



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF TECHNOLOGY



MASTER RAD

**PARAMETRI KVALITETA LABORATORIJSKIH
ISPITIVANJA KOD VERIFIKACIJE I
VALIDACIJE ANALITIČKIH METODA**

Mentor:
Prof. dr Goran Vučić

Kandidat:
Jana Vukoje

Banjaluka, septembar 2025. godine



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
UNIVERSITY OF BANJA LUKA
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
FACULTY OF TECHNOLOGY



MASTER THESIS

QUALITY PARAMETERS OF LABORATORY TESTS FOR THE VERIFICATION AND VALIDATION OF THE ANALYTICAL METHODS

Mentor:
Goran Vučić, PhD, Full Professor

Candidate :
Jana Vukoje

Banjaluka, september 2025

Informacije o mentoru i master radu:

Mentor: Dr Goran Vučić, vanredni profesor, Univerzitet u Banja Luci, Tehnološki fakultet

Naziv master rada: „Parametri kvaliteta laboratorijskih ispitivanja kod verifikacije i validacije analitičkih metoda ”

Sažetak:

Kvalitet ispitivanja u laboratorijama zavisi od mnogo različitih faktora. Ključno je pitanje tačnog rezultat ispitivanja. Njega nikad ne možemo znati. Rezultat ispitivanja predstavljamo kao srednju vrijednost nekoliko ponovljenih mjerenja u kratkom vremenskom intervalu. Ipak, postoje neki parametri koji određuju nivo kvaliteta naših mjerenja. To su kalibraciona kriva, limit detekcije, limit kvantifikacije, tačnost, preciznost, ponovljivost ispitne metode. Svi ovi parametri se određuju eksperimentalno u laboratoriji i čine osnovu za verifikaciju ili validaciju analitičkih metoda.

Ključne riječi: kvalitet, metoda, verifikacija, validacija

Uža naučna oblast: Upravljanje i kontrola kvaliteta hrane i pića

Naučno polje: Prehrambeno inženjerstvo

Klasifikaciona oznaka: T 430 – Tehnologija hrane i pića

Tip odabrane licence Kreativne zajednice: Autorstvo – nekomercijalno – dijeliti pod istim uslovima

Information about the mentor and master's thesis:

Mentor: PhD Goran Vučić, associate professor, University of Banja Luka, Faculty of Technology

Title of master thesis: " Quality parameters of laboratory tests for the verification and validation of the analytical methods"

Abstract:

The quality of testing in laboratories depends on many different factors. The key question is the exact result of the examination. We can never know it. We present the test result as the mean value of several repeated measurements in a short time interval. However, there are some parameters that determine the level of quality of our measurements. These are the calibration curve, limit of detection, limit of quantification, accuracy, precision, repeatability of the test method. All these parameters are determined experimentally in the laboratory and form the basis for verification or validation of analytical methods.

Key words: quality, methods, verification, validation

Scientific field: Food technology of foods of plant origin

Academic expertise: Food engineering

Classification code: T 430 – Food and drink technology

Type of creative community licence defence: Attribution – NonCommercial - ShareAli

SADRŽAJ:

1. UVOD	6
2. TEORIJSKI DIO.....	8
1.Odabir, verifikacija i validacija laboratorijskih metoda	8
1.1.Odabir metode.....	8
1.2.Verifikacija metode	8
1.3.Validacija metode	9
1.3.1.Međulaboratorijski pristup	10
1.3.2.Pristup u okviru jedne laboratorije	10
2.Specifičnost/selektivnost	11
2.1.Efekti smetnji	12
2.2.Procjena selektivnosti.....	12
3.Granica detekcije (LoD) i granica kvantifikacije (LoQ)	12
4.Kalibracija i linearnost.....	14
5.Područje (Radni opseg).....	15
5.1.Procjena radnog opsega instrumenta.....	15
5.2.Radni opseg metode za procjenu	16
6.Osjetljivost.....	16
7.Preciznost.....	16
8.Tačnost (Istinitost)	19
9.Robusnost	20
10. Procjena mjerne nesigurnosti metode ispitivanja	21
10.1.Specifikacija mjernog rezultata.....	22
10.2.Određivanje izvora nesigurnosti	22
10.3.Određivanje komponenata nesigurnosti	22
10.4.Proračun kombinovane nesigurnosti	22
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	23
4. REZULTATI I DISKUSIJA.....	26
5. ZAKLJUČAK.....	36
6.LITERATURA:	37

1. UVOD

Milioni testova, mjerenja i ispitivanja se rade svakog dana u hiljadama laboratorija širom svijeta. Postoji bezbroj razloga koji ih podupiru, na primjer: kao način vrednovanja robe za potrebe trgovine; podrška zdravstvu; provjera kvaliteta vode za piće, hrane i hrane za životinje; analiziranje elementarnog sastava legure da bi se potvrdila njena pogodnost za upotrebu u konstrukciji aviona; forenzička analiza tjelesnih tečnosti u krivičnim istragama. Gotovo svaki aspekt društva je na neki način podržan analitičkim radom. Troškovi sprovođenja ovih mjerenja su visoki i dodatni troškovi mogu nastati zbog odluka donijetih na osnovu rezultata. Na primjer, testovi koji pokazuju da hrana nije pogodna za konzumaciju mogu dovesti do zahtjeva za odštetu. Jasno je da je važno izvršiti ispravno mjerenje i biti u stanju pokazati da je rezultat tačan. (Eurachem, 2014).

Analitičke metode kvalitativne i kvantitativne analize različitih uzoraka obuhvataju niz postupaka, od izbora reprezentativnih uzoraka, pripreme uzoraka, odgovarajućih mjerenja i obrade dobijenih rezultata. Tačnost dobijenih rezultata je od velikog značaja za kvalitet same metode i njenu dalju pripremu. Stoga, neophodno je obezbijediti da analitička metoda bude što je moguće više tačna, osjetljiva, reproduktivna, selektivna i primjenljiva (Petrović, 2017.)

Validacija analitičke metode prvi je korak nakon razvijanja određene metode. S obzirom na važnost analitičke hemije u ispitivanju i kontroli kvaliteta proizvoda koji su potrebni za život i zdravlje pojedinca, važno je da i validacija bude blagovremeno i ispravno provedena te dokumentovana. (Božic, 2020).

Validacija ili vrednovanje metode jest postupak utvrđivanja, odnosno potvrđivanja, da je metoda prikladna za korišćenje u određenu svrhu, to jest validacijom potvrđujemo kako će metoda dati tačne rezultate (Božic, 2020).

S obzirom na ubrzani tehnološki razvoj prehrambene, kozmetičke, farmaceutske i još mnogih drugih grana industrije u kojima se svakodnevno razvijaju nove metode za analizu novih proizvoda za poboljšanje ljudskog života, prvi korak nakon razvijanja određene metode, kako bismo se uvjerali da će metoda zaista biti dobra, jeste upravo validacija metode (Božic, 2020).

Validaciji se može pristupiti laboratorijski (unutrašnje vrednovanje) i međulaboratorijski (dvije laboratorije ispituju isti uzorak). Na temelju međulaboratorijskog pristupa skraćuje se vrijeme potrebno za izvršenje eksperimenata svim budućim korisnicima (sličnih) metoda. Upravo zato važno je na propisan i jasan način dokumentovati validaciju (Božic, 2020).

Prilikom validacije spektroskopskih i hromatografskih metoda određuju se parametri kao što su linearnost, granica detekcije, granica kvantifikacije, preciznost, tačnost i osjetljivost metode (Sabljic, 2016).

Kako bi laboratorija mogla osigurati kvalitet dobijenih podataka te kako bi mogla dokazati svoju kompetentnost i izvrsnost, potrebno je provjeriti analitičke metode koje

se izvode u laboratoriji. Validacija metode čini prvi korak u osiguranju kvaliteta laboratorije (Sabljčić, 2016).

Međunarodno je priznato da je validacija neophodna u analitičkim laboratorijama. Upotreba validnih metoda je važna da bi analitička laboratorija pokazala svoju kvalifikaciju i kompetentnost (Taverniers i sar. 2004).

2. TEORIJSKI DIO

1.Odabir, verifikacija i validacija laboratorijskih metoda

Svaka laboratorija nastoji dati brze, tačne i pouzdane rezultate svojih aktivnosti, a da bi se to postiglo primjenjuje odgovarajuće metode ispitivanja. Uz odabir metode vrlo važno je utvrditi sposobnost laboratorije da u svojim uslovima primjenom odabrane metode postiže željeni cilj. Zato je potrebno da na prikladan način provjeri metodu i tako potvrdi da ona služi željenoj svrsi. To se postiže njenom verifikacijom i validacijom (Grgić, 2019).

1.1.Odabir metode

Prema zahtjevu ISO/IEC 17025:2017 standarda, laboratorija mora upotrebljavati prikladne metode i postupke za svoje aktivnosti (ispitivanja, kalibracije ili uzorkovanja).

Svaka metoda ima svoje područje primjene unutar koga ona daje rezultate koji su tačni, čitljivi, razumljivi, originalni, pouzdani i ponovljivi. Ta svojstva metoda je zadobila putem validacije koja je i temelj za određivanje njenog područja primjene. Stoga, validacija predstavlja preduslov za primjenu metode. Takvu metodu je, u daljem koraku, potrebno verifikovati u uslovima rada laboratorije (Grgić, 2019).

Kupac laboratorijskih usluga može, ali i ne mora poznavati metode ispitivanja, usmjeravanja i uzorkovanja. U slučajevima kad on ne odredi metodu, onda je to dužnost laboratorije. Pri odabiru metoda laboratorija može upotrebljavati metode objavljene u međunarodnim, regionalnim ili nacionalnim standardima, u stručnim tekstovima ili časopisima, u publikacijama proizvođača, može se koristiti metodama koje je sam razvio ili prilagodio. Kupac se, naravno, u skladu zahtjevima standarda ISO/IEC 17025 mora složiti s laboratorijskim odabirom metode. Tu treba imati na umu da su neke laboratorijske aktivnosti zakonski definisane, što znači da je primjena određenih metoda za određene aktivnosti strogo definisana propisima (Grgić, 2019).

1.2.Verifikacija metode

Metode koje su objavila standardna tijela poput ISO, CENCENELEC, IEC, ASTM, već su bile predmet validacije putem kolaborativnih studija i utvrđeno je da su prikladne za namijenjenu svrhu u području primjene metode, pa validacija od strane laboratorije koja koristi metod nije neophodna. Međutim laboratorija treba da verifikuje performanse metode (Eurachem, 2014).

U standardu ISO/IEC 17025:2007 zahtijevalo se da laboratorija mora prije poduzimanja ispitivanja ili kalibracije potvrditi da može ispravno provoditi standarde metode. Takođe, pri promjenama standardnih metoda takvo potvrđivanje se mora ponoviti. To „potvrđivanje” u novom izdanju standarda nazvano je „verifikacija” (Grgić, 2019).

Tabela 1 Zahtjev standarda ISO/IEC 17025 s obzirom na vrstu metode (Grgić, 2019).

Metoda	Zahtjev za laboratoriju
Standardna metoda	Verifikacija (druga validacija)
Standardna metoda-modifikacija	Validacija
Standardna metoda-upotreba izvan područja primjene	Validacija
Nestandardna metoda	Validacija

Verifikacija se provodi za već validirane metode, a uključuje neku od sljedećih situacija:

- kad se validirana metoda po prvi put upotrebljava u laboratoriji;
- kad se validirana metoda po prvi put upotrebljava za neki proizvod;
- kad validirana metoda doživi novo izdanje;
- kad se iz bilo kojih razloga promijene neki uslovi u laboratoriji koji utiču na metodu.

Standardne metode se trebaju verifikovati u pogledu osposobljenosti osoblja (obuka, iskustvo, kompetencije),

opreme (karakteristike uređaja), zahtijevanih materijala, etalona, reagensa, uslova okoline, ponovljivosti ili obnovljivosti, sposobnosti da se postignu karakteristike performansi metode i svih drugih karakteristika koje mogu uticati na rezultat (Grgić, 2019).

Karakteristike performansi metode mogu obuhvatiti radni opseg, tačnost, mjernu nesigurnost, granicu detekcije, granicu kvantifikacije, selektivnost metode, linearnost, ponovljivost ili obnovljivost, robusnost na vanjske utjecaje ili osjetljivost na utjecaje iz matrice uzorka ili ispitnog predmeta..(Grgić, 2019).

Izvođenje metode može se dokazati:

- korišćenjem slijepih proba ili necijepljenih sredstava (npr. u mikrobiologiji) za procjenu kontaminacije;
- laboratorijskim kontrolnim uzorcima (npr. uzorci obogaćeni Hemikalijama ili pozitivne kontrole kulture u mikrobiologiji) za procjenu tačnosti;
- duplikatima za procjenu preciznosti;
- etalonima za provjeru kalibracije;
- uzorcima za praćenje kontrole kvalitete (putem kontrolnih karata);
- sudjelovanjem u programima ispitivanja sposobnosti s time da je predmet ispitivanja sposobnosti reprezentativan u pogledu matrice, parametara, nivoa koncentracije i drugim bitnih parametara (Grgić, 2019).

Zavisno od složenosti metode, verifikacija može biti jednostavnija ili složenija, a u pojedinim situacijama može se praktično približiti validaciji metode (Grgić, 2019).

1.3. Validacija metode

Nestandardne metode i vlastite metode moraju se prethodno validirati.

Prema ISO/IEC 17025 standardu validacija se definiše kao postupak pružanja objektivnih dokaza da su zahtjevi koji se stavljaju pred određenu analitičku metodu ispunjeni. Validacija metode je potrebna da bi se potvrdila prikladnost analitičke

metode te da bi se dobili kvalitativni i/ili kvantitativni rezultati s prihvatljivim nivoom nesigurnosti (Sabljčić, 2016).

Ona je potrebna da bi laboratorija dugogodišnjom primjenom metode osigurala tačnost, preciznost i ponovljivost rezultata (Grgić, 2019).

Validacija metode omogućava hemičarima da pokažu da je metoda „prikladna za svrhu“. Da bi analitički rezultat bio prikladan za namjerenu upotrebu, on mora biti dovoljno pouzdan da se svaka odluka zasnovana na njemu može donijeti sa povjerenjem. Dakle, efekat metode mora biti validan i neizvjesnost rezultata, na datom nivou povjerenja, procijenjena. Neizvjesnost treba procijeniti i citirati na način koji je široko priznat, interno konzistentan i lak za tumačenje. Većina informacija potrebnih za procjenu nesigurnosti može se dobiti tokom validacije metode (Eurachem, 2014).

Validacija se provodi kod:

- nestandardne metode;
- laboratorijski dizajnirane/razvijene metode;
- standardne metode koje se koriste izvan predviđenog obima;
- amplifikacije i modifikacije standardnih metoda.

Postoje dva glavna pristupa validaciji metoda; pristup međulaboratorijskog poređenja i pristup jedne laboratorije. Bez obzira na pristup, laboratorija koja koristi metod je odgovorna da obezbijedi da je prikladna za predviđenu upotrebu i, ako je potrebno, da izvrši dalji rad na dopuni postojećih validacionih podataka (Eurachem, 2014).

1.3.1.Međulaboratorijski pristup

Međulaboratorijska poređenja se često nazivaju „saradničke studije“ ili „kooperativne studije“. Postoji veliki broj protokola koji se odnose na ovu vrstu validacije. Ako se razvija metoda koja će imati široku upotrebu, možda kao objavljena standardizovana procedura, onda je kolaborativno istraživanje koje uključuje grupu laboratorija vjerovatno poželjniji način sprovođenja validacije. Pokazalo se da je objavljena metoda validirana na ovaj način robusna. Kada je metod validiran od strane organizacije koja odobrava standarde, kao što su ISO, CEN ili AOAC International, korisnik će obično morati samo da provjeri objavljene podatke o performansama i/ili uspostavi podatke o performansama za sopstvenu upotrebu metode. Ovaj pristup, dakle, smanjuje opterećenje laboratorije koja koristi ovu metodu (Eurachem, 2014).

1.3.2.Pristup u okviru jedne laboratorije

Laboratorije će s vremena na vrijeme otkriti da je metoda potrebna, ali nije dostupna kao objavljeni standard. Ako je metoda razvijena za upotrebu u jednoj laboratoriji, na primjer zato što ne postoji opšti interes za metodu ili zato što su druge laboratorije konkurenti, prikladan je pristup jedinstvene laboratorije. Da li će metode validirane u jednoj laboratoriji biti prihvatljive za regulatorne svrhe ili ne, zavisi od bilo kakvih smjernica koje pokrivaju dotičnu oblast mjerenja. Obično bi trebalo da bude moguće dobiti jasnu izjavu o politici od odgovarajućeg regulatornog tijela (Eurachem, 2014).

U praksi, validacija metode obuhvata niz kriterijuma kao što su preciznost, tačnost (istinitost), selektivnost/specifičnost, linearnost, granica detekcije (engl. limit of detection, LoD), granica kvantifikacije (engl. limit of quantification, LoQ), osjetljivost, robusnost te kalibraciju (Taverniers i sar., 2004).

Postupak validacije može se podijeliti na četiri koraka:

1. određivanje primjenjivosti i prikladnosti metode,
2. određivanje selektivnosti i specifičnosti metode,
3. kalibracijske studije (određivanje linearnog područja, osjetljivosti, LOD, LOQ) i
4. studije tačnosti (određivanje preciznosti i tačnosti, robusnosti i nesigurnosti) (Sabljčić, 2016).

Validacija metode zahtjeva značajan angažman osoblja laboratorije. Ona uključuje odabir i ovlašćenje osoblja za implementaciju aktivnosti, planiranje postupka validacije, utvrđivanje validacijskih parametara te dokumentovanje dokaza i izradu validacijskog izvještaja.

Nakon implementacije validacije metode, istu je potrebno verifikovati u konkretnim uslovima u kojima laboratorija provodi metodu. Dakle, validirana metoda se mora verifikovati prije nego što se stavi u upotrebu (Grgić, 2019).

2. Specifičnost/selektivnost

Analitička selektivnost se odnosi na „mjeru“ u kojoj se metoda može koristiti za određivanje određenih analita u smjesama ili matricama bez smetnji od drugih komponenti sličnog ponašanja“. Dok IUPAC preporučuje termin „selektivnost“, neke oblasti, npr. farmaceutski sektor, koriste „specifičnost“ ili „analitičku specifičnost“ (Eurachem, 2014).

Specifičnost i selektivnost daju predstavu o pouzdanosti analitičke metode. Termin 'specifičan' se generalno odnosi na metodu koja daje odgovor samo za jedan analit, dok se termin 'selektivan' koristi za metodu koja proizvodi odgovore za različite hemijske entitete ili analite koji se mogu razlikovati jedan od drugog. Specifičnost i selektivnost u suštini odražavaju istu karakteristiku i veoma su blisko međusobno povezane na takav način da specifičnost znači 100% selektivnost. Drugim riječima, metoda može biti specifična samo ako je 100% selektivna (Taverniers i sar., 2004).

Selektivnost metode može se izraziti na sljedeći način:

$$\text{Selektivnost (u \%)} = \frac{\text{Broj pozitivnih uzoraka}}{\text{Broj pozitivnih uzoraka} + \text{broj lažno negativnih uzoraka}} \times 100$$

Nemogućnost da se detektuje određena količina analita koja je sigurno prisutna u uzorku, daje lažno negativan rezultat (tzv „negativni dokaz“) i takav rezultat smanjuje selektivnost metode. Zbog bezbjednosti hrane, poželjno je da selektivnost metode u analizi hrane i vode (kao i kozmetičkih i farmaceutskih preparata) bude što veća (Rajković i sar., 2019).

2.1. Efekti smetnji

Generalno, za analitičke metode se može reći da se sastoje od faze mjerenja kojoj može, ali ne mora da prethodi faza izolacije. U fazi mjerenja, koncentracija analita se obično ne mjeri direktno. Umjesto toga, određena osobina (npr. intenzitet svetlosti) se kvantifikuje. Stoga je ključno utvrditi da je izmjereno svojstvo samo zbog analita, a ne od nečeg hemijski ili fizički sličnog, ili nastalo kao koincidencija, što uzrokuje pristrasnost u rezultatu mjerenja. Fazi mjerenja će možda morati da prethodi faza izolacije kako bi se poboljšala selektivnost mjernog sistema (Eurachem, 2014).

2.2. Procjena selektivnosti

Selektivnost postupka mora biti uspostavljena za metode koje su razvili sami, metode prilagođene iz naučne literature i metode objavljene od strane tijela za standardizaciju koje se koriste van opsega navedenog u standardnoj metodi. Kada se metode koje su objavila tijela za standardizaciju koriste u okviru njihovog djelokruga, selektivnost će se obično proučavati kao dio procesa standardizacije. Selektivnost metode se obično istražuje proučavanjem njene sposobnosti da izmjeri analit od interesa u uzorcima u koje su namjerno uvedene specifične smetnje (one za koje se smatra da će vjerovatno biti prisutne u uzorcima). Tamo gde je nejasno da li su interferencije već prisutne ili ne, selektivnost metode se može istražiti proučavanjem njene sposobnosti da mjeri analit u poređenju sa drugim nezavisnim metodama (Eurachem, 2014).

Selektivnost je potrebno procjenjivati tokom validacije metode. Ukoliko nije moguće postići zadovoljavajuću selektivnost, odnosno specifičnost određene metode prema nekom analitu, potrebno je koristiti dvije ili više metoda kako bi se postigao potreban nivo razlikovanja analita i interferencija. Pri određivanju selektivnosti/specifičnosti, koriste se identifikacijski testovi i testovi onečišćenja, posebno u farmaceutskoj industriji i to pri hromatografskoj analizi lijekova, razgradnih produkata, itd..(Božić, 2020).

3. Granica detekcije (LoD) i granica kvantifikacije (LoQ)

Osnovna karakteristika instrumentalnih metoda analize je mogućnost detekcije i određivanja mikrokoličina analita u uzorku (Đukić i sar., 2023).

Granica detekcije MDL (Method Detection Limit) je najniža koncentracija analita u uzorku koja se može detektovati, ali ne mora nužno kvantifikovati (Lopez Gracia i sar., 2011)

U procesu validacije ovaj pojam se naziva limitom detekcije (LoD). U procesu validacije treba napraviti razliku između granice detekcije instrumenta i granice detekcije metode. Granica detekcije instrumenta zasniva se na analizi slijepe probe (reagensa) izostavljajući bilo koji korak pripreme. Za određivanje LoD mora se uzeti uzorak koji je prošao cijeli postupak pripreme, koristeći isti način izračunavanja kao i za ispitivane uzorke. Pogodan postupak za procjnu LoD je da se koristi „slijepi“ uzorak, tj. uzorak koji ne sadrži ciljani analit ili je koncentracija analita blizu ili ispod očekivanog LoD.

Kada „slijepi“ uzorak prođe cijeli postupak pripreme i bude predstavljen instrumentu, možemo odrediti limit detekcije i kvantifikacije (Đukić i sar., 2023).

Postoji nekoliko različitih pristupa određivanja granice detekcije:

- a) Vizuelna metoda – analizom uzorka s poznatom koncentracijom analita određuje se najmanja količina analita koja se može detektovati;
- b) Metoda temeljena na omjeru signala i šuma (engl. signal-to-noise, S/N) – upoređuje se izmjereni signal uzorka s poznatom koncentracijom analita s izmjerenim signalom slijepe probe te utvrđuje minimalna koncentracija analita koja se može pouzdano detektovati. Obično se kao vrijednost S/N uzima 3:1.
- c) Metoda temeljena na standardnoj devijaciji odgovora i nagiba kalibracijske krivulje (Pedro Lopez Gracia i sar., 2011).

Granica detekcije (LOD) računa se množenjem standardne devijacije (σ) sa faktorom 3.3, te dijeljenjem sa nagibom kalibracijske krivulje (S).

Spomenuta standardna devijacija dobija se iz preporučenog broja ponavljanja eksperimenta, a najčešće je taj broj 10. Moguće ju je dobiti ili računanjem iz analitičkog odgovora dobijenog analizom prikladnog broja slijepih proba ili iz regresijom dobijene krivulje koja je rezultat korišćenja uzoraka koji sadrže analit u granici detekcije, odnosno granici kvantifikacije.

$$LOD = \frac{3,3\sigma}{S}$$

Standardna devijacija računa se na različite načine:

- a) analizom slijepe probe (6 do 10 mjerenja) i računanjem standardne devijacije odgovora
- b) iz kalibracijske krivulje dobijene analizom uzoraka koji sadrže analit u rasponu granice detekcije, pri čemu se koristi standardna devijacija pravca ili odsječka na osi y (Božić, 2020).

Granica kvantifikacije (LOQ)

Granica kvantifikacije metode, PQL (Practical Quantitation Limit), tj. limit kvantifikacije (LoQ) je najniža količina analita u uzorku koji se može kvantifikovati sa prihvatljivim nivoom tačnosti i preciznosti. Granica kvantifikacije metode se razlikuje od limita kvantifikacije metode i obično je pet do deset i pa i više puta veća vrijednost od LoD (Đukić i sar., 2023).

Izračunava se po relaciji:

$$PQL = Xs(sl.probe) + 10 \cdot s(sl.probe)$$

Gdje je: $Xs(sl.probe)$ - srednja vrijednost slijepih proba ili uzoraka sa veoma niskom koncentracijom analita (Đukić i sar., 2023).

LoQ može da varira u zavisnosti od vrste primenjene metode i prirode uzorka. Obično se koristi za određivanje nečistoća ili proizvoda razgradnje (Dagadu Chavan i Mahendra Desai, 2022). Mjerenje se zasniva kao i kod LOD na:

- a) Vizuelnoj procjeni
- b) Omjeru signala i šuma
- c) Standardnoj devijaciji odgovora i nagiba.

LOQ se može odrediti prema formuli:

$$LQ = \frac{10\sigma}{S}$$

σ = Standardna devijacija odgovora

S = Nagib kalibracione krive analita od linije regresije.

Uzorci pogodni za procjenu limita detekcije i kvantifikacije su:

- Blank uzorci koji predstavljaju matriks od interesa, ali koji ne sadrži ispitivani analit; i
- Test uzorak sa koncentracijom analita približno ili ispod otkrivanog limita detekcije (Đukić i sar., 2023).

4. Kalibracija i linearnost

Cilj kalibracije je uspostavljanje odnosa između nekoliko poznatih koncentracija standarda ili referentnog materijala i njihovih odgovarajućih signala, čime se kao odgovor dobije kalibracijska krivulja.

Kalibracijska krivulja može biti linearna ili nelinearna. U analitičkim istraživanjima odziv je najčešće linearan te se dobije linearna kalibracijska krivulja. (Sabljčić, 2016).

Linearnost analitičkog postupka je njegova sposobnost (unutar datog opsega) da dobije rezultate ispitivanja koji su direktno proporcionalni koncentraciji (količini) analita u uzorku. Može se direktno demonstrirati na analitu ili na uzorcima sa dodacima koristeći najmanje pet koncentracija u cijelom radnom opsegu. Štaviše, vizuelna evaluacija signala analita kao funkcije koncentracije, preporučuju se odgovarajući statistički proračuni, kao što je linearna regresija. Navesti parametre nagiba i presjeka, rezidualne sume kvadrata i koeficijenta korelacije.

Preporučuje se grafički prikaz podataka i ostataka (Lopez Gracia i sar., 2011).

Često se linearnost procjenjuje grafički, kao dodatak ili kao alternativa matematičkoj evaluaciji. Procjena se vrši vizuelnom inspekcijom grafikona visine signala ili površine pika kao funkcije koncentracije analita (Lopez Gracia i sar., 2011).

Linearnost potiče od pretpostavke da između dvije varijable postoji takva zavisnost koja se može prikazati jednačinom pravca u kojoj porastom vrijednosti jedne varijable, dolazi do promjene vrijednosti druge varijable:

$$y = ax + b$$

Ukoliko postoji linearna zavisnost, prilikom dokumentacije potrebno je navesti korelacijski koeficijent, odsječak na y osi (b), nagib (a) te reziduale dobijenog pravca (Božić, 2020). Nagib pravca je parametar koji ukazuje na osjetljivost metode, a odsječak na sistematsku grešku. Vrijednost koeficijenta korelacije treba da bude $k \geq 0,99$, dok je vrijednost $k \geq 0,98$ prihvatljiva za vrlo niske koncentracije (Đukić i sar., 2023).

Područje linearnosti kreće se od granice kvantifikacije (LoQ) do granice u kojem odnos koncentracije i odziva više nije linearan (Sabljčić, 2016).

5. Područje (Radni opseg)

Definicija „Radni opseg“ je interval u kome metoda daje rezultate sa prihvatljivom nesigurnošću. Donji kraj radnog opsega je ograničen granicom kvantifikacije LoQ. Gornji kraj radnog opsega definisan je koncentracijama pri kojima se uočavaju značajna odstupanja u analitičkoj osjetljivosti (Eurachem, 2014).

Radni opseg metode koja se validira treba da bude naveden u okviru dokumentovane procedure. Tokom validacije potrebno je potvrditi da se metoda može koristiti u ovom intervalu. Između tih dviju granica, odnosno u datom rasponu, instrument kojim se izvodi metoda pokazuje određenu zavisnost koja može biti linearna, kvadratna, logaritamska (Božić, 2020).

U toku validacije treba procijeniti i radni opseg instrumenta i radni opseg metode. Podaci o radnom opsegu se često generišu tokom razvoja metode. U takvim slučajevima biće dovoljno da se ovi podaci uključe u izvještaj o validaciji (Eurachem, 2014).

5.1. Procjena radnog opsega instrumenta

Između LoQ i gornjeg kraja radnog opsega instrumenta, odziv instrumenta je u skladu sa poznatom relacijom, npr. linearnom, krivolinijskom itd. Tokom validacije potrebno je:

- a) potvrditi ovu vezu,
- b) demonstrirati da je radni opseg instrumenta kompatibilan sa intervalom navedenim u obimu metode, i
- c) potvrditi da je predložena procedura kalibracije instrumenta adekvatna.

Da bi se procijenio radni opseg instrumenta i potvrdila njegova pogodnost za svrhu, treba proučiti standarde kalibracije sa rasponom koncentracije koji premašuje očekivani opseg koncentracije za $\pm 10 \%$ ili čak $\pm 20 \%$ i ucrtati signale (Eurachem, 2014).

5.2.Radni opseg metode za procjenu

Da bi se procijenio radni opseg metode:

- 1) treba da budu dostupni uzorci sa poznatim koncentracijama i slijepi uzorci,
- 2) korišćene uzorke treba uzeti kroz cijeli postupak mjerenja;
- 3) koncentracije različitih uzoraka treba poželjno da pokriju cijeli opseg od interesa
- 4) instrument treba da bude kalibrisan u skladu sa predloženom procedurom kalibracije (Eurachem, 2014)

Radni opseg i linearnost metode se procenjuju vizuelnom inspekcijom grafikona, podržanom statistikom i grafikom reziduala iz linearne regresije. Radni opseg metode treba da se uspostavi za svaku matricu obuhvaćenu obimom metode. To je zato što smetnje mogu da izazovu nelinearne odgovore, a sposobnost metode da izdvoji/oporavi analit može da varira u zavisnosti od matrice uzorka (Eurachem, 2014).

6.Osjetljivost

Osetljivost metode je gradijent krive odgovora. U praktičnom smislu, osetljivost se odnosi na nagib kalibracione krive. Osetljivost se često koristi zajedno sa LoD i LoQ. Nagib kalibracione krive se koristi za izračunavanje LoD i LoQ. Metoda se naziva osjetljivom ako mala promjena koncentracije ili količine analita izaziva veliku promjenu mjerenog signala. Osjetljivost se ne spominje uvijek kao parametar validacije jer obično zavisi od postavki instrumenta (Taverniers i sar., 2004).

7.Preciznost

Preciznost analitičke metode može se definisati kao „Blisko slaganje između serije mjerenja dobijenih višestrukim uzorkovanjem istog standardizovanog uzorka pod propisanim uslovima.“ Ispituje se korišćenjem homogenih, autentičnih uzoraka (Dagadu Chavan i Mahendra Desai 2022).

Uzorak se mjeri n puta u svakoj od m serija. Za ocjenjvanje glavnog izvora nesigurnosti, treba izabrati broj ponavljanja (n) i broj serija (m). Mali broj analiza pružiće standardnu devijaciju koja ima mali značaj. Preciznost se izražava kao ukupna standardna devijacija s_{tot} i predstavlja zbir standardne devijacije unutar serije s_w (tip preciznosti koji odgovara mjerenjima izvršenim pod uslovima ponovljivosti, tj. ista

metoda, isti materijal, isti analitičar, ista laboratorija, ista oprema i kratak vremenski period) i standardne devijacije između serija s_b (tip preciznosti koji odgovara mjerenjima izvršenim u promjenljivim uslovima u jednoj laboratoriji, ista metoda, ista laboratorija, drugi analitičar, druga oprema, duži vremenski period) (Đukić i sar., 2023).

Unutarserijska standardna devijacija, s_w je mjera preciznosti i ponovljivosti metode, dobijena udruživanjem procjena standardnih devijacija prema jednačini: (Đukić i sar., 2023).

$$s_w = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^k s_j^2}{n}}$$

Gdje je s - procjena standardne devijacije definisana jednačinom, n -broj mjerenja u svakoj seriji:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^k (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Gdje je x_i - izmjerena vrijednost mjerenja, $\bar{x}_i$ -srednja vrijednost n mjerenja, izračunata po relaciji:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Standardna devijacija srednjih vrijednosti, s_w , predstavlja mjeru ponovljivosti mjerenja i izračunava se na osnovu izraza

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^k (\bar{x} - \bar{\bar{x}})^2}{n - 1}}$$

Gdje je $\bar{\bar{x}}$ – srednja vrijednost mjerenja unutar grupe

Međuserijska standardna devijacija, s_b izračunava se na osnovu jednačine, a na osnovu izračunate unutarserijske i standardne devijacije srednjih vrijednosti:

$$s_b = \sqrt{s_x^2 - \frac{s_w^2}{m}}$$

Gdje je: m-broj određivanja unutar grupe, to je najčešće dva (duplikat).

Ukupna standardna devijacija, s_{tot} , je pokazatelj preciznosti i računa se po jednačini

$$s_{tot} = \sqrt{s_x^2 + s_b^2}$$

a, RSD vrijednost kao:

$$RSD = \frac{s_{tot}}{\bar{x}} \cdot 100$$

$$\%RSD = \frac{\text{Standardna devijacija}}{\text{Srednja}} \cdot 100$$

Zavisno od uslova u kojima se određuje razlikujemo:

- Preciznost pod uslovima ponovljivosti ili ponovljivost-izražava preciznost pod istim uslovima rada u kratkom vremenskom intervalu.
- Međupreciznost – preciznost koja se ostvaruje unutar iste laboratorije u dužem razdoblju uz očekivane promjene nekih uslova (različiti analitičari, instrumenti, kolone, reagensi iz različitih boca i različitih dobavljača).
- Preciznost pod uslovima obnovljivosti ili obnovljivost – promjenljivi uslovi uključuju različite laboratorije (Lazarić, 2012).

Za svaku od navedenih preciznosti potrebno je navesti standardnu devijaciju, relativnu standardnu devijaciju (koeficijent varijancije) i interval pouzdanosti (Bozić, 2020).

Koeficijent varijacije može se odrediti prema formuli:

$$KV = \frac{SD}{\bar{X}} \cdot 100$$

gdje je:

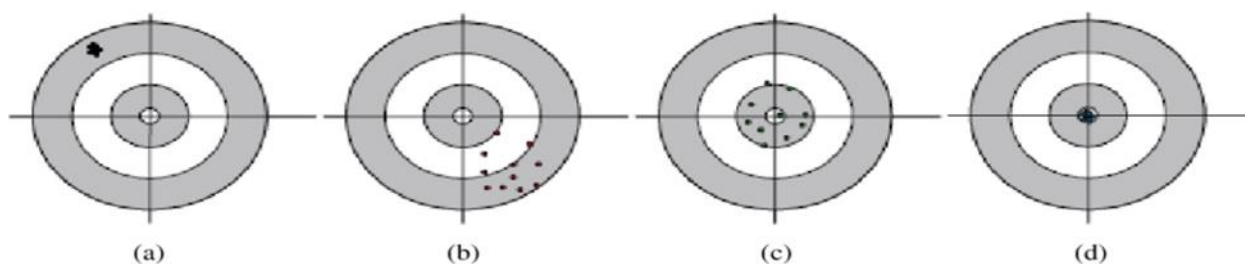
KV - koeficijent varijacije (%),

SD– standardna devijacija rezultata mjerenja i

x – srednja vrijednost mjerenja (Sabljčić, 2016).

8. Tačnost (Istinitost)

Tačnost mjerenja izražava bliskost jednog rezultata sa referentnom vrijednošću.



Slika 2 Ilustracija tačnosti i preciznosti

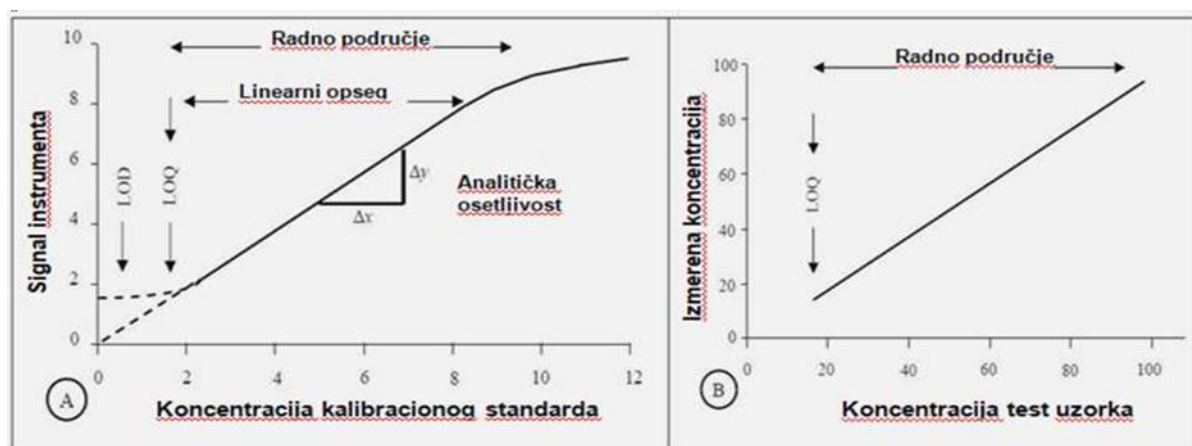
- a) Netačna, ali precizna
- b) Netačne i neprecizne
- c) Tačne ali neprecizne
- d) Precizno i tačno

Validacija metode nastoji da istraži tačnost rezultata procjenom sistematskih i slučajnih efekata na pojedinačne rezultate. Istinitost se obično izražava kao mjerno odstupanje (engl. bias, B) koje predstavlja razliku između aritmetičke sredine rezultata ispitivanja i prihvaćene referentne vrijednosti, ili ipak njihov odnos (Eurachem, 2014).

Tačnost metode predstavlja razliku između eksperimentalno izmjerene i prave vrijednosti. Tačnost metode se najteže validuje iz razloga da prava vrijednost nije poznata, i izražava se tzv. „recovery“ vrijednošću, R (procentni prinos ili efikasnost) izraženu u procentima: (Đukić i sar., 2023).

$$R = \frac{x_i}{x_p} \cdot 100\%$$

Gdje su X_i – eksperimentalno izmjerena vrijednost, X_p – prava vrijednost



Slika 3 Grafički prikaz krive dobijene instrumentanom metodom (Rajković i sar., 2019).

- a) Grafički prikaz krive dobijene instrumentalnom metodom, uz prikaz radnog područja metode, linearnog opsega, LOD, LOQ i analitičke osjetljivosti;
- b) Grafički prikaz krive dobijene mjerenjem koncentracije test uzorka (Rajković i sar., 2019).

Izračunavaju se dvije „recovery“ vrijednosti, donja i gornja, tj. minimalna i maksimalna (R_{min} i R_{max}) vrijednost izražena u procentima. Za metodu se kaže da je tačna ako se R vrijednost nalazi u granicama od 95-105% (Đukić i sar., 2023).

Odstupanje (bias, B) izražava se po relaciji:

$$B = \frac{X_i - X_p}{X_p} \cdot 100\%$$

Bias se definiše kao stalna greška u izmjerenim vrijednostima u odnosu na pravu vrijednost i predstavlja tzv. sistematsku grešku procedure. Može da varira u zavisnosti od matriksa i nivoa koncentracije. U toku postupka validacije treba ispitati više različitih matriksa i određeni broj nivoa koncentracije.

Istinitost je još jedan od načina iskazivanja tačnosti i definisan je:

$$istinitost = \frac{X_{ism}}{X_p} \cdot 100\%$$

gdje su X_{ism} – eksperimentalno izmjerene vrijednosti svih mjerenja, X_p – prava vrijednost

U praksi tačnost metode se sprovodi na nekom od sljedećih načina:

- Ispitivanjem sertifikovanih referentnih materijala (CRM)
- Ispitivanjem obogaćenih uzoraka i određivanjem procenta prinosa; i
- Poređenjem sa rezultatima koji su dobijeni nekom drugom standardnom metodom, koja je već potvrđena kao tačna (Đukić i sar. 2023).

9. Robusnost

Robusnost se određuje kao mjera otpornosti analitičkog postupka na male, namjerne promjene radnih uslova metode. Ispitivanje robusnosti provodi se kako bi se odredilo kako male promjene radnih uslova i provođenja metode utiču na rezultat analize. Važan su dio razvoja metode jer pomažu otkriti optimalne uslove izvođenja metode te upućuju na to što treba nadzirati. Tokom eksperimenta mijenjaju se radni uslovi unutar stvarnih granica i prati kvantitativna promjena rezultata (Lazarić, 2012).

Tipični parametri kod ispitivanja robusnosti metode su stabilnost rastvora, dužina trajanja ekstrakcije, ispitivanje uticaja različitih filtera, provjera preciznosti i linearnosti

metode uz rad nekog drugog tehničara i uz korišćenje drugih instrumenata i hemikalija u laboratoriji, rad u različitim uslovima okoline (temperatura, vlažnost vazduha, itd.). Kod instrumentalnih metoda tipični parametri koji se koriste za proveru robusnosti metode su variranje pH vrijednosti mobilne faze i variranje sastava mobilne faze kao i korišćenje različitih kolona, rad pri različitim temperaturama i brzine protoka i sl (Rajković i sar., 2019).

10. Procjena mjerne nesigurnosti metode ispitivanja

Mjerna nesigurnost izraz je za činjenicu da za određenu mjernu vrijednost ili njezin mjerni rezultat ne postoji jedna vrijednost, već je moguć beskonačan broj vrijednosti raspršenih oko tog rezultata (Benčić, 1998).

Mjerna nesigurnost mjerenja karakteriše interval vrijednosti za koje se tvrdi da se unutar njega nalazi tačna vrijednost, sa specifičnim nivoom povjerenja. Ponovljeni rezultati ispitivanja imaju oblik normalne raspodjele u kojoj je mnogo vjerovatnije da vrijednost leži bliže srednjoj vrijednosti nego ekstremima (Rajković i sar., 2019).

Proračun nesigurnosti nužno pridružene rezultatu uvijek je vrlo težak i odgovoran zadatak mjeritelja. Metoda za iskazivanje mjerne nesigurnosti mora dati najbolju proračunatu vrijednost i mora biti istovjetna u širokom spektru mjerenja, što znači:

- sveobuhvatna, primjenjiva na sve vrste mjerenja i sve vrste ulaznih podataka pri mjerenju (Benčić, 1998).

Procjena ponovljenih mjerenja se izražava standardnom devijacijom, parametrom koji određuje mjernu nesigurnost.

Vrijednost komponente nesigurnosti se izražava kao standardna devijacija ili relativna standardna devijacija i u oba slučaja se naziva standardna nesigurnost. Obilježava se sa $u(x_i)$, ili $u(x_i)/x_i$ ako je izražena kao relativna standardna devijacija (Rajković i sar., 2019).

Da bi dobila vrijednost ukupne nesigurnosti potrebno je, prema određenim pravilima, kombinovati standardne nesigurnosti komponenti. Tako dobijena ukupna nesigurnost naziva se kombinovana standardna nesigurnost. Označava se simbolom $u_c(y)$ ili samo $u(y)$. Za većinu potreba u analitičkoj hemiji treba koristiti proširenu mjernu nesigurnost $U(y)$. Proširena nesigurnost daje proširen interval povjerenja, odnosno interval u okviru kog se smatra da vrijednost mjerene veličine leži sa većom pouzdanošću. $U(y)$ se dobija množenjem kombinovane standardne nesigurnosti, faktorom pokrivenosti, k . Najčešće se koristi faktor pokrivenosti 2, za nivo povjerenja od 95%, koji je sasvim zadovoljavajući za većinu analitičkih merenja (Rajković i sar., 2019).

Koraci potrebni za procjenu mjerne nesigurnosti iz mjernog rezultata su:

- Specifikacija mjernog rezultata
- Određivanje izvora nesigurnosti
- Određivanje komponenata nesigurnosti
- Proračun kombinovane nesigurnosti (Pipunić, 2017).

10.1. Specifikacija mjernog rezultata

Opiše se šta je izmjereno u provedenom eksperimentu pri čemu se napravi veza između mjernog rezultata i ulaznih veličina (npr. konstante, izmjerene količine materije, kalibracijske standardne veličine itd.) o kojima će zavisiti mjerni rezultat (Pipunić, 2017).

10.2. Određivanje izvora nesigurnosti

Napravi se popis potencijalnih izvora nesigurnosti. To uključuje izvore koji doprinose nesigurnosti za parametre koji su međusobno povezani (ulazne i izlazne veličine), no uključuje i izvore koji proizlaze iz hemijskih pretpostavki (Pipunić, 2017).

10.3. Određivanje komponenata nesigurnosti

Izmjeri se ili odredi veličina nesigurnosti komponenata koje su povezane s izvorima nesigurnosti koje su određeni.

10.4. Proračun kombinovane nesigurnosti

Doprinos ukupnoj nesigurnosti, koji se dobiva određivanjem komponenata nesigurnosti iz individualnih i grupnih izvora, treba biti izražen preko standardne devijacije.

Tada se primjenom odgovarajućih pravila može izračunati kombinovana nesigurnost. Dodatkom faktora pokrivenosti se dobije proširena nesigurnost (Pipunić, 2017).

Najčešći izvori nesigurnosti su:

- Uzorkovanje,
- Uslovi skladištenja,
- Djelovanje instrumenta,
- Čistoća reagensa,
- Pretpostavljena stehiometrija,
- Uslovi mjerenja,
- Efekt uzorka,
- Proračuni,
- Korekcije slijepom probom,
- Uticaj analitičara i
- Nasumični uticaji.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

Eksperimentalna mjerenja za određivanje parametara koji se predstavljaju u verifikaciji i validaciji analitičke metode rađena su na instrumentu OPTIMA 8000, proizvođača Perkin Elmer. To je optički emisijski spektrofotometar koji služi za kvantitativnu analizu gotovo svih metala iz Periodnog sistema elemenata. Mjerenja apsorpcija određenih elemenata rađena pri uslovima:

Tabela 2. Parametri instrumenta ICP OES spektrofotometra OPTIMA 8000

Snaga generator (W)	1500
Protok argona za plazmu (L/min)	8
Protok pomoćnog gasa Ar (L/min)	0.2
Protok gasa za raspršivanje (unošenje) uzorka (L/min)	0.7
Protok uzorka (mL/min)	1
Pravac posmatranja plazme	aksijalni i radijalni
Visina pogleda (mm)	15
Procesni dijagram	površina (7 tačaka)
Broj ponavljanja	3
Vrijeme očitavanja (s)	45
Kalibracija	linearna zavisnost
Raspršivač	Scott
Nebulizer	Perkin-Elmer cross-flow
Injektor i.d (mm)	2.0 (Alumina)
Kvarcna baklja	1-slot

Korišteni standardi:

1. Perkin Elmer Pure Plus - Instrument Calibration Standard 2 (multielementarni) LOT CL3-191MKBY1
2. Perkin Elmer Pure - Wave Cal Solution (multielementarni) LOT 43-71AS (P,S)
3. Perkin Elmer Pure - Mercury (Hg 1000mg/L) LOT 20-13HGY1
4. Perkin Elmer Pure Plus – Multi-Element Calibration Standard 5 (multielementarni) LOT CL8-184YPY1 (B)

Tabela 3. Limiti detekcija i koncentracije standardnih rastvora za kalibraciju ICP OES spektrofotometra

element	talasna dužina	limit detekcije (µg/L) P.Elmer	R ²	koncentracije za kalibraciju
Na	589.592	0.5	0.9951	1-15 mg/L
Ca	317.933	0.05	0.9869	1-15 mg/L
K	766.490	1	0.9969	1-15 mg/L
P	213.617	4	0.9989	0.1-5 mg/L
Mg	285.213	0.04	0.9998	0.1-5 mg/L
Zn	206.200	0.2	0.9920	0.1-5 mg/L
Fe	238.204	0.1	0.9996	0.1-5 mg/L
Mn	260.568	0.1	0.9999	0.1-5 mg/L
Al	396.153	1	0.9489	0.1-5 mg/L
Cu	327.393	0.4	0.9998	0.1-5 mg/L
Cr	267.716	0.2	0.9998	0.1-5 mg/L
Mo	202.031	0.5	0.9998	0.1-5 mg/L
Se	196.026	2	0.9997	0.1-5 mg/L
Cd	228.802	0.1	0.9999	0.1-5 mg/L
Pb	220.353	1	0.9999	0.1-5 mg/L
As	193.696	1	0.9999	0.1-5 mg/L
Hg	253.652	1	0.9897	0.1-5 mg/L
B	249.677	1	0.9996	0.1-5 mg/L
Tl	190.801	2	0.9999	0.1-5 mg/L
S	181.975	10	0.9790	0.1-1 mg/L
V	292.464	0.5	0.9995	0.1-5 mg/L
Ba	233.527	0.03	0.9999	0.1-5 mg/L
Co	228.616	0.2	0.9999	0.1-5 mg/L
Ni	231.604	0.5	0.9998	0.1-5 mg/L

Za pripremu standardnih rastvora korišćena je dejonizovana voda.

Tabela 4. Podaci iz sertifikata za CRM ERM- BB 186

CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - BB186

PIG KIDNEY		
	Mass Fraction	
	Certified value ^{1, 2)} [mg/kg]	Uncertainty ^{2, 3)} [mg/kg]
Cd	1.09	0.05
Cu	36.5	1.8
Fe	255	13
Mn	7.26	0.25
Pb	0.040	0.005
Se	10.3	0.9
Zn	134	5

1) Unweighted mean value of the means of accepted sets of data, each set being obtained in a different laboratory and/or with a different method of determination. The certified value and its uncertainty are traceable to the International System of Units (SI).

2) Certified mass fractions are corrected for the water content of the material (and expressed as dry mass), determined as described in the section "Instructions for use".

3) The certified uncertainty is the expanded uncertainty with a coverage factor $k = 2$ corresponding to a level of confidence of about 95 % estimated in accordance with ISO/IEC Guide 98-3, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement (GUM:1995), ISO, 2008.

This certificate is valid for one year after purchase.

Sales date:

The minimum amount of sample to be used is 200 mg.

Serije standardnih rastvora pripremane su u koncentracijama (mg/L) za kadmij (Cd) i olovo (Pb)

0,01

0,05

0,1

0,5

1

2

2,5

Serije standardnih rastvora pripremane su u koncentracijama (mg/L) za željezo (Fe)

0,1

0,5

1

2

2,5

3,5

5

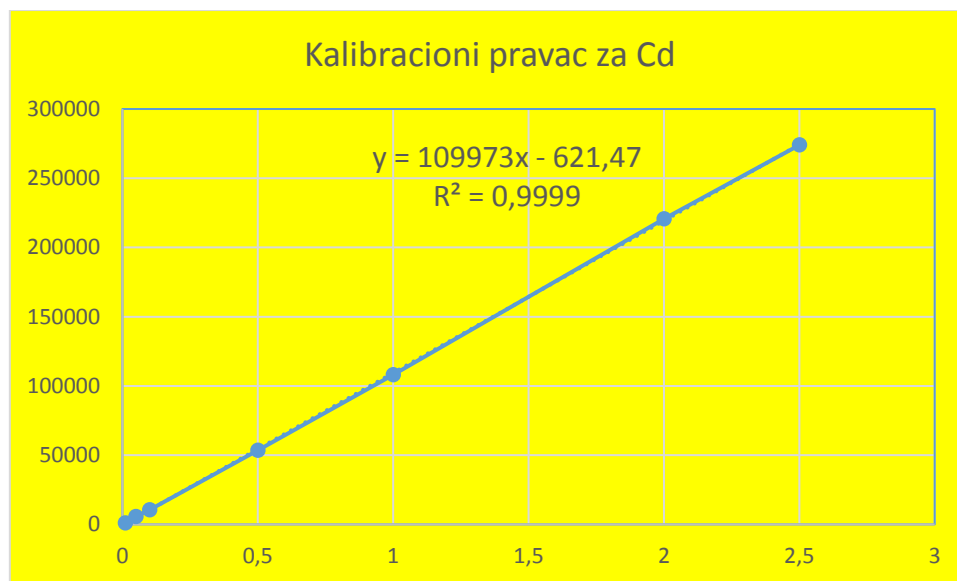
4. REZULTATI I DISKUSIJA

Kalibracioni pravac za Cd

Tabela 5. Podaci iz kalibracije za kadmijum

No	x	y
1	0,01	1053,8
2	0,05	5510,8
3	0,1	10482,4
4	0,5	53431,4
5	1	107980,7
6	2	220692,7
7	2,5	273934,5

Kalibracioni pravci za Cd, Pb i Fe su rađeni u sedam tačaka, što je preporuka kao minimalan broj standardnih rastvora kod određivanja koeficijenta pravca, njegovog nagiba a zatim i limita detekcije i limita kvantifikacije. R^2 se naziva koeficijentom pravca i daje nam podatak koliko stvarno sve tačke leže na pravoj. Idealan slučaj je kada je R^2 jednak 1,0000, to bi teoretski značilo da sve tačke strogo leže na pravcu. Ovakav slučaj nije rijetkost u analitici metala na ICP OES instrumentu.



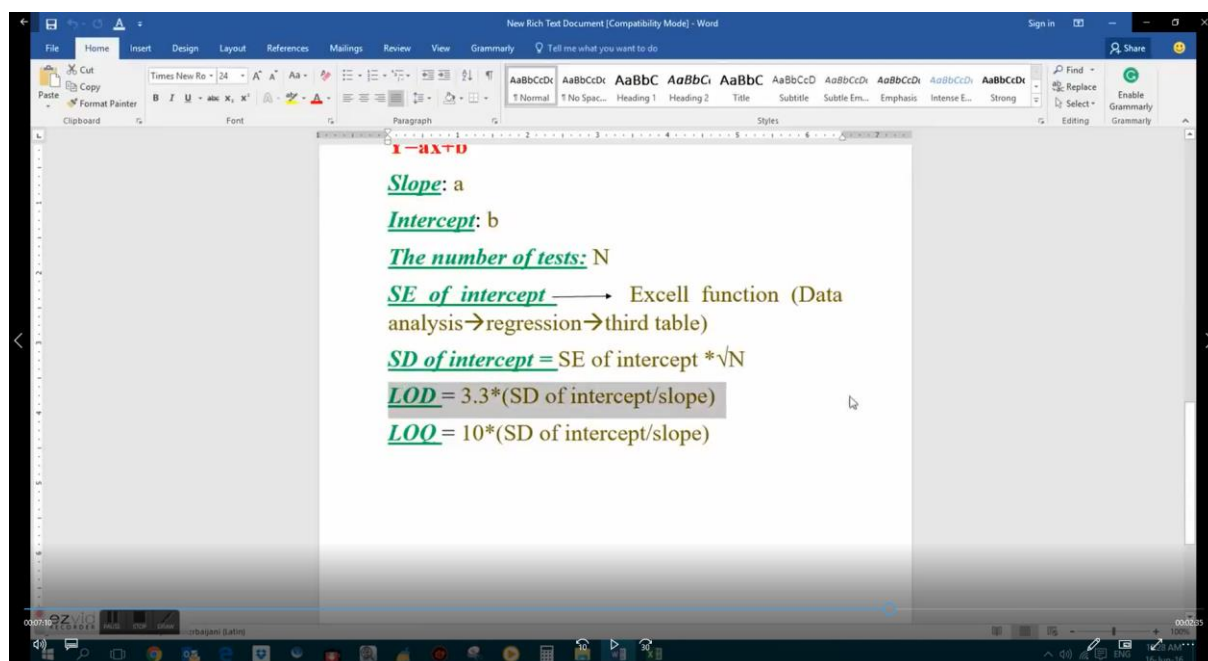
Slika 5. Kalibracioni pravac za kadmijum

Da bi se odredili limit detekcije i limit kvantifikacije potrebno je uraditi regresionu analizu, a zatim iz podataka analize i samog pravca sa dijagrama računaju se vrijednosti LOD i LOQ, prema formulama.

Tabela 6. Regresiona analiza kalibracijskog pravca za kadmijum

SUMMARY OUTPUT								
Regression Statistics								
Multiple R	0,999962618							
R Square	0,99995237							
Adjusted R Square	0,999910285							
Standard Error	1049,626507							
Observations	7							
ANOVA								
	df	SS	MS	F	Significance F			
Regression	1	73675237566	7,37E+10	66873,18	1,64098E-11			
Residual	5	5508579,024	1101716					
Total	6	73680746145						
	Coefficients	Standard Error	t Stat	P-value	Lower 95%	Upper 95%	Lower 95,0%	Upper 95,0%
Intercept	-621,4735851	545,3805673	-1,13952	0,306116	-2023,41896	780,4717947	-2023,418965	780,4717947
X Variable 1	109973,4765	425,2672821	258,5985	1,64E-11	108880,2921	111066,6608	108880,2921	111066,6608
RESIDUAL OUTPUT								
Observation	Predicted Y	Residuals	Standard Residuals	Percentile	Y			
1	478,2611797	575,5388203	0,600662	7,142857143	1053,8			
2	4877,200239	633,5997613	0,661258	21,42857143	5510,8			
3	10375,87406	106,5259374	0,111176	35,71428571	10482,4			
4	54365,26465	-933,8646532	-0,97463	50	53431,4			
5	109352,0029	-1371,302891	-1,43116	64,28571429	107980,7			
6	219325,4794	1367,220632	1,426903	78,57142857	220692,7			
7	274312,2176	-377,7176063	-0,39421	92,85714286	273934,5			
PROBABILITY OUTPUT								
Percentile	Y							

Slope je nagib prave (a) a intercept je odsječak na osi y



Slika 6. Način izračunavanja limita detekcije i limita kvantifikacije

Proračunima su dobijene vrijednosti LOD i LOQ za Cd od 0,04 mg/L i LOQ 0,13mg/L.

Tabela 7. Limit detekcije i limit kvantifikacije za kadmijum

slope:	109973
y-intercept	621,47
SE of intercept	545,3805673
SD of intercept	1442,942333
LOD	0,043298888
LOQ	0,131208751

LOD	0,000193
LOQ	0,000644

$$\text{Tačnost (\%)} = (X_{\text{sr}}/\mu) \times 100$$

gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata niza mjerenja referentnog uzorka

μ = "tačna" vrijednost, tj. certificirana vrijednost referentnog uzorka

$$\text{bias} = |X_{\text{sr}} - \mu|$$

$$\text{bias (\%)} = (|X_{\text{sr}} - \mu|/\mu) \times 100$$

Mikrotalasna digestija

Tabela 8. Podaci za mase uzorka CRM i zapremine nakon mikrotalane digestije

R. B.	ID uzorka	masa uzorka (g)	V (mL)	Cd (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Pb (mg/kg)	Se (mg/kg)	Zn (mg/kg)
1	ERM-1	0,2083	25	1,09	36,5	255	7,26	0,04	10,3	134
2	ERM-2	0,2032	50	1,09	36,5	255	7,26	0,04	10,3	134
3	ERM-3	0,5071	25	1,09	36,5	255	7,26	0,04	10,3	134
4	ERM-4	0,5024	50	1,09	36,5	255	7,26	0,04	10,3	134

Tabela 9. Izmjerene vrijednosti koncentracija metala u CRM-u

R.B.	Oznaka uzorka	Cd (mg/L)	Cu (mg/L)	Fe (mg/L)	Mn (mg/L)	Pb (mg/L)	Se (mg/L)	Zn (mg/L)
1	ERM-1	0,0091	0,3041	2,12466	0,0604	0,00033	0,0858	1,116
2	ERM-2	0,0044	0,1483	1,03632	0,0295	0,00016	0,0419	0,545
3	ERM-3	0,0221	0,7404	5,17242	0,1472	0,00081	0,2089	2,718
4	ERM-4	0,0110	0,3668	2,56224	0,0729	0,00040	0,1035	1,346

Srednja vrijednost izmjerenih koncentracija kadmijuma nakon mikrotalasne digestije iznosi 1,00 g/kg. Tačnost je 91,74% a bias u procentima 8,26%.

$$X_{sr} = \frac{0,91 + 0,88 + 1,110 + 1,10}{4} = 1,00 \text{ g/kg}$$

$$\begin{aligned} \text{Tačnost (\%)} &= (X_{sr}/\mu) \times 100 \\ &= (1,00/1,09) \times 100 = 91,74\% \end{aligned}$$

$$\text{Bias} = (X_{sr} - \mu) = 1,00 - 1,09 = 0,09$$

$$\text{bias (\%)} = (|X_{sr} - \mu|/\mu) \times 100 = (|1,00 - 1,09|/1,09) \times 100\% = 8,26 \%$$

Preciznost i ponovljivost su identične vrijednosti i iznose 12,2%.

$$\text{Preciznost (\%)} = (s/X_{sr}) \times 100$$

gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka

s = standardna devijacija X

$$\text{Preciznost (\%)} = (0,122/1,00) \times 100\% = 12,2\%$$

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (s/X_{sr}) \times 100$$

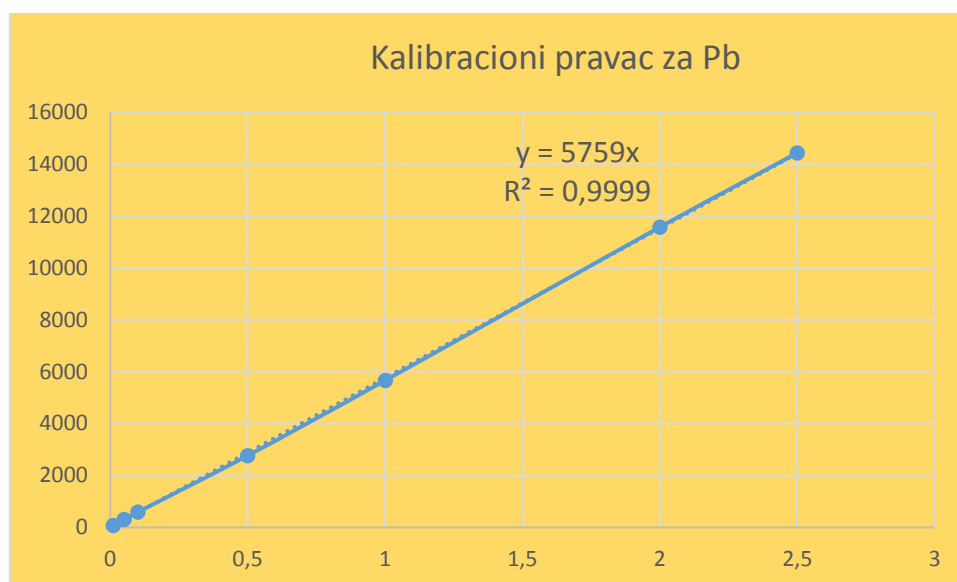
gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka u kratkom vremenskom intervalu (jedan analitičar)

s = standardna devijacija X

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (0,122/1,00) \times 100\% = 12,2\%$$

Tabela 10. Podaci iz kalibracije za kadmijum

No	x	y
1	0,01	71,7
2	0,05	300,9
3	0,1	587,6
4	0,5	2763,9
5	1	5657,2
6	2	11563,2
7	2,5	14424,3



Slika 7. Kalibracioni pravac za olovo

Tabela 11. Regresiona analiza kalibracijskog pravca za olovo

SUMMARY OUTPUT

<i>Regression Statistics</i>	
Multiple R	0,999941102
R Square	0,999882208
Adjusted R Square	0,99985865
Standard Error	69,17914259
Observations	7

ANOVA

	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>
Regression	1	2,03E+08	2,03E+08	42442,78	5,11E-11
Residual	5	23928,77	4785,754		
Total	6	2,03E+08			

	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	-28,7556725	35,94513	-0,79999	0,46002	-121,156	63,64422	-121,156	63,64422
X Variable 1	5774,365212	28,02866	206,0164	5,11E-11	5702,315	5846,415	5702,315	5846,415

RESIDUAL OUTPUT

<i>Observation</i>	<i>Predicted Y</i>	<i>Residuals</i>	<i>Standard Residuals</i>
1	28,98797963	42,71202	0,676341
2	259,9625881	40,93741	0,64824
3	548,6808487	38,91915	0,616281
4	2858,426934	-94,5269	-1,49682
5	5745,60954	-88,4095	-1,39996
6	11519,97475	43,22525	0,684468
7	14407,15736	17,14264	0,271452

PROBABILITY OUTPUT

<i>Percentile</i>	<i>Y</i>
7,142857	71,7
21,42857	300,9
35,71429	587,6
50	2763,9
64,28571	5657,2
78,57143	11563,2
92,85714	14424,3

Tabela 12. Limit detekcije i limit kvantifikacije za olovo

slope: 5759
y-intercept 0

SE of
intercept 35,94513
SD of
intercept 95,10186
LOD 0,054495
LOQ 0,165136

LOD 0,901469
LOQ 2,731724

Srednja vrijednost mjerenja koncentracije olova.

$$X_{sr} = \frac{0,033 + 0,032 + 0,041 + 0,042}{4} = 0,037 \text{ g/kg}$$

$$\text{Tačnost (\%)} = (X_{\text{sr}}/\mu) \times 100$$

$$= (0,037/0,04) \times 100 = 92,5 \%$$

$$\text{Bias} = (X_{\text{sr}} - \mu) = 0,037 - 0,04 = -0,003$$

$$\text{bias (\%)} = (|X_{\text{sr}} - \mu|/\mu) \times 100 = (|0,037 - 0,04|/0,04) \times 100\% = 7,5 \%$$

$$\text{Preciznost (\%)} = (s/X_{\text{sr}}) \times 100$$

gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka

s = standardna devijacija X

$$\text{Preciznost (\%)} = (0,005228/0,037) \times 100\% = 14,13 \%$$

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (s/X_{\text{sr}}) \times 100$$

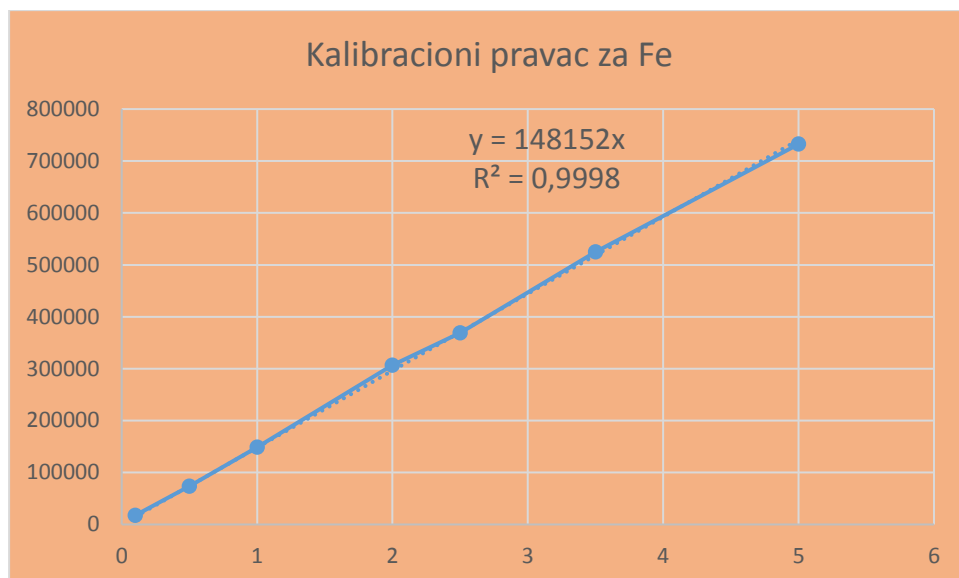
gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka u kratkom vremenskom intervalu (jedan analitičar)

s = standardna devijacija X

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (0,005228/0,037) \times 100\% = 14,13 \%$$

Tabela 13. Podaci iz kalibracije za željezo

No	x	y
1	0,1	17521,6
2	0,5	73415,3
3	1	149054,6
4	2	307003,4
5	2,5	368921,7
6	3,5	525030,4
7	5	732496,3



Slika 8. Kalibracioni pravac za željezo

Tabela 14. Regresiona analiza kalibracijskog pravca za željezo

SUMMARY OUTPUT								
<i>Regression Statistics</i>								
Multiple R	0,999754282							
R Square	0,999508624							
Adjusted R Square	0,999410349							
Standard Error	6235,506328							
Observations	7							
<i>ANOVA</i>								
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Significance F</i>			
Regression	1	3,95E+11	3,95E+11	10170,51	1,82E-09			
Residual	5	1,94E+08	38881539					
Total	6	3,96E+11						
	<i>Coefficients</i>	<i>Standard Error</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-value</i>	<i>Lower 95%</i>	<i>Upper 95%</i>	<i>Lower 95,0%</i>	<i>Upper 95,0%</i>
Intercept	3963,485112	3846,16	1,030505	0,350019	-5923,38	13850,35	-5923,38	13850,35
X Variable	146965,6784	1457,285	100,849	1,82E-09	143219,6	150711,7	143219,6	150711,7
RESIDUAL OUTPUT				PROBABILITY OUTPUT				
<i>Observation</i>	<i>Predicted Y</i>	<i>Residuals</i>	<i>Standard Residuals</i>	<i>Percentile</i>	<i>Y</i>			
1	18660,05295	-1138,45	-0,2	7,142857	17521,6			
2	77446,3243	-4031,02	-0,70816	21,42857	73415,3			
3	150929,1635	-1874,56	-0,32932	35,71429	149054,6			
4	297894,8419	9108,558	1,600179	50	307003,4			
5	371377,681	-2455,98	-0,43146	64,28571	368921,7			
6	518343,3594	6687,041	1,17477	78,57143	525030,4			
7	738791,877	-6295,58	-1,106	92,85714	732496,3			

Tabela 15. Limit detekcije i limit kvantifikacije za željezo

slope:	148152
y-intercept	0
SE of intercept	3846,16
SD of intercept	10175,98
LOD	0,226664
LOQ	0,686861

LOD 0,008977
LOQ 0,027202

Srednja vrijednost mjerenja koncentracije olova.

$$X_{sr} = \frac{212,5 + 207,2 + 255,4 + 256,2}{4} = 232,83 \text{ g/kg}$$

$$\begin{aligned} \text{Tačnost (\%)} &= (X_{sr}/\mu) \times 100 \\ &= (232,83/215) \times 100 = 108,29 \% \end{aligned}$$

$$\text{Bias} = (X_{sr} - \mu) = 232,83 - 215 = 17,83$$

$$\text{bias (\%)} = (|X_{sr} - \mu|/\mu) \times 100 = (|232,83 - 215|/215) \times 100\% = 8,29 \%$$

$$\text{Preciznost (\%)} = (s/X_{sr}) \times 100$$

gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka

s = standardna devijacija X

$$\text{Preciznost (\%)} = (26,62/232,83) \times 100\% = 11,43 \%$$

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (s/X_{sr}) \times 100$$

gdje je: X_{sr} = srednja vrijednost rezultata dobivenih višestrukim mjerenjem uzorka u kratkom vremenskom intervalu (jedan analitičar)

s = standardna devijacija X

$$\text{Ponovljivost (\%)} = (26,62/232,83) \times 100\% = 11,43 \%$$

Kod željeza je primjetno veće odstupanje, odnosno veća je standardna devijacija nego što je to bio slučaj kod kadmijuma i olova.

5. ZAKLJUČAK

- Pošto u analitici nikad nismo sigurni u rezultate koje dobijemo eksperimentalnim putem, potrebno je dodatno opisati vrijednosti koje predstavljamo kao rezultat
- Rezultat je prije svega srednja aritmetička vrijednost n ponovljenih mjerenja
- Iz tako dobijene srednje vrijednosti veoma lako izračunamo standardnu devijaciju koja nam već ukazuje na to koliko su se naši rezultati rasipali oko te srednje centralne vrijednosti
- U slučaju našeg eksperimenta evidentna je razlika u standardnoj devijaciji mjerenja kod olova i kadmijuma u odnosu na željezo
- Pošto su mjerenja realnih uzoraka, odnosno kvantitativna analiza zasnovana na Lambert-Beerovom zakonu, moramo napraviti kalibracioni pravac
- Iz kalibracionog pravca se takođe dobiju neki vrijedni rezultati koji nam ukazuju kako se naša kompletna analitika (instrument, analitičar, hemikalije, uslovi u laboratoriji, itd.) odražava na kvalitet tog pravca iz kojeg kasnije računamo rezultate mjerenja za realne uzorke. Te karakteristike kalibracionog pravca su njegov R^2 faktor, nagib i odsječak na x osi.
- Iz kalibracionog pravca vrlo jednostavno računamo i limit detekcije i limit kvantifikacije
- Isto tako iz dobijenih podataka mjerenja koncentracije analita u certifikovanom referentnom materijalu dobijamo podatke o tačnosti, preciznosti i ponovljivosti naše analize

6.LITERATURA:

1. Božić, J. (2020). Validacija analitičkih metoda. Završni rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.
2. Dagadu Chavan, S., Deepa Mahendra, D. (2022). Analytical method validation: A brief review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*, 16(02), 389–402.
3. Đukić, M., Vasiljević, S., Sovrlić, S., Adamović, D. (2023). Verifikacija i validacija analitičkih metoda u skladu sa standardom ISO/IEK 17025. *Bakar*, 2 (48), 25-34.
4. Grgić, Z. (2019). Odabir, verifikacija i validacija laboratorijskih metoda. *Svijet po mjeri*. HZN e-Glasilo br. 1-2019. Zagreb. Hrvatski zavod za norme.
5. Lopez Garcia, P., Buffoni, E., Pereira Gomes, F., Vilchez Quero, J.L. (2011). Analytical Method Validation. *Wide Spectra of Quality Control*. Turkey, Isin Akyar. Acibadem University, 1-20.
6. Lazarić, K. (2012). Validacija analitičkih metoda-osnovna načela. *Svijet po mjeri*, 1(1), 61-64.
7. Petrović, S. (2017). Optimizacija i validacija ICP – OES metoda određivanja mineralnog sastava uzoraka meda i polena. Master rad. Niš: Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet.
8. Pipunić, M. (2017). Kvantifikacija nesigurnosti analitičkih mjerenja. Završni rad. Zagreb. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije.
9. Rajković, M.B., Mitrović, M., Mladenović, S.A. (2019). Obezbeđenje poverenja u kvalitet rezultata hemijskih metoda ispitivanja. *Zaštita Materijala*, 60 (4), 342 – 359.
10. Sabljčić, M. (2016). Validacija spektroskopskih i kromatografskih metoda za određivanje polifenolnih spojeva. Završni rad. Osijek: Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
11. Taverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E. (2004). Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry*. 8 (23), 535-552.
12. The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, 2nd Edition. (2014). Eurachem.

BIOGRAFIJA

Opšti podaci

Ime: Jana

Prezime: Vukoje

Datum i mjesto rođenja: 04.01.1998. godine, Trebinje

Prebivalište: Bileća, Plana bb

Broj telefona: 065/568-744

E-mail: jana.vukoje@student.tf.unibl.org

Obrazovanje

Srednja škola: Gimnazija „Golu Kureš“ Bileća

Univerzitet/fakultet: Univerzitet u Banjoj Luci, Tehnološki fakultet

Zvanje: Diplomirani inženjer prehrambene tehnologije, 2022

Studijska grupa: Prehrambena tehnologija – kontrola kvaliteta i higijenske ispravnosti namirnica

Radno iskustvo

RITE „Gacko“ – pomoćnik tehnologije za hranu

Prilog 1.

UNIVERZITETU U BANJOJ LUCI

PODACI O AUTORU ODBRANJENOG MASTER/MAGISTARSKOG RADA

Ime i prezime autora master rada: Jana Vukoje

Datum, mjesto i država rođenja autora: 04.01.1998. Trebinje, BiH

Naziv završenog fakulteta autora i godina diplomiranja: Tehnološki fakultet, 2022.

Datum odbrane završnog/diplomskog rada autora: jul, 2022.godina

Naslov završnog/diplomskog rada autora: „Promjene u sastavu masnih kiselina u jestivim mastima i uljima nakon pripremanja hrane“

Akademsko zvanje koju je autor stekao odbranom završnog/diplomskog rada:
Diplomirani inženjer prehrambene tehnologije

Akademsko zvanje koje je autor stekao odbranom master rada: Master
prehrambenog inženjerstva

Naziv fakulteta/Akademije na kome je master/magistarski rad odbranjen: Tehnološki
fakultet

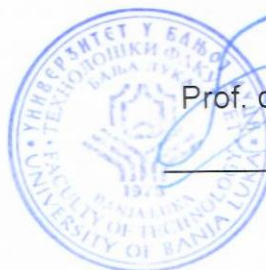
Naslov master/magistarskog rada i datum odbrane: Parametri kvaliteta laboratorijskih
ispitivanja kod verifikacije i validacije analitičkih metoda,

Naučna oblast master/magistarskog rada prema CERIF šifarniku: T 430
Prehrambeno inženjerstvo

Imena mentora i članova komisije za odbranu master/magistarskog rada

1. Prof. dr Ladislav Vasilišin, predsjednik komisije
2. Prof. dr Goran Vučić, mentor
3. Prof. dr Radovan Kukobat, član

Banja Luka, 15.09.2025.



Dekan

Prof. dr Borislav Malinović

**NASTAVNO-NAUČNOM VIJEĆU
TEHNOLOŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BANJOJ LUCI**

Primaljeno: 26.05.2025.			PRILOGA:
ORG. JED.	BROJ	ARH. ŠIFRA	
15/3	953	25	VRIJEDNOST:

PREDMET: Izvještaj Komisije o ocjeni urađenog master rada kandidata Jane Vukoje, dipl.inž.tehnologije

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci broj 15/3.858-8/25 od 14.05. 2025. godine imenovani smo u Komisiju za ocjenu i javnu odbranu završnog (master) rada kandidata Jane Vukoje, diplomiranog inženjera, pod naslovom „Parametri kvaliteta laboratorijskih ispitivanja kod verifikacije i validacije analitičkih metoda“.

Komisija u sastavu:

1. **Dr Ladislav Vasilišin**, vanredni profesor Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, uža naučna Prehrambene tehnologije namirnica biljnog porijekla, predsjednik komisije
2. **Dr Goran Vučić**, vanredni Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, uža naučna oblast Upravljanje i kontrola kvaliteta hrane i pića, mentor,
3. **Dr Radovan Kukobat**, vanredni profesor Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, uža naučna oblast Nanoprocesi, član

pregledala je dostavljeni završni (master) rad i Nastavno-naučnom vijeću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci podnosi slijedeći

IZVJEŠTAJ

Master rad kandidata Jane Vukoje, dipl.inž.tehnologije napisan je na 34 stranice pisanog teksta fontom Arial, veličina fonta 12, ilustrovanog sa 8 slika, 15 tabela uz navode 12 literaturnih citata. Rad je napisan pregledno kroz slijedeća poglavlja: Uvod, Teorijski dio, Eksperimentalni dio, Rezultati i diskusija, Zaključak i Literatura.

UVOD I TEORIJSKI DIO

Svaka analitička metoda ima svoje područje primjene unutar koga ona daje rezultate koji su tačni, čitljivi, razumljivi, originalni, pouzdani i ponovljivi. Ta svojstva metoda je zadobila putem validacije koja je i temelj za određivanje njenog područja primjene. Takvu metodu je, u daljem koraku, potrebno verifikovati u uslovima rada laboratorije. Metode koje su objavila standardna tijela poput ISO, CENCENELEC, IEC, ASTM, već su bile predmet validacije putem kolaborativnih studija i utvrđeno je da su prikladne za namijenjenu svrhu u području primjene metode, pa validacija od strane laboratorije koja koristi metod nije neophodna. Međutim laboratorija treba da verifikuje performanse metode. U standardu ISO/IEC 17025:2007 zahtijevalo se da laboratorija mora prije poduzimanja ispitivanja ili kalibracije potvrditi da može ispravno provoditi standarde metode. Takođe, pri promjenama standardnih metoda takvo potvrđivanje se mora ponoviti. To „potvrđivanje” u novom izdanju standarda nazvano je „verifikacija”. Nestandardne metode i vlastite metode moraju se prethodno validirati. Prema ISO/IEC 17025 standardu validacija se definiše kao postupak pružanja objektivnih dokaza da su zahtjevi koji se stavljaju pred određenu analitičku metodu ispunjeni.

Validacija metode je potrebna da bi se potvrdila prikladnost analitičke metode te da bi se dobili kvalitativni i/ili kvantitativni rezultati s prihvatljivim nivoom nesigurnosti. Ona je potrebna da bi laboratorija dugogodišnjom primjenom metode osigurala tačnost, preciznost i ponovljivost rezultata. Analitička selektivnost se odnosi na „mjeru“ u kojoj se metoda može koristiti za određivanje određenih analita u smjesama ili matricama bez smetnji od drugih komponenti sličnog ponašanja“. Osnovna karakteristika instrumentalnih metoda analize je mogućnost detekcije i određivanja mikrokoličina analita u uzorku. Granica detekcije MDL (Method Detection Limit) je najniža koncentracija analita u uzorku koja se može detektovati, ali ne mora nužno kvantifikovati. U procesu validacije ovaj pojam se naziva limitom detekcije (LoD). U procesu validacije treba napraviti razliku između granice detekcije instrumenta i granice detekcije metode. Granica kvantifikacije metode, PQL (Practical Quantitation Limit), tj. limit kvantifikacije (LoQ) je najniža količina analita u uzorku koji se može kvantifikovati sa prihvatljivim nivoom tačnosti i preciznosti. Kalibracijska kriva može biti linearna ili nelinearna. U analitičkim istraživanjima odziv je najčešće linearan te se dobije linearna kalibracijska kriva. Linearnost analitičkog postupka je njegova sposobnost (unutar datog opsega) da dobije rezultate ispitivanja koji su direktno proporcionalni koncentraciji (količini) analita u uzorku. Može se direktno demonstrirati na analitu ili na uzorcima sa dodacima koristeći najmanje pet koncentracija u cijelom radnom opsegu. Osetljivost metode je gradijent krive odgovora. U praktičnom smislu, osetljivost se odnosi na nagib kalibracione krive. Osetljivost se često koristi zajedno sa LoD i LoQ. Nagib kalibracione krive se koristi za izračunavanje LoD i LoQ. Metoda se naziva osjetljivom ako mala promjena koncentracije ili količine analita izaziva veliku promjenu mjerenog signala. Osjetljivost se ne spominje uvijek kao parametar validacije jer obično zavisi od postavki instrumenta. Preciznost analitičke metode može se definisati kao „blisko slaganje između serije mjerenja dobijenih višestrukim uzorkovanjem istog standardizovanog uzorka pod propisanim uslovima.“ Ispituje se korišćenjem homogenih, autentičnih uzoraka. Tačnost mjerenja izražava bliskost jednog rezultata sa referentnom vrijednošću. Validacija metode nastoji da istraži tačnost rezultata procjenom sistematskih i slučajnih efekata na pojedinačne rezultate. Istinitost se obično izražava kao mjerno odstupanje (engl. bias, B) koje predstavlja razliku između aritmetičke sredine rezultata ispitivanja i prihvaćene referentne vrijednosti, ili ipak njihov odnos.

HIPOTEZA I CILJ RADA

U okviru ovog rada postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Tačnost, preciznost i ponovljivost mjerenja u analitičkoj hemiji zavise od mnogo faktora
2. Primjenom statističke obrade podataka, dobijenih eksperimentalnim mjerenjima, možemo sa određenom vjerovatnoćom potvrditi tačnost i ponovljivost naših rezultata (verifikovati i validirati) ispitne metode
3. Pored tačnosti i ponovljivosti, kalibracija (linearnost) i međulaboratorijsko poređenje rezultata znatno utiče na kvalitet ispitivanja

Svrha ovog istraživanja je uvođenje većeg broja parametara kvaliteta ispitivanja, od do sada korišćenih, u ispitnim laboratorijama Tehnološkog fakulteta. savelikim brojem parametara kvaliteta ispitivanja dobija se na ukupnom kvalitetu i povjerenju u rezultate ispitivanja. Ekperimenti će se izvoditi na primjeru atomske apsorpcione spektrofotometrije, korišćenjem standardnih rastvora i sertifikovanih referentnih materijala. Cilj ovog istraživanja je uvođenje modela verifikacije standardnih analitičkih metoda i validacije nestandardnih analitičkih metoda u laboratorijama.

MATERIJAL I METODE RADA

Mjerenja u ovom radu su izvršena na AAS spektrofotometru koji radi na principu indukovano kuplovane plazme. Pomoću multielementarnog kalibracionog standarda je izvršena kalibracija za kadmijum, olovo i željezo.. Na osnovu dobijenih kalibracionih pravaca izračunati su limiti detekcije i kvantifikacije, kao faktori kvaliteta ispitivanja. Nakon toga je izvršena priprema sertifikovanog referentnog materijala, sa "poznatim" koncentracijama pojedinih elemenata, izvršena mjerenja odziva na AAS i određena tačnost, preciznost i ponovljivost unutarlaboratorijskih mjerenja za navedene metale.

REZULTATI I DISKUSIJA

Rezultati ovog master rada predstavljeni su sa 11 tabela i 4 slike sa podacima o kalibraciji instrumenta standardnim rastvorima kadmijuma, olova 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 2 i 2,5 mg/L i željeza koncentracija 0,1; 0,5; 1; 2; 2,5; 3,5; 5 mg/L od multielementarnog standardnog rastvora za kalibraciju koji sadrži ove elemente. Kalibracioni pravci za Cd, Pb i Fe su rađeni u sedam tačaka, što je preporuka kao minimalan broj standardnih rastvora kod određivanja koeficijenta pravca, njegovog nagiba a zatim i limita detekcije i limita kvantifikacije. Iz podataka dobijenih regresionom analizom izračunati su limiti detekcije i limiti kvantifikacije za kadmijum, olovo i željezo. Na osnovu mjerenja odziva instrumenta koji su se dobijali mjerenjem emisije pripremljenih uzoraka sa poznatom koncentracijom analita, od sertifikovanog referentnog materijala, izvršeni su proračuni za tačnost preciznost i ponovljivost metode.

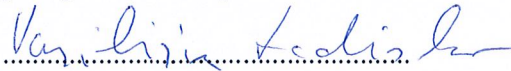
ZAKLJUČAK I PRIJEDLOG KOMISIJE

Imajući u vidu sve navedeno, Komisija je jednoglasno dala svoje pozitivno mišljenje o master radu kandidata Jane Vukoje, dipl.inž.tehnologije, pod naslovom „ **Parametri kvaliteta laboratorijskih ispitivanja kod verifikacije i validacije analitičkih metoda**“, i predlaže Nastavno-naučnom vijeću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci da **odobri** javnu odbranu rada.

U Banjoj Luci, 26.05.2025. godine

Članovi Komisije:

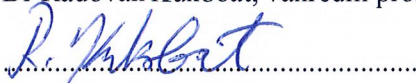
1. Dr Ladislav Vasilišin, vanredni profesor, predsjednik komisije


.....

2. Dr Goran Vučić, vanredni profesor, mentor


.....

3. Dr Radovan Kukobat, vanredni profesor, član


.....

Izjava 1

IZJAVA O AUTORSTVU

Izjavljujem da je master rad

Naslov rada: "Parametri kvaliteta laboratorijskih ispitivanja kod verifikacije i validacije analitičkih metoda "

Naslov rada na engleskom jeziku : " Quality parameters of laboratory tests for the verification and validation of the analytical methods "

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada,
- da master/magistarski rad, u cjelini ili u dijelovima, nije bio predložen za dobijanje bilo koje diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova,
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

U Banjoj Luci, 09.09.2025.

Potpis kandidata:

Jasna Byković

Izjava 2

Izjava kojom se ovlašćuje Tehnološki fakultet Univerziteta u Banjoj Luci da master rad učini javno dostupnim

Ovlašćujem Tehnološki fakultet Univerziteta u Banjoj Luci da moj master rad, pod naslovom

“ PARAMETRI KVALITETA LABORATORIJSKIH ISPITIVANJA KOD VERIFIKACIJE I VALIDACIJE ANALITIČKIH METODA ”

koji je moje autorsko djelo, učini javno dostupnim.

Moj master rad sa svim prilogima predala sam u elektronskom formatu, pogodnom za trajno arhiviranje.

Moj master rad, pohranjen u digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci, mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons), za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo - nekomercijalno - bez prerade
4. Autorstvo - nekomercijalno - dijeliti pod istim uslovima
5. Autorstvo - bez prerade
6. Autorstvo - dijeliti pod istim uslovima

U Banjoj Luci, 09.09.2025.

Potpis kandidata:

Jaka Bujak

Izjava 3

Izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije master/magistarskog rada

Ime i prezime autora: Jana Vukoje

Naslov rada: " **PARAMETRI KVALITETA LABORATORIJSKIH ISPITIVANJA KOD VERIFIKACIJE I VALIDACIJE ANALITIČKIH METODA** "

Mentor: Prof. dr Goran Vučić

Izjavljujem da je štampana verzija mog master/magistarskog rada identična elektronskoj verziji koju sam predao/la za digitalni repozitorijum Univerziteta u Banjoj Luci.

U Banjoj Luci, 09.09.2025.

Potpis kandidata

Jana Vukoje