

Articol original

Estimarea Caracteristicilor de Performanță ale Metodelor de Analiză Standardizate într-un Laborator de Încercări

OMOTĂ Mariana*, Liana LĂZĂRESCU, Călin NEAMȚU

SC Compania de Apă Someș SA, Laborator Analize Ape Stația de Epurare Cluj-Napoca, Grigore Ignat FN, 400401
Cluj-Napoca, România

Primit în data de 11 mai 2011; primit în forma finală după recenzie în 19 mai 2011; acceptat în 25 mai 2011
Disponibil online din 1 iunie 2011

Rezumat

Laboratoarele de încercare întreprind măsuri corespunzătoare pentru a-și demonstra calificarea și competența. În acest sens o preocupare esențială este estimarea caracteristicilor de performanță ale metodelor utilizate astfel încât să existe siguranța că scopul analitic al metodelor folosite este atins, obținându-se rezultate analitice cu un nivel de incertitudine acceptabil. În lucrare este descris modul de estimare a unor parametri de performanță pentru metode de analize din ape uzate și ape de suprafață. Sunt prezentate date experimentale obținute în Laborator Analize Ape Stația de Epurare Cluj-Napoca, pentru următoarele caracteristici de performanță: selectivitate, robustețe, compararea rezultatului unei măsurări efectuată pe un material de referință cu valoarea certificată, domeniul de aplicabilitate (test de liniaritate, test de omogenitate), etalonare și caracteristici ale metodei.

Cuvinte cheie: incertitudine, metode analitice, estimare, ape reziduale

1. Introducere

Validarea analitică, asigurarea calității și controlul calității sunt termeni larg utilizați în prezent în laboratoarele de încercări.

Validarea analitică, primul nivel al asigurării calității în laborator, reprezintă conform ISO „confirmarea prin furnizare de dovezi obiective că au fost îndeplinite cerințele pentru o anumită utilizare sau o aplicare intenționată”.

Asigurarea calității (AC) reprezintă “managementul calității concentrat asupra furnizării încrederii că cerințele calității vor fi îndeplinite.”

Controlul calității (CC) este „parte a managementului calității, concentrată pe îndeplinirea cerințelor calității”. Laboratoarele trebuie să folosească metode de analiză adecvate încercărilor pe care le efectuează.

Chiar dacă în laborator se folosesc metode standardizate, laboratorul trebuie să se convingă el însuși că gradul de validare a unei anumite metode analitice este adecvat pentru scopul cerut și că laboratorul însuși este capabil să îndeplinească orice date de performanță stabilite.

Laboratoarele de încercare elaborează un program de control al calității pentru a da credibilitate și relevanță rezultatelor măsurărilor obținute în laborator.

2. Material și Metodă

În Laborator Analize Ape Stația de Epurare Cluj-Napoca s-au estimat o parte dintre parametrii de performanță ale metodelor de lucru: limită minimă de detecție, limita de detecție a metodei, exactitatea, precizia (exprimată ca repetabilitate, reproductibilitate intralaborator, reproductibilitate), selectivitate, robustețe, compararea rezultatului unei

* Autorul căruia i se va adresa corespondența. Toți autorii au avut contribuții egale la redactarea articolului
Tel./Fax: 0040 264 4439162
e-mail: laboratorepurarecluj@yahoo.com

măsurări efectuată pe un material de referință cu valoarea certificată, domeniul de aplicabilitate (test de liniaritate, test de omogenitate), etalonare și caracteristici ale metodei (a , b , s_y , s_{x0} , V_{x0}), incertitudinea de măsurare.

Articolul de față prezintă rezultate obținute în laborator pentru:electivitate – verificată pentru indicatorul azotit determinat prin spectrometrie de absorbție moleculară în UV-VIS;robustețe – verificată pentru indicatorul azotit, determinat prin spectrometrie de absorbție moleculară în UV-VIS;compararea rezultatului unei măsurări efectuată pe un material de referință secundar, clorură de potasiu, cu valoarea certificată - verificată pentru indicatorul conductivitate electrică, determinat electrochimic;domeniul de lucru (test de liniaritate, test de omogenitate) – verificat pentru indicatorul azotit, determinat prin spectrometrie de absorbție moleculară în UV-VIS.etalonare și caracteristici ale metodei – verificat pentru indicatorul azotit, determinat prin spectrometrie de absorbție moleculară în UV-VIS.

În Laborator Analize Ape Stația de Epurare Cluj-Napoca se folosesc metode standardizate pentru:

Azotit – SR EN 26777/C91/2006: Calitatea apei. Determinarea conținutului de nitriți. Metoda prin spectrometrie de absorbție moleculară;

Conductivitate electrică – SR EN 27888/1997 Calitatea apei. Determinarea conductivității electrice.

În cazul de față s-au folosit reactivi de puritate analitică p.a., soluție etalon de KCl Merck cu valoare certificată: $1414 \pm 11 \mu\text{S}/\text{cm}$, multimetru WTW, spectrofotometru UV-VIS Perkin Elmer, sticlărie clasa A.

3. Rezultate și Discuții

Selectivitatea, parametru de performanță a metodei analitice, oferă informații despre soliditatea metodei analitice, reprezentând abilitatea metodei de a diferenția și măsura analiți în prezența componentilor care sunt așteptați a fi prezenți în probă.

Pentru a demonstra selectivitatea metodei, în laborator s-au verificat interferențele posibile date de clorurura de sodiu, în diferite concentrații, la determinarea azotiților.

Din soluția etalon de $100 \text{ mgN}/\text{l}$, preparată în laborator din NaNO_2 s-a preparat soluție de lucru de concentrație $1,654 \text{ mg NO}_2/\text{l}$. S-au efectuat 4 serii a câte 10 determinări pentru următoarele concentrații de NaCl / probă. S-au comparat valorile obținute cu valoarea teoretică așteptată și s-a observat că toate rezultatele obținute se încadrează

în intervalul $100 \pm 2\%$. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 1, figura 1.

Tabelul 1. rezultate pentru selectivitate

Nr. crt.	Proba îmbogățită cu 1 mg NaCl/pb.	Proba îmbogățită cu 0,750 mg NaCl/pb.	Proba îmbogățită cu 0,500 mg NaCl/pb.	Proba îmbogățită cu 0,250 mg NaCl/pb.
1	1,669	1,668	1,659	1,643
2	1,667	1,653	1,657	1,649
3	1,659	1,665	1,656	1,646
4	1,652	1,670	1,655	1,661
5	1,664	1,648	1,648	1,634
6	1,676	1,680	1,642	1,653
7	1,667	1,685	1,652	1,654
8	1,668	1,677	1,658	1,652
9	1,679	1,672	1,661	1,650
10	1,652	1,664	1,652	1,644

Based on the above results can be seen that the substance used, NaCl, is not part of the substances that interfere significantly to the determination of nitrite in water samples.

Robustețea se referă la capacitatea unei metode analitice de a rămâne neafectată de variații mici, dar deliberate ale parametrilor metodei. Pentru evaluarea robusteții unei metode analitice se pot varia trei tipuri diferite de parametri (interni, externi, fundamentali). În laborator s-a verificat stabilitatea soluției de lucru pentru determinarea azotiților, stabilitatea soluțiilor fiind cel mai important parametru fundamental, relevant pentru metodele de analiză. Din soluția etalon de $100 \text{ mgN}/\text{l}$, preparată în laborator din NaNO_2 , stabilă cel puțin o lună dacă se păstrează într-un flacon închis, de culoare brună, la temperatură cuprinsă între $2^\circ\text{C} - 5^\circ\text{C}$, conform standardului de metodă, s-a preparat soluție de lucru de concentrație $1,654 \text{ mg NO}_2/\text{l}$. Conform standardului de metodă această soluție se prepară în ziua respectivă și se aruncă după folosire. Din această soluție s-au făcut determinări de azotiți din oră în oră, pe parcursul a două zile (ziua1: 9:30 – 20:30, ziua 2: 9:30 – 11:30), rezultatele obținute fiind prezentate în tabelul 2, figura 2. S-a calculat media aritmetică ($\bar{x}_m$), abaterea standard (s) și abaterea standard relativă (RSD%) pentru valorile determinate în ordinea obținerii lor. S-a constatat că pentru primele 10 rezultate $\text{RSD} < 1\%$, ceea ce demonstrează că soluția de lucru este stabilă 10 ore. Pentru toate valorile obținute $\text{RSD} > 1\%$, ceea ce demonstrează că soluția de lucru nu mai este stabilă după 10 ore. S-a continuat experimentul și a doua zi pentru a confirma instabilitatea soluției de lucru. Rezultatele obținute sunt prezentate în tabelul 3.

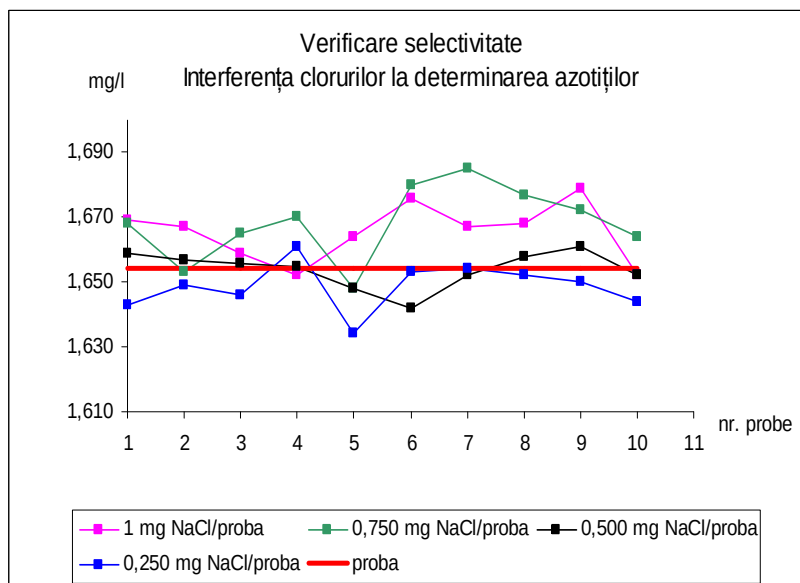


Figura 1. Exemplu de determinare a selectivității

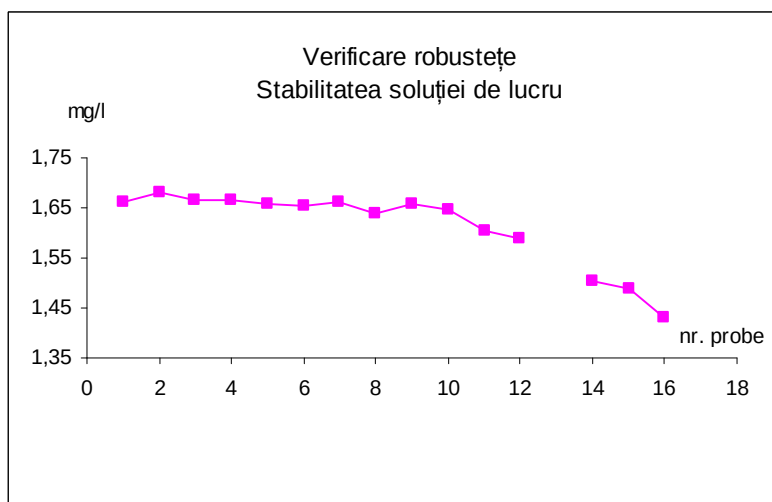


Figura 2. Exemplu de determinare a robusteții

Compararea rezultatului unei măsurări cu valoarea certificată este adeseori descrisă calitativ, astfel încât rezultatele măsurărilor pot „corespunde”, „corespunde bine” sau „corespunde perfect”, conform lui Thomas Linsinger. Există însă o abordare cantitativă care permite determinarea oricărei erori sistematice.

În laborator s-au efectuat determinări de conductivitate electrică din material de referință secundar, clorură de potasiu, cu valoare certificată. Se calculează diferența absolută (Δ_m) dintre valoarea medie calculată (c_m) și valoarea certificată (c_{MRC}):

$$\Delta_m = I c_m - c_{MRC} I$$

Fiecare măsurare are o incertitudine u_m , iar MRC are valoarea incertitudinii specificată în certificat (u_{MRC}). Se calculează incertitudinea asociată diferenței Δ_m , care reprezintă incertitudinea combinată a rezultatului și a valorii certificate

$$(u_\Delta): u_\Delta = \sqrt{u_m^2 + u_{MRC}^2}$$

Incetitudinea extinsă a diferenței dintre rezultat și valoarea certificată, corespunzătoare unui interval de încredere de 95% (factor de acoperire $k=2$) se obține astfel:

$$U_\Delta = 2 \cdot u_\Delta$$

Pentru evaluarea performanței metodei se compară Δ_m cu U_Δ . Dacă: $\Delta_m \leq U_\Delta$

Atunci nu există o diferență semnificativă între rezultatul măsurării și valoarea certificată. Rezultatele obținute în laborator sunt redată în tabelul 4 și figura 4.

Tabelul 2. Rezultate care evidențiază robustețea metodei

Nr. crt.	Interval	Valori obținute (mg NO ₂ /l)
1	ziua1	1,660
2		1,679
3		1,664
4		1,667
5		1,659
6		1,655
7		1,662
8		1,637
9		1,656
10		1,648
11		1,614
12		1,588
13	ziua2	1,502
14		1,490
15		1,430

Tabelul 3. Rezultate care evidențiază instabilitatea soluției de lucru

Nr. crt.	Nr. determinări	$\bar{x}_m$ mg/l	s mg/l	RSD %
1	1-10	1.659	0.011	0.7
2	1-15	1.613	0.077	4.8

Incertitudinea extinsă a diferenței dintre rezultat și valoarea certificată, corespunzătoare unui interval de încredere de 95% (factor de acoperire k=2) se obține astfel:

$$U_{\Delta} = 2 \cdot u_{\Delta}$$

Pentru evaluarea performanței metodei se compară Δ_m cu U_{Δ} . Dacă:

$$\Delta_m \leq U_{\Delta}$$

Atunci nu există o diferență semnificativă între rezultatul măsurării și valoarea certificată.

Rezultatele obținute în laborator sunt redată în tabelul 4 și figura 4.

Tabelul 4. Rezultate care evidențiază compararea valorilor cu măsurătorile materialelor certificate

No. crt	$C_m \pm U_m$ μS/cm	$C_{MRC} \pm U_{MRC}$ μS/cm	Δ_m μS/cm	U_{Δ} μS/cm
1	1409,5 ± 7,820	1414 ± 11	4,5	13,48
2	1411,5 ± 7,830	1414 ± 11	2,5	13,50
3	1414 ± 7,844	1414 ± 11	0	13,51
4	1411 ± 7,828	1414 ± 11	3	13,50
5	1412,5 ± 7,836	1414 ± 11	1,5	13,51
6	1412 ± 7,834	1414 ± 11	2	13,50
7	1412 ± 7,834	1414 ± 11	2	13,50
8	1410,5 ± 7,826	1414 ± 11	3,5	13,50
9	1414,5 ± 7,848	1414 ± 11	0,5	13,51
10	1408,5 ± 7,814	1414 ± 11	5,5	13,49
11	1414,5 ± 7,848	1414 ± 11	0,5	13,51
12	1414 ± 7,844	1414 ± 11	0	13,51

Din datele de mai sus se poate observa că nu există diferențe semnificative între rezultatul măsurărilor obținute în laborator și valoarea certificată.

Domeniul de lucru este intervalul dintre concentrația superioară și inferioară a analitului din probă, incluzând aceste concentrații, pentru care s-a demonstrat că procedura are un nivel

potrivit de precizie, exactitate și liniaritate. Domeniu de lucru se verifică cu test de omogenitate a dispersiilor și test de liniaritate.

Test de omogenitate: examinarea diferențelor semnificative la limitele domeniului de lucru.

După stabilirea domeniului preliminar de lucru, în laborator se trasează curba de etalonare (tabelul 5). Pentru a verifica omogenitatea

dispersiilor se efectuează 10 determinări repetate pentru concentrația cea mai scăzută și 10 determinări repetate pentru concentrația cea mai

ridică (x₁ și x₁₁) din domeniul de lucru (tabelul 6). Din aceste serii de măsurări se obțin 10 valori de extincții, y_{i,j} (tabelul 7).

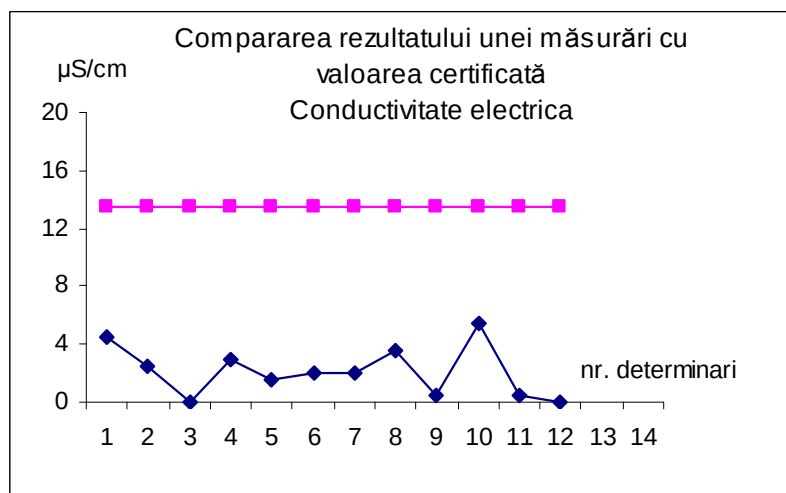


Figura 3. Compararea valorii cu cea obținută de la materialele certificate

Table 5. Date de etalonare (domeniul de lucru 1 - 12 mgN/l)

i	X _i mg N/L	Y _i	Y _{i,1}	Y _{i,2}	Y _{i,3}	Y _{i,4}	Y _{i,5}	Y _{i,6}	Y _{i,7}	Y _{i,8}	Y _{i,9}	Y _{i,10}
1	0,01	0,0345	0,0360	0,0350	0,0354	0,0360	0,0361	0,0363	0,0362	0,0367	0,0357	0,0358
2	0,02	0,0659										
3	0,03	0,1005										
4	0,04	0,1351										
5	0,05	0,1692										
6	0,07	0,2358										
7	0,10	0,3344										
8	0,15	0,5019										
9	0,20	0,6694										
10	0,24	0,8007	0,8129	0,8069	0,8075	0,8117	0,8087	0,8078	0,8068	0,8037	0,8046	0,8004

Tabelul 6. Extincții pentru cele 10 determinări repetate (etalon x₁ și x₁₁)

i	X _i mgN/L	y _{i,1}	y _{i,2}	y _{i,3}	y _{i,4}	y _{i,5}	y _{i,6}	y _{i,7}	y _{i,8}	y _{i,9}	y _{i,10}
1	0,01	0,0360	0,0350	0,0354	0,0360	0,0361	0,0363	0,0362	0,0367	0,0357	0,0358
10	0,24	0,8129	0,8069	0,8075	0,8117	0,8087	0,8078	0,8068	0,8037	0,8046	0,8004

Tabelul 7. Concentrații pentru cele 10 determinări repetate (etalon x₁ și x₁₁)

i	X _i mgN/L	x _{i,1}	x _{i,2}	x _{i,3}	x _{i,4}	x _{i,5}	x _{i,6}	x _{i,7}	x _{i,8}	x _{i,9}	x _{i,10}
1	0,01	0,0107	0,0105	0,0106	0,0108	0,0092	0,0108	0,0108	0,0110	0,0107	0,0107
10	0,24	0,2430	0,2412	0,2414	0,2426	0,2418	0,2415	0,2412	0,2402	0,2405	0,2392

Dispersiile sunt testate (testul F) pentru a examina diferențele semnificative la limitele domeniului de lucru. Pentru testul F se determină valoarea de încercare PG și se compară PG cu valorile tabulate ale distribuției F.

Dacă $PG < F_{f1, f2, 0,99}$ abaterea între dispersiile s_1^2 și s_2^2 nu este semnificativă.

Dacă $PG > F_{f1, f2, 0,99}$ abaterea între dispersiile s_1^2 și s_2^2 este semnificativă. În acest caz domeniul preliminar de lucru trebuie redus

până la acela la care diferența între dispersii devine în mod unic aleatoare.

Din prelucrarea rezultatelor măsurătorilor s-au obținut datele prezentate în tabelul 8.

Tabelul 8. Rezultate privind domeniul de lucru

i	X_i mgN/L	s_i mg/L	s_i^2	PG	F(9,9,99%)
1	0.01	0.0005	2.5289E-07	4.90	5.35
10	0.24	0.0011	1.2382E-06		

Valoarea obținută PG este mai mică decât F rezultă că dispersiile sunt omogene (se poate efectua analiza de regresie simplă).

Test de liniaritate: controlul liniarității prin reprezentarea grafică a datelor de etalonare.

În testul de liniaritate datele de etalonare sunt utilizate pentru a calcula o funcție liniară de etalonare, precum și o funcție neliniară de etalonare, ambele prezentând o abatere standard reziduală, s_{Y1} , s_{Y2} .

Tabelul 9. Abaterea standard reziduală s_{y1} calculat pentru funcție liniară (funcția liniară = $0,0011 + 3,3369 \cdot x_i$)

No. crt	x_i	y_i	Linear function	a	b	s_{y1}	s_{y1}^2
1	0.01	0.0345	0.0345	0.0011	3.3369	0.0011	1.250E-06
2	0.02	0.0659	0.0678				
3	0.03	0.1005	0.1012				
4	0.04	0.1351	0.1346				
5	0.05	0.1692	0.1679				
6	0.07	0.2358	0.2347				
7	0.10	0.3344	0.3348				
8	0.15	0.5019	0.5016				
9	0.20	0.6694	0.6685				
10	0.24	0.8007	0.8020				

Table 10. Abatere standard reziduală s_{y2} calculat pentru funcție neliniară (funcția neliniară = $0,0001 + 3,365 \cdot x_i - 0,12x_i^2$)

No crt	x_i	y_i	Q_{xx}	Q_{xy}	Q_{x3}	Q_{x4}	Q_{x2y}	a	b	c	nonlinear function	s_{y2}	s_{y2}^2
1	0.01	0.0345	0.057	0.192	0.013	0.003	0.046	0.0001	3.365	-0.12	0.034	0.001	1.029 E-06
2	0.02	0.0659									0.067		
3	0.03	0.1005									0.101		
4	0.04	0.1351									0.135		
5	0.05	0.1692									0.168		
6	0.07	0.2358									0.235		
7	0.10	0.3344									0.336		
8	0.15	0.5019									0.502		
9	0.20	0.6694									0.669		
10	0.24	0.8007									0.801		

Se evaluează diferențele între dispersiile s_{Y1} , s_{Y2} , rezultând DS^2 , cu ajutorul căruia se calculează PG (valoare de încercare).

Se compară PG cu valorile tabelate ale distribuției F.

Dacă $PG < F$: funcția de etalonare este liniară.

Dacă $PG > F$: funcția de etalonare nu este liniară, domeniul de lucru se reduce până la obținerea unei funcții de etalonare liniară.

Din prelucrarea rezultatelor măsurătorilor s-au obținut datele prezentate în tabelul 11.

Tabelul 11. Parametrii statistici

DS^2	PG	F(9.9.99%)
2.801E-06	2.72	5.35

PG mai mic decât F rezultă că funcția de etalonare este liniară. Domeniul de lucru este corespunzător datorită respectării omogenității și liniarității pe tot intervalul de concentrații ales.

Etalonare și caracteristici ale metodei

Funcția de etalonare și caracteristicile metodei rezultă din datele obținute pornind de la domeniul de lucru.

Astfel se calculează ordonata la origine (a), panta dreptei (b), abaterea standard reziduală (s_y), abaterea standard a metodei (s_{x0}) și coeficientul de variație a metodei (V_{x0}), conform SR ISO 8466-1/1999.

Funcția liniară de etalonare este dată de ecuația $y=a+bx$.

Ordonata la origine (a) se referă la valoarea mărării de ieșire când mărimea de intrare este zero și caracterizează mărtoarea calculat al reactivilor.

Panta funcției de etalonare (b) caracterizează sensibilitatea metodei de analiză, definită ca fiind modificarea răspunsului analitic în funcție de modificarea concentrației speciei de analizat (a unei concentrații date).

Abaterea standard reziduală (s_y) evaluează dispersia valorilor de informare în jurul liniei de regresie calculată. Este un indice de performanță ce descrie exactitatea etalonării.

Abaterea standard a metodei (s_{x0}) este un indice de performanță de execuție a metodei de analiză, valabilă pe domeniul de lucru și care împreună cu coeficientul de variație a metodei (V_{x0}) oferă posibilitatea verificării calității muncii analistului.

Tabelul 12. Caracteristicile metodei

Etalonare și caracteristici ale metodei	Ecuația dreptei $y=a+b*x$	$y=0,0011+3,3369*x$
	Ordonata la origine (a)	$a = 0,0011 \text{ abs}$
	Sensibilitatea (b)	$b=3,13369 \text{ abs}^*/\text{mg}$
	Abaterea standard reziduală (s_y)	$s_y=0,0011 \text{ mg/l}$
	Abaterea standard a metodei (s_{x0})	$s_{x0}=0,0003$
	Coeficientul de variație a metodei (V_{x0})	$V_{x0}=0,36\%$

4. Concluzii

Pentru a verifica performanțele unei metode analitice în laboratorul propriu, laboratorul trebuie să decidă ce parametri de performanță a metodei trebuie caracterizați, astfel încât să existe un nivel de încredere adecvat rezultatelor obținute. Verificarea parametrilor de performanță face parte din procesul de validarea a metodelor.

În lucrarea de față au fost prezentați doar o parte din ce parametri s-a stabilit în laborator că trebuie verificați. Toți acești parametri oferă dovezi că în Laboratorul Analize Ape Stația de Epurare Cluj-Napoca se folosesc metode adecvate scopului propus și că se respectă specificațiile din standardele de metodă alese.

Bibliografie

[1] Tănase I.G., Al. Pană, G.L. Radu, Mihaela Buleandă, 2007, Validarea metodelor analitice. Principii teoretice și studii de caz. Editura Printech, București

[2] Linsinger T., 2010, Application Note 1, Comparison of a measurement result with the certified value, European Commission-Joint Research Centre Institute for Reference Material and Measurements, http://www.bam.de/en/fachthemen/referenzmaterialien/referenzmaterialien_medien/erm_application_note_1_en.pdf

[3] Cruceru Liliana, 2005, Asigurarea calității și managementului în laboratoare care-și desfășoară activitatea în domeniul controlului și monitorizării mediului, Leonardo da Vinci Programme, Training 2005 http://www.slidefinder.net/a/asigurarea_calitatii_managementul_laboratoare_chim/3939866/p2

[4] ***, 2001, ISO 9001/2001. Sisteme de management al calității. Cerințe

[5] ***, 2004, ENV ISO 13530/2004. Calitatea apei. Ghid de verificare a calității rezultatelor obținute și a performanței analistului.

- [6] ***, 2005, SR EN ISO/CEI 17025/2005. Cerințe generale pentru competența laboratoarelor de încercări și etalonări
- [7] ***, 2006, SR EN ISO 9000/2006. Sisteme de management al calității. Principii fundamentale și vocabular
- [8] ***, 1997, SR EN 27888/1997 Calitatea apei. Determinarea conductivității electrice.
- [9] ***, 1999, SR ISO 8466-1/1999. Calitatea apei
- Etalonarea și evaluarea metodelor de analiză și estimarea caracteristicilor de performanță Partea 1: Evaluarea statistică a funcției liniare de etalonare
- [10] ***, 1999, SR ISO 8466-1/1999. Calitatea apei Etalonarea și evaluarea metodelor de analiză și estimarea caracteristicilor de performanță. Partea 2: Strategia de etalonare pentru funcții de etalonare neliniare de gradul doi
- [11] ***, 2006, SR EN 26777/C91/2006: Calitatea apei. Determinarea conținutului de nitriți. Metoda prin spectrometrie de absorbție moleculară