

Validering av ny Karl Fischer titrator

Tor-Arne Krakeli





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 390 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1433 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsgate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sunnalsøra:

Sjølsengvegen 22
NO-6600 Sunndalsøra

Alta:

Kunnskapsparken, Markedsgata 3
NO-9510 Alta

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 77 62 90 00

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

Rapport

<i>Tittel:</i> Validering av ny Karl Fischer titrator	ISBN 978-82-8296-693-1 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Title:</i> Validation of the new Karl Fischer titrator	<i>Rapportnr.:</i> 30/2021
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Tor-Arne Krakeli	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Avdeling:</i> BioLab	<i>Dato:</i> 07.09.2021
<i>Oppdragsgiver:</i> Nofima AS - Bergen	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 8+4
<i>Stikkord:</i> Karl Fischer, water in oils, water in fats	<i>Oppdragsgivers ref.:</i>
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Karl Fischer titeratoren 'DL38' fra leverandøren Metler Toledo har blitt brukt ved BioLab i flere år, men kan nå ikke repareres på grunn av mangel på reservedeler. Etter en validering med fokus på riktighet og presisjon er den nye Karl Fischer titeratoren '915 KF Ti-Touch' fra leverandøren Metrohm godkjent som erstatning for den eldre 'DL38'. Den nye titeratoren er godkjent til bruk av akkrediterte analyser for metode 'BIOLAB A 13 Vann i Olje, Karl Fischer'.	
<i>English summary/recommendation:</i> The Karl Fischer Titrator 'DL38' from the producer Metler Toledo has been in use for several years, but it can no longer be repaired because of a lack of spare parts. After av validation with test of accuracy and precision the new Karl Fischer Titrator '915 KF Ti-Touch' from Metrohm is approved as a replacement for the older 'DL38'. The new Titrator is approved for accredited analyses in the method 'BIOLAB A 13 Vann i Olje, Karl Fischer'.	

Innhold

1	Innledning	1
2	Teori	2
2.1	Grad av ekstern validering og verifisering.....	2
2.2	Valideringsplan	2
2.2.1	Riktighet.....	2
2.2.2	Presisjon	2
2.2.3	Måleområde	3
3	Eksperimentelt	4
3.1	Riktighet.....	4
3.2	Presisjon	4
3.3	Måleområde	4
4	Resultat og diskusjon	5
4.1	Riktighet.....	5
4.2	Presisjon	5
4.3	Måleområde	6
5	Konklusjon	7
6	Referanser	8

Vedlegg

1 Innledning

I den akkrediterte metoden 'BIOLAB A 13 Vann i Olje, Karl Fischer' har Karl Fischer titratoren 'DL38' fra leverandøren Metler Toledo blitt benyttet over lengre tid. Dette instrumentet har fått kritiske mangler og er ikke operativt. En mellomløsning har vært å benytte Karl Fischer titratoren '915 KF Ti-Touch' fra leverandøren Metrohm, som ble bestilt og mottatt januar 2019. På grunn av manglende ressurser har ikke dette instrumentet blitt validert og tatt i bruk tidligere, men ble vurdert til å fungere tilfredsstillende for uakkrediterte analyser. Det nye instrumentet har vært tatt i bruk fra og med 27.05.21. Det er ønskelig at dette instrumentet skal valideres for å kunne utgi akkrediterte analyseresultater for A 13 Olje i vann (Karl Fischer).

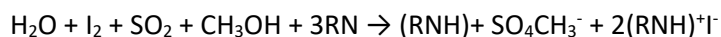
2 Teori

Denne metoden utfører bestemmelse av vanninnholdet i fett og oljer ved hjelp av en to-komponent Karl Fischer reagens (bestående av jod og metanol) som reagerer kvantitativt med vann.

Ved et to-komponent Karl Fischer system brukes følgende reagenser:

- KF-Titrerløsning: Jod, metanol.
- KF-”Solvent” for oljer og fett: Svoveldioksid, imidazol (basisk buffer), metanol, heksan-1-ol.

Vann omdannes støkiometrisk ved tilsats av fritt I₂ under tilstedeværelse av SO₂, metanol og en base:



RN = Base

Reaksjonen følges elektrokjemisk ved måling på elektrodene. Når vannet er titrert vekk, blir fritt I₂ tilstede i løsningen, og det oppstår et spenningsfall som indikerer titreringens endepunkt.

2.1 Grad av ekstern validering og verifisering

Metoden er basert på metodereferansen AOCS Ca 2e-84 som igjen er eksternt validert gjennom en kollaborativ metodeavprøving (Bernetti, 1984).

Ved en validering rundt et nytt instrument vil det i henhold til NMKL Prosedyre nr.4 (2009) i dette tilfellet kun være nødvendig å se på parameterne riktighet, presisjon og eventuelt kvantifiseringsgrense.

2.2 Valideringsplan

Valideringsplanen (vedlegg 1) oppgir hvilke parametere som skal evalueres. Disse parametere er oppgitt i de påfølgende underavsnittene. Den eksperimentelle utførelsen og resultatet er oppgitt i henholdsvis kapittel 3 og 4.

2.2.1 Riktighet

’Riktighet er graden av overenstemmelse mellom en prøves sanne innhold av en bestemt analytt og resultatet av en analyse’ (NMKL 2009).

En prøves sanne innhold er ofte en ukjent størrelse, som igjen er avhengig av hvilken metode som er benyttet ved analyse. Det er vanlig å velge enten en referanseprøve med et sertifisert innhold, en prøve fra en sammenliknende laboratorieprøving (SLP) eller en prøve fra en kollaborativ metodeavprøving.

2.2.2 Presisjon

Presisjon er definert som *’graden av overenstemmelse mellom uavhengige analyseresultater framkommet under spesifikke forhold’* (NMKL, 2009). Begrepet må ikke forveksles med riktighet, som

er nevnt i avsnitt 2.2.1. Presisjonen uttrykkes vanligvis som standardavviket til analyseresultatet. Det er to måter å bestemme presisjonen på:

- **Repeteerbarhet:** Resultatene er framskaffet av å analysere den samme prøven, med det samme utstyret og innenfor et relativt kort tidsrom.
- **Reproduserbarhet:** Resultatene er framskaffet ved å analysere den samme prøven og den samme metoden, men på ulike laboratorier.

Repeteerbarheten uttrykkes ofte som repeterbarhetsgrensen (r), som er et uttrykk for den absolutte differansen mellom to uavhengige analyser med et konfidensintervall oppnådd med like betingelser (ISO, 1994 a). Slike beregninger kalles dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009). r beregnes som vist i formell 2.1:

$$r = f \sqrt{2} S_r \quad (2.1)$$

f er den kritiske utvalgsfaktoren som er avhengig av valg av konfidensintervall. S_r er standardavviket til repeterbarheten (ISO, 1994 b), og beregnes som vist i formel 2.2:

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2}{2n}} \quad (2.2)$$

x_i og y_i er de to målingene fra dobbeltbestemmelsen, og n er antall par av dobbeltbestemmelser (NMKL, 2009). Vanligvis antas det en normal distribusjon og et konfidensintervall på 95%, som gir en verdi $f = 1,96$. r beregnes da som vist i formel 2.3:

$$r = 2,8 S_r \quad (2.3)$$

Reproduserbarheten kan uttrykkes som standardavviket ved enkeltbestemmelser. Dette er et estimat for spredning rundt gjennomsnittet, i motsetning til dobbeltbestemmelse som ser på den gjennomsnittlige variasjonen mellom differansen til to enkeltmålinger.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2.4)$$

\bar{x} er et gjennomsnitt av alle enkeltmålingene:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (2.5)$$

2.2.3 Måleområde

'Måleområdet er det området hvor metoden er validert og gir akseptabel riktighet og presisjon' (NMKL, 2009).

Deteksjonsgrensen (LOD) er definert som den nedre grensen for deteksjon for å fastslå med en viss grad av sikkerhet at analytten er tilstede i prøven. Kvantifiseringsgrensen (LOQ) er definert som den nedre grensen for kvantifisering av analytten i prøven med en viss grad av sikkerhet. I denne valideringen fokuseres det på LOQ.

3 Eksperimentelt

Samtlige analyser ble utført i henhold til metodeprosedyre under BIOLAB A 13 Vann i olje, Karl Fischer. Denne følger igjen metodereferansen AOCS Ca 2e-84.

3.1 Riktighet

De tre ringtestprøvene 2020-6845-01, 2021-1991-01 og 2021-1992-01 ble analysert for å sammenligne resultatene mot ringtesten.

3.2 Presisjon

Den ordinære kontrollprøven (KP, 2018-05846-01) ble analysert repeterende på enkelte dager, samtidig har kontrollprøven blitt analysert under daglige analyser siden 27.05.21. Samtlige av disse resultatene har blitt samlet for å vurdere repeterbarheten og reproduserbarheten.

3.3 Måleområde

Måleområde vurderes ut ifra oppnådd resultat fra reanalyse ringtester. Måleområde for metoden A 13 er fra før oppgitt til å være 0,01 – 5 %.

4 Resultat og diskusjon

4.1 Riktighet

De tre SLP prøvene 2020-6845-01, 2021-1991-01 og 2021-1992-01 ble reanalysert og resultatene ble identiske i forhold til tidligere resultat (akkreditert metode) utført ved BioLab. Se vedlegg 3.

For oppsummering av resultatene se Tabell 1.

Tabell 1 Oppsummering analyser SLP.

Prøve nr. (SLP)	Resultat BioLab % - vann	u_{Nofima}	Resultat BioLab (eldre KF) % - vann	u_{Nofima} (eldre KF)	Middelverdi SLP % - vann	u_{SLP}
2020-6845-01	0,03	0,003	0,03	0,003	0,02	0,01
2021-1991-01	0,11	0,01	0,11	0,01	0,12	0,02
2021-1992-01	0,02	0,002	0,02	0,002	0,01	0,001

På bakgrunn av disse reanalysene anses riktigheten ved bruk av det nye instrumentet som akseptabel.

4.2 Presisjon

Kontrollprøven ble analysert under de gitt metodebetingelsene fra med den nye titeratoren ved 31 tilfeller i tidsrommet 27.05.21 – 06.08.21. Hver gjennomførelse ble utført med totalt 2 paralleller. Se vedlegg 2.

I Tabell 2 vises en oppsummering av resultatet.

Tabell 2 Oppsummering repeterbarhet og reproduserbarhet for kontrollprøve.

Ant.analyser	Gjennomsnitt %vann [%]	S_r	RSD_r [%]	r	S	RSD [%]
31	0,094	0,004	4,17	0,011	0,008	8,35

Metodereferansen AOCS Ca 2e-84 baserer seg på en kolaborativ metodeutprøving (Bernetti, 1984). I denne metodeutprøvingen er det 4 stk prøver som har blitt testet ved 13 stk laboratorium med 2 paralleller per analyse. I denne sammenhengen velges det kun å sammenligne mot den av prøvene som ligger nærmest i nivå og prøvetype (crude soyaolje). En oppsummering av disse resultatene er gitt i Tabell 3.

Tabell 3 Oppsummering repeterbarhet og reproduserbarhet for soyabønne olje fra kolaborativ metodeutprøving.

Ant.analyser	Gjennomsnitt %vann [%]	S_r	RSD_r [%]	S	RSD [%]
13	0,118	0,004	13,42	0,033	28,01

Ved sammenligning mot den kolaborative metodeutprøvingen er analysene av BioLab sin interne kontrollprøve innenfor det som forventes av repeterbarhet og reproduserbarhet for metoden.

4.3 Måleområde

LOQ for metoden ble testet ved reanalyse av ringtest 2021-1992-01, som skal ligge på nivå med LOQ for allerede validert metode ('DL38'). Ved reanalyse ble resultatet identisk med oppnådd resultat på den tidligere modellen 'DL38'. Resultatet var på 0,02 %.

Middelverdien for SLP deltakerne var på 0,01 %, med en U_{SLP} på 0,01. Ved å anta $2xSTD$ så utgjør dette en måleusikkerhet på 100 %.

På bakgrunn av BioLab sine identiske resultater ved reanalyse, det lave nivået på ringtesten og den høye måleusikkerheten oppgitt av ringtestarrangøren så vurderes metoden A 13 som godkjent til å beholde den tidligere LOQ på 0,01 %.

5 Konklusjon

Den nye Karl Fischer titratoren '915 KF Ti-Touch' fra leverandøren Metrohm godkjennes som en erstatning av den eldre Karl Fischer titratoren 'DL38' fra leverandøren Metler Toledo. Den nye titratoren er godkjent til bruk av akkrediterte analyser for metode BIOLA A 13 Vann i Olje, Karl Fischer.

6 Referanser

- Bernetti, R., S.J. Kochan og J.J. Pienkowski, 'Karl Fischer Determination of Water in Oils and Fats: International Collaborative Study', *J.Assoc.Off.Anal.Chem* 67:299 (1984).
- NMKL-Prosedyre NR.4, "Validering av kjemiske analysemetoder", NMKL (Nordisk metodikkomité for næringsmidler), (2009), 46 s.
- Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions (5725-1), ISO (1994 a), International Organization for Standardization, 17 s.
- Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 6:Use in practice of accuracy values (5725-6), International Organization for Standardization, ISO (1994 b), 41 s.
- Moisture, Karl Fischer Methode, AOCS Ca 2e-84.

Vedlegg 1: Valideringsplan

	Analysemetode:	Vann i olje, Karl Fischer		
	Metode nr.:	A 13		
	Metodeansvarlig:	Bjørn Ole Haugsgjerd		
	Metodereferanse:	AOCS Ca 2e-84		
	Målsetning:	Ny Karl Fischer titrator som erstatter den gamle som ikke er operativ. Ingen endringer i prosedyre eller benyttede kjemikalier eller blandinger.		
	Grad av tidligere ekstern validering:	Metoden er basert på metodereferansen AOCS Ca 2e-84 som igjen er eksternt validert gjennom en kollaborativ metodeavprøving. Ifølge NMKL Nr.4 (2009) er det ved erstatning av tilsvarende instrument tilstrekkelig å validere med hensyn på parameterne riktighet, presisjon og kvantifiseringsgrense.		
	Trinn			
1	Riktighet:	<p>Reanalyse av tre tidligere SLP for å kontrollere at de ligger innenfor kravene satt for de individuelle SLP testene.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2020-6845-01 (Marin olje) • 2021-1991-01 (Marin olje) • 2021-1992-01 (Marin olje) 		
2	Presisjon:	<p>Kontrollere presisjonen ved bakgrunn i repeterbarheten.</p> <p>Den interne kontrollprøven (KP, 2018-05846-01) knyttet til olje analysemetodene analyseres med minimum 20 stk repeterende analyser.</p>		
3	Kvantifiseringsgrense:	Kvantifiseringsgrensen vurderes ut ifra oppnådde resultater av reanalyse SLP.		
Punkt	Valideringspunkter	Aktivitet og krav	Utføres av:	Tidsplan:
1	Riktighet	Resultatene av ringtestprøvene skal ligge innenfor kravene for måleusikkerhet (U_{SLP}) til ringtestene.	TOKR	34

2	Presisjon	Resultatet sammenlignes mot kontrollkortet for metoden (evt den kollaborative metodeavprøvingen).	TOKR	33
3	Kvantifiseringsgrense	Kvantifiseringsgrensen vurderes ut ifra oppnådde resultater av reanalyse SLP.	TOKR	34

Skal leses av	Initialer	Dato	Signatur
Leder BioLab:	JWA	12/8-21	

Vedlegg 2: Beregning av repeterbarhet og reproduserbarhet

Beregning av midtlinje og alarm/aksjonsgrenser							
Versjon 1.1 15.06.2017							
Analyse: A13 Olje i vann, Karl Fischer							
Dato		Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff^2	Snitt	Antall, n
28.05.2021	KP43 test	0,0880	0,0750	0,01	0,0002	0,08	1
28.05.2021	KP43 test	0,1000	0,0860	0,01	0,0002	0,09	2
28.05.2021	KP43 test	0,0760	0,0740	0,00	0,0000	0,08	3
28.05.2021	KP43 test	0,0780	0,0770	0,00	0,0000	0,08	5
28.05.2021	KP43 test	0,0900	0,0950	-0,01	0,0000	0,09	6
28.05.2021	KP43 test	0,0940	0,0900	0,00	0,0000	0,09	7
28.05.2021	KP43 test	0,0890	0,0930	0,00	0,0000	0,09	8
01.06.2021	KP44	0,1050	0,1020	0,00	0,0000	0,10	9
01.06.2021	KP44	0,0920	0,0960	0,00	0,0000	0,09	10
01.06.2021	KP44	0,0990	0,0930	0,01	0,0000	0,10	11
01.06.2021	KP44	0,0920	0,0900	0,00	0,0000	0,09	12
01.06.2021	KP44	0,0940	0,0940	0,00	0,0000	0,09	13
01.06.2021	KP44	0,0960	0,0960	0,00	0,0000	0,10	14
01.06.2021	kp44	0,105	0,102	0,00	0,0000	0,10	15
02.06.2021	kp45	0,094	0,105	-0,01	0,0001	0,10	16
07.06.2021	kp46	0,091	0,093	0,00	0,0000	0,09	17
10.06.2021	kp47	0,094	0,095	0,00	0,0000	0,09	18
15.06.2021	kp48	0,087	0,086	0,00	0,0000	0,09	19
17.06.2021	kp49	0,098	0,1	0,00	0,0000	0,10	20
23.06.2021	kp50	0,087	0,088	0,00	0,0000	0,09	21
28.06.2021	kp51	0,098	0,099	0,00	0,0000	0,10	22
01.07.2021	kp52	0,082	0,09	-0,01	0,0001	0,09	23
13.07.2021	kp55	0,101	0,103	0,00	0,0000	0,10	24
16.07.2021	kp57	0,09	0,097	-0,01	0,0000	0,09	25
20.07.2021	kp58	0,093	0,09	0,00	0,0000	0,09	26
23.07.2021	kp59	0,089	0,085	0,00	0,0000	0,09	27
26.07.2021	kp60	0,101	0,099	0,00	0,0000	0,10	28
27.07.2021	kp60	0,106	0,097	0,01	0,0001	0,10	29
03.08.2021	kp61	0,111	0,103	0,01	0,0001	0,11	30
06.08.2021	kp62	0,11	0,107	0,00	0,0000	0,11	31
06.08.2021	kp62	0,099	0,095	0,00	0,0000	0,10	32
							33
n=	31	SUM D^2=	0,001	Snitt=	0,09		
Reproduserbarhet		RSD%		Repeterbarhet		RSD%	
Gjennomsnitt:	0,09			Sr = ROT(SUM(D*D)/2K)	0,0039	4,17	
Standardavvik:	0,0078	8,35		r = 2.8 * Sr	0,0111	11,79	
Alarmgrenser:	0,0111	11,81					
Aksjonsgrenser:	0,0166	17,71		Differanse			
+3s	0,1106			Alarmgrenser +/-:	0,0111	11,79	
+2s	0,1050			Aksjonsgrenser +/-:	0,0166	17,68	
Midtlinje	0,0939						
+2s	0,0828						
+3s	0,0773						
Beregning utført (dato/sign.):							
Filnavn:	W:\Avdelingen\Alab\Validerte Regneark\Beregning av midtlinje og alarmgrenser						

