

BADANIA BIEGŁOŚCI W ZAKRESIE DODATKÓW PASZOWYCH

Jolanta Rubaj

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

Oceniono wyniki wieloletnich badań biegłości (PT) w zakresie wybranych dodatków paszowych. 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 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 zadowalających uzyskanych przez laboratorium o wskaźniku $z < 2$ (najlepiej ≤ 1) i akceptowanej precyzji PT ($0,5 < H < 2$).

Uczestnictwo w badaniach biegłości (PT) stanowi ważny element systemu zapewnienia jakości w laboratorium. Daje możliwość porównania swoich rezultatów z wynikami uzyskanymi przez inne laboratoria oraz potwierdzenia i udokumentowania kompetencji.

Wyniki PT i porównań międzylaboratoryjnych (ILC) dostarczają kierownictwu laboratorium obiektywnej oceny zdolności laboratorium do przeprowadzenia określonych badań. Organizacja porównań międzylaboratoryjnych i zapewnienie odpowiedniego późniejszego zastosowania wyników takich badań porównawczych jest jednym z zadań krajowych laboratoriów referencyjnych. Zadanie to zostało podane w art. 33 ust. 2c Rozporządzenia nr 882/2004 w sprawie kontroli urzędowych żywności i pasz. 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]. Jednak nie uwzględnienie wszystkich składowych w budżecie niepewności może skutkować jej niedoszacowaniem. Inną przyczyną niedoszacowania niepewności podczas walidacji metody jest nie uwzględnianie obciążenia metody (*bias*). Podstawy doświadczalnego podejścia do szacowania niepewności pomiaru z wykorzystaniem wyników badań certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) i wyników uczestnictwa laboratorium w PT/ILC podano w Raporcie Technicznym (RT) Eurolab nr 1/2007 [2] i w podręczniku Nordtest [4]. Podejścia te, zwane podejściami praktycznymi, zostały wymienione także w najnowszym przewodniku Eurachem/CITAC Guide CG 4 [1] dotyczącym obliczania niepewności pomiarów analitycznych i w normie ISO 11352:2012. 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. 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.

Wobec trudności w pozyskaniu CRM laboratorium może wykorzystać wyniki uczestnictwa w PT/ILC do oszacowania niepewności pomiaru. Szacując niepewność pomiaru analitów na podstawie danych z PT/ILC, niezbędna jest ocena wyników własnych badań jak również ocena jakości i precyzji PT/ILC.

Celem pracy było określenie kryteriów wykorzystania wyników PT/ILC do oceny obciążenia metody i niepewności pomiaru wybranych dodatków paszowych oraz wykorzystanie

tych parametrów do interpretacji wyników. Wyniki badania niepewności uzyskane na podstawie danych z PT/ILC porównano z uzyskanymi przy wykorzystaniu podejścia modelowego [3] 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. Dane z PT/ILC są wykorzystane m.in. do oszacowania niepewności na podstawie podejścia doświadczalnego międzylaboratoryjnego.

Tabela 1

Porównania międzylaboratoryjne organizowane w latach 2004-2012

Lp.	Symbol ILC, rok	Badane składniki, substancje	Liczba lab	Liczba próbek	Ilość analiz
1	ILC Wit 2006	Witaminy A, E (octan tokoferolu), B ₁ , B ₂ , D ₃ , etoksyquin w mieszankach paszowych i premiksach	5	2	20
2	ILC Wit 2007		7	2	28
3	ILC Wit 2009		7	1	29
4	ILC Wit 2010		7	2	43
4	ILC Wit 2011		6	2	32
6	ILC Try 2006	Tryptofan	3	2	6
7	ILC Try 2007		4	1	4
8	ILC AA 2009	Aminokwasy (18) w materiałach i mieszankach paszowych	6	1	74
9	ILC AA 2010		5	2	112
10	ILC AA 2011		6	2	148
11	ILC EQ 2006	Etoksyquin - mieszanka, premiks	3	2	6
12	ILC B2 2007	Witamina B2 - mieszanka, premiks	5	2	10
		Razem ILC (24)	64	21	512

Interpretacja wyników analizy jest ważnym elementem kontroli jakości pasz. Na ich podstawie podejmowane są decyzje o zgodności produktu z wymaganiami. Laboratoria powinny pracować w udokumentowanym systemie zarządzania a wyniki wykonywanych badań powinny być wiarygodne. Jednocześnie od laboratoriów coraz częściej oczekuje się podania niepewności wyniku pomiaru. W przepisach „prawa paszowego” występują różne określenia, które powinny być prawidłowo odniesione do interpretowanego wyniku i powiązane z odpowiednimi rozporządzeniami MRiRW.

Analizę statystyczną wyników PT przeprowadzano zgodnie z normą ISO 13528:2005. Wartość przypisaną określono na podstawie wyników badań uczestników PT. Uzasadnieniem tego podejścia była ocena wyników poprzednich PT/ILC i uwzględnienie w ocenie deklaracji zawartości badanych dodatków przez producenta premiksów. Jako kryterium oceny własnych wyników przyjęto wskaźnik z (lub zeta –score) stosowany zwykle przez organizatora PT/ILC i uwzględniano tylko wyniki zadowalające. Do oceny precyzji przeprowadzonych badań wykorzystano również wskaźnik Horwitza (Horrat). Wprawdzie norma PN-EN ISO/IEC 17043:2010 nie wymaga podawania wartości wskaźnika Horwitza w sprawozdaniach z PT, jednak własne doświadczenia oparte na danych literaturowych wskazują na użyteczność tego parametru do oceny precyzji badań. Do oceny obciążenia i niepewności pomiaru wykorzystano wyniki PT/ILC w zakresie badania niektórych dodatków paszowych.

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: Δ – 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 σ / s_{PT} gdzie σ 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. Jeżeli $H > 3$ wyniki PT/ILC nie są brane pod uwagę przy szacowaniu niepewności pomiaru [6].

Wyniki i dyskusja. Wyniki badania obciążenia metod i niepewności pomiarów wybranych dodatków paszowych w paszach zamieszczono w tab. 2. Wyniki oceny obciążenia metod badania lizyny, metioniny, treoniny i mocznika (tab. 2) wskazywały na brak różnic większych niż 0,4 % pomiędzy wartościami obliczonymi z równań (2) i (3), nawet przy niewielkiej licznie PT (≥ 4) i niskiej średniej liczbie laboratoriów uczestniczących w PT (7-9). W przypadku badania tych dodatków należy odnotować wysoką precyzję PT ($H \approx 1$). Przy niższej precyzji PT (witamina A i E, $H = 1,4-1,9$) niepewności szacowania obciążenia powinna być uwzględniona przy obliczaniu niepewności (tab. 5). Różnice niepewności rozszerzonych obliczone przy wykorzystaniu równania (2) i (3) wyniosły w przypadku witaminy A i E około 2 %.

Tabela 2

Ocena precyzji PT i wykorzystanie wyników badania niektórych dodatków paszowych w paszach do obliczenia obciążenia (b,%) i niepewności pomiaru (u,%)

Dodatek, zawartość średnia	n PT	n lab /PT	H średnie	s_w (%)	Równanie (2)			Równanie (3)		
					b (%)	u (%)	U (%)	b (%)	u (%)	U (%)
Wit A, 2000 $\mu\text{m/g}$	9	8	1,45	3,4	8,9	9,5	19,0	7,9	8,6	17,2
Wit E, 8 g/kg	9	8	1,93	1,6	7,3	7,5	15,0	6,3	6,5	13,0
Liz, 19 g/kg	21	9	0,77	3,1	3,7	4,8	9,6	3,5	4,6	9,2
Met, 7 g/kg	9	8	1,01	5,4	5,6	7,7	15,4	5,2	7,5	15,0
Tre, 12 g/kg	16	7	0,76	2,7	4,1	4,9	9,8	3,9	4,7	9,4

Niepewności pomiaru witamin A i E obliczone na podstawie wyników PT/ILC były wyższe od uzyskanych z równania Horwitz'a ale możliwe do zaakceptowania ($H < 2$; tab. 2). W przypadku aminokwasów: lizyny, metioniny i treoniny stosowano w laboratorium niepewność obliczoną na podstawie wyników PT/ILC z lat 2004-2008 (tab. 2). Porównanie tych wartości z obliczonymi na podstawie aktualnych danych z PT/ILC wskazuje na potrzebę korekty niepewności pomiaru treoniny. Niepewność pomiaru mocznika obliczona metodą wg GUM była zbliżona do uzyskanej prezentowaną tu metodą na podstawie wyników ILC (tab. 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
Wit A, 2000 jμg/g	19,0	-	12,2
Wit E, 8 g/kg	15,0	-	8,2
Liz, 19 g/kg	9,6	10,0 a	7,2
Met, 7 g/kg	15,4	15,0 a	8,4
Tre, 12 g/kg	9,8	17,0 a	7,8

Oceniając możliwości wykorzystania wyników uczestnictwa w PT/ILC do sterowania jakością badań przytoczono przykład oceny stopnia odzysku witaminy A, badanej metodą HPLC [11] w mieszankach paszowych, określonego podczas walidacji na poziomie 96,0 %. Testem Studenta-t nie stwierdzono różnic pomiędzy uzyskanym odzyskiem a odzyskiem pełnym (100 %). Jednak analiza wyników badania witaminy A w mieszankach paszowych, uzyskanych przez laboratorium w PT/ILC, wskazywała na przewagę wyników o ujemnych wartościach *z-score*. W tabeli 4 podano wyniki przeliczenia danych z PT/ILC na odzysk 100 %. Uzyskano niższe wartości *z-score*, niższe obciążenie metody i w rezultacie niższą o 3 % niepewność rozszerzoną. Przytoczony przykład potwierdza potrzebę korekty wyników badania na 100 % odzysk, nawet w przypadku braku (jak w tym przypadku) statystycznie istotnej różnicy pomiędzy uzyskanym odzyskiem a odzyskiem 100 %.

Tabela 4

Wykorzystanie wyników PT do oceny stopnia odzysku witaminy A w mieszankach paszowych (96,0 %)

Odzysk,%	n PT	n lab/PT	<i>z-score</i>	b, %	u, %	U, %
96,0	9	15	0,63	10,75	11,47	22,9
100	9	15	0,54	9,20	10,04	20,1

Niepewność jest użyteczna do wyrażania wyników pomiaru badanych dodatków paszowych. W przypadku badania pasz niepewność pomiaru jest stosowana do oceny maksymalnych zawartości dodatków paszowych w mieszankach paszowych oraz oceny informacji podawanych na etykiecie dotyczących dodatków paszowych w połączeniu z dopuszczalnymi tolerancjami w rozporządzeniu Komisji (UE) nr 939/2010. Na wynikach badań międzylaboratoryjnych, w tym badań PT, opiera się niemiecki i węgierski system urzędowej kontroli pasz i interpretacji wyników badań.

Wartości w części B załącznika do rozporządzenia Komisji 939/2010 [7] odnoszą się do dodatków paszowych i dotyczą tylko tolerancji technicznych producenta, tj. maksymalnych akceptowanych błędów wytwarzania paszy (np. błędy niehomogeniczności, utraty aktywności składnika w końcu okresu przechowywania). Niepewności pomiarów muszą być zatem brane pod uwagę w celu sprawdzenia wartości deklarowanych przez producenta. Jeżeli przedział niepewności pomiaru i przedział tolerancji technicznej mają część wspólną, wynik badania należy ocenić jako zgodny z deklaracją. Podobnie, jeżeli maksymalna zawartość dodatku w mieszance paszowej mieści się w przedziale niepewności wyniku, wynik jest interpretowany jako zgodny z wymaganiami.

WNIOSKI

1. Wyniki oszacowania niepewności badania dodatków paszowych na podstawie wyników PT/ILC mogą być wykorzystane do budowy spójnego systemu polegającego na przyjęciu jednolitych wartości niepewności rozszerzonych przez laboratoria urzędowego nadzoru.

2. Przedstawiony sposób obliczania obciążenia na podstawie wyników PT/ILC odnosi się do obciążenia metody i laboratorium.

PROFICIENCY TESTING IN THE SCOPE OF FEED ADDITIVES

Jolanta Rubaj

Institute of Zootechnics
National Laboratory for Feedingstuffs (Poland)

S U M M A R Y

The paper presents the evaluation of results of proficiency testings (PTs) of chosen feed additives. Results were used to confirm the competency of government feed control laboratories as well as to evaluate the laboratory bias of the method and to measure the uncertainty on the base of the practical interlaboratory approaches. Horwitz' ratio (HorRat H) was used to evaluate precision of PTs. For the calculation of uncertainty, with-in laboratory reproducibility and bias from PTs were used, according to Eurolab Technical Report No 1/2007 and 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 ≤ 1) and acceptable precision of PTs ($0,5 < H < 2$) can be take into account.

МІЖЛАБОРАТОРНІ ПОРІВНЯЛЬНІ ВИПРОБУВАННЯ КОРМОВИХ ДОБАВОК

Йоланта Рубай

Інститут Зоотехніки, Національна Лабораторія Кормів в Любліні (Польща)

А Н О Т А Ц І Я

Наведені результати багаторічних міжлабораторних порівняльних випробувань (ПВ) для кормових добавок. Результати були використані для оцінки компетентності лабораторій, уповноважених для офіційного контролю і виміру методу лабораторного упередження, а також оцінки невизначеності вимірів на основі експериментального міжлабораторного підходу. Рівняння Хорвіца (HorRatH) було використане для оцінки прецизійності методу ПВ. Невизначеність розраховувалася на основі внутрішньолабораторної відтворюваності і зміщення методу, а також результатів ПВ/ILC, згідно з Технічним Звітом Eurolabnr 1/200 і Керівництву Nordtest. Критерії використання результатів ПВ для виміру зміщення методу і невизначеності вимірів спиралися, принаймні, на шести результатах ПВ ($PT \geq 6$), бралися до уваги тільки задовільні результати, отримані лабораторією з z індексом < 2 (переважно ≤ 1) і акцептованою прецизійністю CI ($0,5 < H < 2$).

МЕЖЛАБОРАТОРНЫЕ СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Йоланта Рубай

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 кормовых добавок. 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 метода СИ. Неопределенность рассчитывалась на основе внутрिलाбораторной воспроизводимости и смещения метода, а также результатов СИ/ILC, согласно Техническому Отчету Eurachem 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 ≤ 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
2. EUROLAB Technical Report 1/2007. Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation, Eurolab, Paris 2007. Wydaniepolskie: 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. Wydaniepolskie: 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. — P. 1095–1109.
6. *Korol W., Rubaj J., Bielecka G., Walczyński S.*: Evaluation of bias of feed component measurement using data from proficiency testing. Eurachem Workshop on Validation / Traceability / Measurement Uncertainty Challenges for the 21st Century's Analysts. Berlin, 21-22 May, 2012.
7. Rozporządzenie Komisji (UE) 939/2010 z dnia 20 października 2010 r. zmieniające załącznik IV rozporządzenia (WE) nr 767/2009 (Dz. Urz. UE L 277/4, 21.10.2010).
8. Thompson M.: The amazing Horwitz function. AMC Technical Brief No. 17, July 2004 (amc\amctb\statssc\horwitzb_v2.doc).