

**VALIDACIJA I MERNI NESIGURNOST POTENCIOMETRIJSKE METODE ZA
ODREĐIVANJE SADRŽAJA 2,4 D KISELINE KAO AKTIVNE MATERIJE U
PESTICIDIMA**

**VALIDATION AND ESTIMATE OF UNCERTAINTY OF MEASUREMENT OF
POTENTIOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF 2,4, D ACID AS
ACTIVE INGREDIENT IN PESTICIDES**

M.Miladinović¹, L.Filipović-Petrović¹, V.Vujić¹, S.Pavićević²

1. „Zorka“-„Centar za istraživanja“, d.o.o., Šabac, Hajduk Veljkova 1
2. Asocijacija za razvoj menadžmenta kvalitetom, Beograd, Bul. oslobođenja 60

Izvod

CIPAC 1 je međunarodno priznata standardna metoda za određivanje sadržaja 2,4, D kiseline kao aktivne materije u pesticidima. Međutim, prema zahtevu standarda ISO/IEC 17025, laboratorija za ispitivanje treba da validuje i standardne metode da bi potvrdila da je u mogućnosti da dobije uporedive rezultate, sa onima u originalnoj metodi koristeći svoju opremu i osoblje; drugim rečima da potvrdi da je metoda pogodna u stvarnim laboratorijskim uslovima.

Na bazi podataka validacije identifikovani su mogući izvori merne nesigurnosti na osnovu kojih je izračunata ukupna merna nesigurnost.

Ključne reči: standardna metoda, validacija, merna nesigurnost

Abstract

Method CIPAC 1 is well-recognized standard method for determination content of 2,4,D acid as active ingredient in pesticides. But, according to Standard ISO/IEC 17025, the testing laboratory need to validate standard method to confirm that can obtain comparable results, using its equipments and personnel, as in original method; in other words, that the method is suitable under actual condition of use.

On the basis of data validation, the laboratory performed the estimate of uncertainty obtained results.

Key Words: standard method, validation, uncertainty of measurement

1. Uvod

U ovom radu su prikazani rezultati „in house“ validacije (verifikacije) standardne metode CIPAC 1 [1,2,3,4,5,6]. Određeni su sledeći parametri validacije: linearnost metode, tačnost, preciznost pod uslovima ponovljivosti i unutar laboratorijske reproduktivnosti. Dobijeni podaci su poređani sa zahtevima metode CIPAC 1 i kriterijumima prihvatljivosti valjanosti metode definisanih od ICH [5,6,7]. Sproveden je validacioni eksperiment za određivanje definisanih parametara [5,6,7], pri

čemu su , istovremeno identifikovani mogući doprinosi mernoj nesigurnosti. Na osnovu toga izvršena je procena ukupne merne nesigurnosti dobijenog rezultata prema EURACHEM/CITAC Guide CG 4 [8].

2. Validacioni eksperiment

Materijali i metode

- Uzorak: MONOZOR SL-50, deklarirani sadržaj 460 ± 25 g/kg; $\gamma = 1.1498$ g/cm³
- Definicija 2,4, D: Hemijski naziv: 2,4-dihlorfenoksi-sirćetna kiselina
Empirijska formula: C₈H₆Cl₂O₃
Relativna molekulska masa: 221,1
- Referentni materijal: 2,4 D acid SUPELCO (USA), lot N^oLB27514, CAS N^o94-75-7, Purity 99,9 % 2,4 D
- Natrijum hidroksid C(NaOH) = 0.101006 mol/l standardizovan prema SRPS H.G0.001:1987.
- Uređaj za potenciometrijsku titraciju, aparatura za ekstrakciju, normalni sud 250 cm³ , pipeta 25 cm³

Metoda se zasniva na ekstrakciji 2,4 D kiseline dietil etrom u sonokiseloj sredini. Etarski sloj se upari. Ostatak se rastvori u etanoli i titriše 0.1 Mol NaOH.

Zahtev metode CIPAC 1: preciznost za 97 % 2,4 D:

ponovljivost (r): 0.5 reproduktivnost (R): 0.9

Zahtev prihvatljivosti metode [5,6,7]: Relativna standardna devijacija Rsd ≤ 2 %

3. Rezultati i diskusija

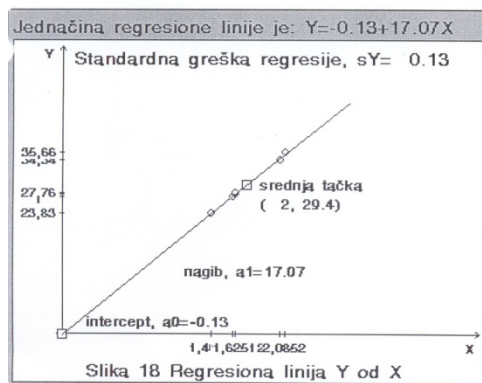
Linearnost

Linearnost je ispitivana [6,7] analiziranjem šest nezavisnih proba u opsegu od 80 % do 120 % očekivane koncentracije 2,4 D. Rezultati za utvrđivanje linearnosti metode dati su u Tabeli 1, Slika 1.

Tabela 1. Utvrđivanje linearnosti

	Broj merenja					
	1	2	3	4	5	6
Merena masa formulacije MONOZOR-SL (g)	1,4004	1,6003	1,6196	1,6251	2,0298	2,0852
Zapremina 0,1M NaOH za titraciju (cm³)	23,83	27,12	27,42	27,76	34,34	35,66

Koeficijent linearne korelacije, $r = 0.9995$



Slika 1. Linearna zavisnost zapremine 0,1 M NaOH i mase 2,4 D u uzorku

Tačnost

Tačnost je ispitivana analizom pet nezavisnih proba, provera tačnosti analizom referentnog materijala, određivanjem “recovery” R. Sve analize su izvedene pod uslovima ponovljivosti. Rezultati su prikazani u Tabelama 2 i 3.

Tabela 2. Određivanje sadržaja 2,4 D

	Broj merenja				
	1	2	3	4	5
Merena masa uzorka MONOZOR-SL (g)	1,4094	1,4004	1,4248	1,6003	1,6251
Zapremina 0,1M NaOH za titraciju (cm³)	23,86	23,83	24,15	27,12	27,80
Sadržaj 2,4-D kis (%)	37,79	37,98	37,84	37,83	38,18
Sadržaj 2,4-D kis (g/kg)	434,51	436,70	435,10	434,96	438,90

Srednja vrednost: $\bar{x} = 37,92$ % 2,4-D kis.

Standardna devijacija: $S = 0,16$

Relativna standardna devijacija: $R_s = 0,42\%$

Tabela 3. Analiza referentnog materijala (99,9 % 2,4 D)

Merena masa uzorka standarda 2,4D 99,9% (g)	Zapremina 0,1M NaOH za titraciju (cm³)	Sadržaj 2,4 D kis. (%)
0,6027	26,96	99,85
0,6180	27,60	99,69
0,6006	26,80	99,61

Srednja vrednost: $\bar{x} = 99,72$ % 2,4 -D kis.

Standardna devijacija: $S = 0,12$

Relativna standardna devijacija: $R_s = 0,12\%$

Recovery: $R = \frac{\text{nađeno}}{\text{referentno}} = 99.72 / 99.9 = 0.9982$

Provera tačnosti metode primenom T-testa [7].

$\mu = 99,9\%$ referentno

$\bar{x} = 99,72\%$ nađeno

$|t| < |t|_{\text{tab}}$

$|t| = 2,599$

$|t|_{\text{tab}} = 4,303$

$2,599 < 4,303$

Preciznost

Preciznost je određena pod uslovima ponovljivosti pet nezavisnih proba, Tabela 4 i pod uslovima unutar laboratorijske reproduktivnosti dvanaest nezavisnih proba Tabela 5. Dobijene vrednosti za relativnu standardnu devijaciju su u skladu sa preporukama [5,6,7].

Rezultati su prikazani u Tabeli 4.

Tabela 4. Preciznost pod uslovima ponovljivosti

Broj merenja	Merena masa uzorka MONOZOR-SL (g)	Zapremina 0,1M NaOH za titraciju(cm ³)	Sadržaj 2,4-D kis (%)
1	1,6003	27,12	37,83
2	1,6196	27,42	37,81
3	1,6251	27,80	38,18
4	2,0070	34,34	37,93
5	2,0852	35,66	38,17

Srednja vrednost: $\bar{x} = 37,98\%$ 2,4 -D kis.

Standardna devijacija: $S = 0,18$

Relativna standardna devijacija: $R_s = 0,47\%$

Granica ponovljivosti: $r = 2,8 \cdot S = 2,8 \cdot 0,18 = \pm 0,504\%$

Tabela 5. Preciznost pod uslovima unutar laboratorijske reproduktivnosti

Sadržaj (%)	I dan	II dan	III dan
Sadržaj 2,4-D kis u uzorku	38,03	37,79	37,83
	37,94	37,98	37,81
	37,97	37,84	38,18
		38,18	37,93
			38,17

Srednja vrednost: $\bar{x} = 37,97\%$ 2,4-D kis.

Standardna devijacija: $S = 0,14$

Relativna standardna devijacija: $R_s = 0,38\%$

Granica reproduktivnosti: $R = 2,8 \cdot S = 2,8 \cdot 0,14 = \pm 0,403\%$

Merna nesigurnost

Pri validaciji metode identifikovani su mogući doprinosi mernoj nesigurnosti:

1. Doprinos nesigurnosti merenja uzorka i referentnog materijala
2. Doprinos nesigurnosti merila zapremine tečnosti
3. Doprinos nesigurnosti standardizaciji rastvora 0,1 M/l NaOH

Za svaku mernu veličinu izračunate su standardne nesigurnosti, $u(x_i)$ a ukupna merna nesigurnost je

jednaka kvadratnom korenu zbira varijansi $u(x_i)/x_i$ pojedinačnih doprinosa. Prema jednačini

$$C_{2,4D} = \frac{\sqrt{V_{0,1M NaOH} + C_{0,1M NaOH} + 22,1}}{m}$$

$$\frac{u(C_{2,4D})}{C_{2,4D}} = 0.0046 \rightarrow U(C_{2,4D}) = 0.0046 * 37.92 = 0.174 \rightarrow U_{\text{prošireno}} = 0.174 * 2 = 0.349$$

$$U_{\text{prošireno}} = 0.349 \sim 0.5 \% \rightarrow C_{2,4D} = (37.92 \pm 0.5) \%$$

4. Zaključak

Validacijom metode utvrđeno je da su zadovoljeni zahtevi standardne metode za granicu ponovljivosti ($r = 0.5$) kao i zahtev za $Rsd \leq 2 \%$. Analizom RM (primenom T-testa utvrđeno je da metoda nema sistematskih grešaka. Proširena merna nesigurnost je 0.5% za faktor obuhvata $k = 2$ za 95% interval poverenja.

Literatura

1. CIPAC Method 1, knjiga , 1981, pp 2060-2061
2. CIPAC MT 126, knjiga, 1981, pp 2254-2256
3. SRPS ISO/IEC 17025:2006
4. EURACHEM/CITAC, Guide 25, 2000.
5. Text on Validation of Analytical Procedure, ICH
6. Method Verification and Validation, www.fda.gov/ora/science
7. Validation and Qualification in Analytical laboratories, www.labcompliance.com
8. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, EURACHEM/CITAC Guide CG4, 2000.