Niepewność jest użyteczna do wyrażania wyników pomiaru substancji niepożądanych w sprawozdaniu z badań i do interpretacji wyników badań. W przypadku substancji niepożądanych, zgodnie z rozporządzeniem 152/2009 [7], wynik należy uznać za niezgodny tylko w takim przypadku gdy dolna granica przedziału tolerancji analitycznej (niepewności) jest powyżej maksymalnej zawartości.

W podsumowaniu można sformułować następujące kryteria wyboru i wykorzystania wyników badań PT/ILC do oceny obciążenia metody i szacowania niepewności:

— uwzględnianie PT/ILC organizowanych zgodnie z normą ISO 17043 o zadowalającej precyzji, której miarą jest wskaźnik HoRrat H mieszczący się w granicach  $0,5 < H < 2$ . Jeżeli  $H > 3$  wyniki PT/ILC nie powinny być brane pod uwagę przy szacowaniu niepewności pomiaru;

— uwzględnianie tylko wyników o zadowalających wskaźnikach przyjętych przez organizatora (*z-score*, *zeta-score*);

— przy liczbie PT/ILC  $\geq 6$ , wartości HorRat  $\approx 1$  (korzystnie  $H \leq 1$ ) i liczbie laboratoriów uczestniczących w PT/ILC  $\geq 10$ , można nie uwzględniać niepewności obciążenia ( $s_{PT} / \sqrt{n}$ ) przy obliczaniu niepewności pomiaru (równanie wg Nordtest); w innym przypadku niepewność pomiaru powinna być uwzględniona a obciążenie (b) obliczone wg równania podanego w przewodniku Eurolab RT 1/2007/

## W N I O S K I

1. Przedstawiony sposób obliczania obciążenia (*bias*) na podstawie wyników PT w zakresie substancji niepożądanych i szkodliwych odnosi się do obciążenia metody i laboratorium.

2. Niepewność obliczona na podstawie wyników PT/ILC może być wykorzystana do sprawdzenia niepewności metody badania substancji niepożądanej w paszach obliczonej wg GUM.

3. Wyniki PT/ILC laboratoriów upoważnionych do badań w ramach urzędowej kontroli substancji niepożądanych i szkodliwych mogą być wykorzystane do budowy spójnego systemu oceny niepewności i interpretacji wyników badań.

## PROFICIENCY TESTING IN THE SCOPE OF UNDESIRABLE AND HARMFUL SUBSTANCES IN FEEDS

*Waldemar Korol*

Institute of Zootechnics  
National Laboratory for Feedingstuffs (Poland)

## S U M M A R Y

The paper includes the evaluation of results of proficiency testings (PTs) of undesirable and harmful substances in feeds. Results were used to confirm the competency of participated laboratories as well as to evaluate the laboratory bias of the method and to measure the uncertainty on grounds of the practical interlaboratory approaches. Horwitz' ratio (HorRat H) was used to evaluate precision of PTs. For calculation of uncertainty, with-in laboratory reproducibility and bias from PTs were used, according to Eurolab Technical Report No 1/2007 and/or Nordtest handbook. Criteria for using PT results for calculation of bias and uncertainty were as follow: not less than 6 PT results ( $PT \geq 6$ ), only satisfactory laboratory results with z-score  $<2$  (preferably  $\leq 1$ ) and acceptable precision of PTs ( $0,5 < H < 2$ ) can be taken into account.

### **МІЖЛАБОРАТОРНІ ПОРІВНЯЛЬНІ ВИПРОБУВАННЯ НЕБАЖАНИХ І ШКІДЛИВИХ РЕЧОВИН У КОРМАХ**

*Вальдемар Король*

Інститут Зоотехніки, Національна Лабораторія Кормів в Любліні (Польща)

#### **А Н О Т А Ц І Я**

Наведені результати багаторічних міжлабораторних порівняльних випробувань (ПВ) для деяких небажаних і шкідливих речовин в кормах. Результати були використані для оцінки компетентності лабораторій, уповноважених для офіційного контролю і виміру методолабораторного упередження, а також оцінки невизначеності вимірів на основі експериментального міжлабораторного підходу. Рівняння Хорвица (HorRat H) було використане для оцінки прецизійності ПВ. Невизначеність розраховувалася на основі внутрішньолабораторної відтворюваності і зміщення методу, а також результатів ПВ /ІЛС, згідно з Технічним Звітом Eurolab nr 1/200 і Керівництву Nordtest. Критерії використання результатів ПВ для виміру зміщення методу і невизначеності вимірів спиралися, принаймні, на шести результатах ПВ ((ПВ)  $\geq 6$ ), бралися до уваги тільки задовільні результати, отримані лабораторією з z індексом  $<2$  (переважно  $\leq 1$ ) і акцептованою прецизійністю ПВ ( $0,5 < H < 2$ ).

### **МЕЖЛАБОРАТОРНЫЕ СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ НЕЖЕЛАТЕЛЬНЫХ И ВРЕДНЫХ ВЕЩЕСТВ В КОРМАХ**

*Вальдемар Король*

Институт Зоотехники, Национальная Лаборатория Кормов в Люблине (Польша)

#### **А Н Н О Т А Ц И Я**

Приведены результаты многолетних межлабораторных сравнительных испытаний (СИ) для некоторых нежелательных и вредных веществ в кормах. Результаты были использованы для оценки компетентности лабораторий, уполномоченных для официального контроля и измерения метода лабораторного предубеждения, а также оценки неопределенности измерений на основе экспериментального межлабораторного подхода. Уравнение Хорвица (HorRat H) было использовано для оценки прецизионности СИ. Неопределенность рассчитывалась на основе внутрилабораторной воспроизводимости и смещения метода, а также результатов СИ/ІЛС, согласно Техническому Отчету Eurolab nr 1/200 и Руководству Nordtest.

Критерии использования результатов СИ для измерения смещения метода и неопределенности измерений опирались, по крайней мере, на шести результатах СИ ( $PT \geq 6$ ), принимались во внимание только удовлетворительные результаты, полученные лабораторией с  $z$  индексом  $< 2$  (предпочтительно  $\leq 1$ ) и акцептированной прецизионностью СИ ( $0,5 < H < 2$ ).

## L I T E R A T U R A

1. *Ellison S. L.R., Williams A.* (Eds) Eurachem/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements, Third edition, (2012) ISBN 978-0-948926-30-3. Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org)
2. EUROLAB Technical Report 1/2007. Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Eurolab, Paris 2007. Wydanie polskie: Biuletyn POLLAB Nr 1/48/2007.
3. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM). 1993. Wydanie PL: Wyrażanie niepewności pomiaru. Przewodnik. Wyd. Główny Urząd Miar, Warszawa, 1999.
4. Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories. Nordtest TR 537, Version 3, 2008. Wydanie polskie: Biuletyn POLLAB Nr 2/51/2008.
5. *Horwitz W., Albert R.*: The Horwitz Ratio (HorRat). A useful index of method performance with respect to precision. J AOAC International 2006. — 89. — 1095–1109 p.
6. Norma PN-EN ISO/IEC 17043:2011. Ocena zgodności. Ogólne wymagania dotyczące badania biegłości.
7. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 152/2009 z dnia 27 stycznia 2009 r. ustanawiające metody pobierania próbek i dokonywania analiz do celów urzędowej kontroli pasz. Dz. Urz. UE L 54/1 z 26.02.2009.
8. *Thompson M.*: The amazing Horwitz function. AMC Technical Brief No. 17, July 2004 ([amc\amctb\statssc\horwitzb\\_v2.doc](#)).