

\*Andrzej GREGORCZYK<sup>1</sup>, Maria Katarzyna SWARCEWICZ<sup>2</sup>

## OCENA NIEPEWNOŚCI OBLICZENIA CZASU PÓŁTRWANIA HERBICYDU W GLEBIE

## ASSESSMENT OF UNCERTAINTY CALCULATIONS OF HERBICIDE HALF-LIFE IN SOIL

<sup>1</sup>Katedra Agronomii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie  
ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin

<sup>2</sup>Zakład Syntezy Organicznej i Technologii Leków, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny  
w Szczecinie, al. Piastów 42, 71-065 Szczecin

**Abstract.** The object of this study was the kinetics of disappearance of linuron in soil, under laboratory conditions. Compared two methods of indirect determination of half life time and estimation accuracy of the calculations. These were the analytical method (for example, a simple first-order reaction model) and the graphical method (assuming a linear decay of the active substance). According to the current international standards assume that a measure of uncertainty of measurement was the double value of standard deviation. Calculated expanded uncertainty of measurement of the absolute half period and the relative uncertainty. Depending on the method used was different, but similar half-life values (36.1 and 37.3 days). It was found that the analytical method was more accurate (relative uncertainty 3.0%) than the graphics (uncertainty 4.8%).

**Słowa kluczowe:** czas półtrwania, interpolacja liniowa, linuron, model reakcji I rzędu, niepewność pomiaru.

**Key words:** half-life time, linear interpolation, linuron, simple first-order kinetics model, uncertainty of measure.

### WSTĘP

Kluczową wielkością w badaniu procesów degradacji pestycydów w środowisku jest czas, po którym aktualne stężenie herbicydu zmniejszy się do połowy początkowej wartości (Beulke i Brown 2001, FOCUS 2006). Jest to tzw. czas połowicznego zaniku, czas półtrwania, półokres  $T_{0,5}$ .

Istotnym zagadnieniem jest też oszacowanie niepewności (błędu) wartości  $T_{0,5}$ , ponieważ każdy taki wynik powinien być podawany wraz z jego niepewnością wyznaczenia. Ogólnie niepewność pomiaru jest to parametr związany z wynikiem oznaczenia, charakteryzujący rozrzut wartości, które można w uzasadniony sposób przypisać wartości mierzonej. Według obowiązujących obecnie norm międzynarodowych (Guide ISO 1995, Szydłowski 2000) przyjmuje się, że parametrem takim jest odchylenie standardowe lub jego wielokrotność. Niepewność (*uncertainty*) wielkości  $x$  oznaczana jest symbolem  $u(x)$ , zaś niepewność względna  $u_r(x)$ .

---

\*Adres do korespondencji – Corresponding author: prof. dr hab. Andrzej Gregorczyk, Katedra Agronomii, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, ul. Papieża Pawła VI nr 3, 71-459 Szczecin, e-mail: andrzej.gregorczyk@zut.edu.pl

W zależności od rodzaju pomiaru (bezpośredni czy pośredni) zróżnicowane są metody obliczania popełnianej niepewności. Celem pracy było porównanie dwóch metod wyznaczenia wartości czasu połowicznego zaniku i szacowania dokładności jego obliczenia. Była to metoda analityczna (na przykładzie prostego modelu reakcji pierwszego rzędu) oraz metoda graficzna (przy założeniu liniowego rozpadu substancji czynnej).

Rozkład związku organicznego na drodze chemicznej czy biochemicznej często można wyrazić kinetyką reakcji pierwszego rzędu (kiedy szybkość degradacji jest w przybliżeniu proporcjonalna do stężenia). Jest to model kinetyczny SFO (simple first-order kinetics), przedstawiony równaniem:

$$-dC/dt = kC \quad (1)$$

gdzie:

C – stężenie substancji czynnej, t – czas (w dniach), k – stała szybkości reakcji (FOCUS 2006).

Forma całkowa równania (1) daje malejącą wykładniczą funkcję postaci:

$$C(t) = C_0 \exp(-kt) \quad (2)$$

gdzie:

$C_0$  – stężenie początkowe,  $C_0 = C(0)$ .

Równanie (2) można linearyzować za pomocą transformacji logarytmicznej:

$$\ln C(t) = \ln C_0 - kt \quad (3)$$

W przypadku modelu SFO, czas półtrwania łatwo obliczyć – na podstawie równania (3) – z teoretycznego wzoru:

$$T_{0,5} = \frac{\ln 2}{k} \quad (4)$$

## MATERIAŁ I METODY

Obiektem badań laboratoryjnych był linuron, herbicyd z grupy fenyloamocynowych, w postaci preparatu handlowego Linurex 500 S.C. (Makhteshim Agan Industries Ltd). W doświadczeniu użyto gleby lekkiej, pochodzącej z Lipnika koło Stargardu Szczecińskiego. Gleba ta zawierała 72% piasku, 16% iltu, 12% gliny, 1,7% materii organicznej, pH wynosiło 6,4, a wymienione cechy charakteryzowały poziom 0–10 cm.

Badaniu poddano porcję 450 g gleby w roztworze wodnym. Początkowa koncentracja linuronu była równa  $2,0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . Próby przechowywano w stałych warunkach wilgotności 60% mpw gleby i temperaturze  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ . Pomiary stężenia linuronu w glebie wykonano w dniu rozpoczęcia doświadczenia i po 10, 20, 30, 40, 70, 90 dniach od aplikacji, w trzech powtórzeniach. Substancję aktywną oznaczano metodą chromatografii cieczowej (HPLC), używając chromatografu Waters 600E z detektorem UV i kolumną Waters Nova Pack C18. Dane pierwotne koncentracji linuronu w glebie zostały zestawione w tabeli 1.

Oceny parametrów równania (2) znaleziono, wykorzystując procedurę estymacji liniowej, gdzie funkcją straty jest minimum sumy najmniejszych kwadratów. Parametry funkcji degradacji (3) weryfikowano testem t-Studenta na poziomie istotności  $\alpha = 0,01$ . Za miarę zgodności dopasowania krzywych estymowanych do danych doświadczalnych przyjęto współczynnik determinacji  $R^2$ . Obliczenia wykonano, wykorzystując pakiet komputerowy Statistica® wer. 9.1.

Tabela 1. Stężenie linuronu w glebie  
Table 1. Linuron concentration in soil

Pomiar Measurement	Dni od aplikacji Days after treatment	Stężenie Concentration (mg · kg <sup>-1</sup> )
1	0	2,015
2	1	1,952
3	1	1,976
4	1	1,963
5	10	1,725
6	10	1,731
7	10	1,773
8	20	1,303
9	20	1,375
10	20	1,401
11	30	1,136
12	30	1,154
13	30	1,200
14	40	0,922
15	40	0,941
16	40	0,987
17	70	0,522
18	70	0,541
19	70	0,587
20	90	0,373
21	90	0,351
22	90	0,344

## WYNIKI

### Metoda analityczna

Współczynniki modelu matematycznego SFO znaleziono po uprzedniej linearyzacji równania (2) za pomocą transformacji logarytmicznej. Wartości estymatorów  $k$  (0,0192) i  $\ln C_0$  (0,716) parametrów funkcji (3) zostały obliczone z wygenerowaniem przez program komputerowy także ich niepewności standardowych  $u(x)$ , czyli odchyłeń standardowych średniej. Wartość współczynnika determinacji wyniosła  $R^2 = 0,995$ .

Wartość  $T_{0,5}$  musiała być obliczona jako pomiar pośredni ze wzoru (4), a za miarę dokładności tego oszacowania przyjęto powszechnie stosowany przedział ufności dla średniej. Średnia wartość półokresu to  $T_{0,5} = 36,1$  d, współczynnik  $k = 19,2 \cdot 10^{-3} \text{ d}^{-1}$ , a jego błąd standardowy  $SE = 2,84 \cdot 10^{-4} \text{ d}^{-1}$ , zwany obecnie niepewnością standardową średniej arytmetycznej  $u(k)$ .

Długość półprzedziału ufności – nazywana teraz niepewnością rozszerzoną – estymatora  $k$ , obliczono na podstawie formuły:

$$\Delta k = U(k) = 2u(k), \quad (5)$$

w której przyjęto tzw. współczynnik rozszerzenia równy 2.

W obliczeniach własnych otrzymano:

$$\Delta k = U(k) = 2u(k) = 2 \cdot 2,84 \cdot 10^{-4} = 5,68 \cdot 10^{-4} \approx 0,6 \cdot 10^{-3},$$

$$\text{stad } k = (19,2 \pm 0,6) 10^{-3}, \text{ czyli } 18,6 \cdot 10^{-3} < k < 19,8 \cdot 10^{-3}.$$

Wtedy rozszerzony przedział ufności dla wartości średniej  $T_{0,5}$  można zapisać jako:

$$\frac{\ln 2}{19,8 \cdot 10^{-3}} < T_{0,5} < \frac{\ln 2}{18,6 \cdot 10^{-3}} \quad \text{lub} \quad 35,0 < T_{0,5} < 37,2$$

Wobec powyższego niepewność obliczenia okresu półtrwania wynosi:

$$U(T_{0,5}) = \Delta T_{0,5} = (37,2 - 35,0)/2 = 1,1$$

$$\text{stad } T_{0,5} \pm \Delta T_{0,5} = 36,1 \pm 1,1.$$

Niepewność względna (w %) jest równa:

$$u_r = \frac{\Delta T_{0,5}}{T_{0,5}} 100\% = \frac{1,1}{36,1} 100\% = 3,0 \%$$

Inną metodą obliczania niepewności wielkości złożonej, tj. wyznaczonej w sposób pośredni, jest wykorzystanie prawa propagacji niepewności standardowych poszczególnych składników (Bulska 2008) dla zależności funkcyjnej  $y = f(x_1, x_2, \dots, x_i, \dots, x_n)$

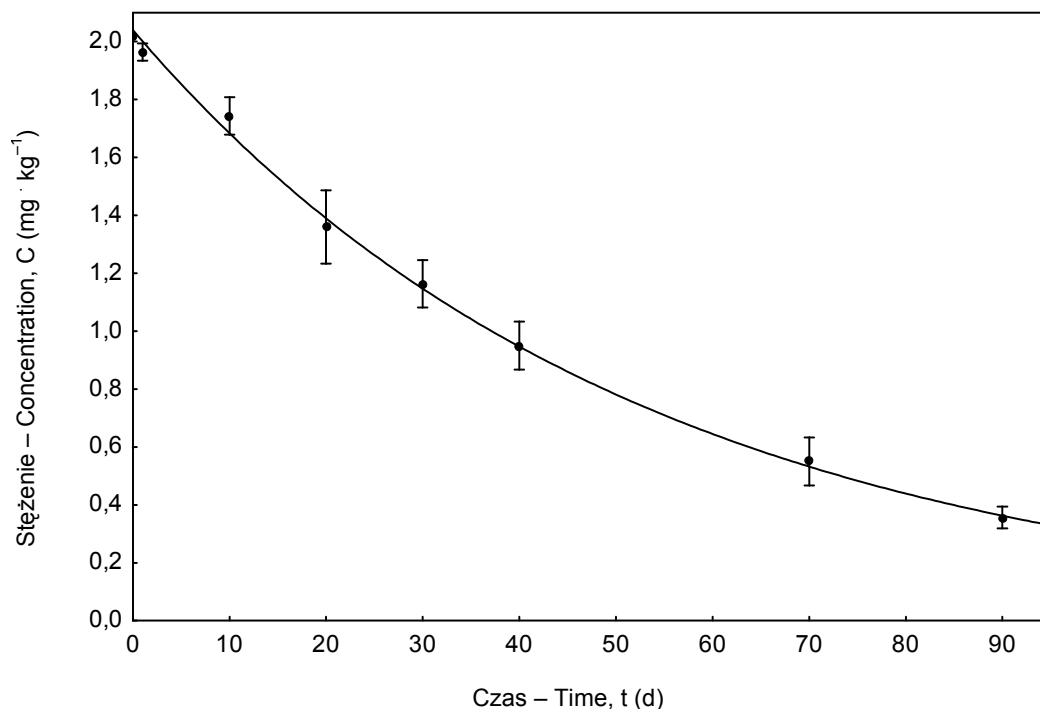
$$U(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left( \frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 U^2(x_i)} \quad (6)$$

W analizowanym przypadku, gdy  $\Delta T_{0,5} = f(k)$ , można ją sprowadzić do równania:

$$U(T_{0,5}) = \Delta T_{0,5} = \left| \frac{\partial(T_{0,5})}{\partial k} \right| \Delta k = \left| \frac{\partial(\ln 2/k)}{\partial k} \right| \Delta k = \frac{\ln 2}{k^2} \Delta k \quad (7)$$

Po uwzględnieniu, że  $\Delta k = 5,68 \cdot 10^{-4}$  i podstawieniu danych do równania (7) otrzymuje się  $\Delta T_{0,5} = \frac{\ln 2}{0,0192^2} 5,68 \cdot 10^{-4} = 1,07$ , a więc wartość zbliżoną do otrzymanej wcześniej innym, prostszym sposobem.

Krzywą degradacji linuronu o równaniu  $C(t) = 2,04 \exp(-0,0192 \cdot t)$  przedstawiono – na tle punktów doświadczalnych – na rysunku 1.

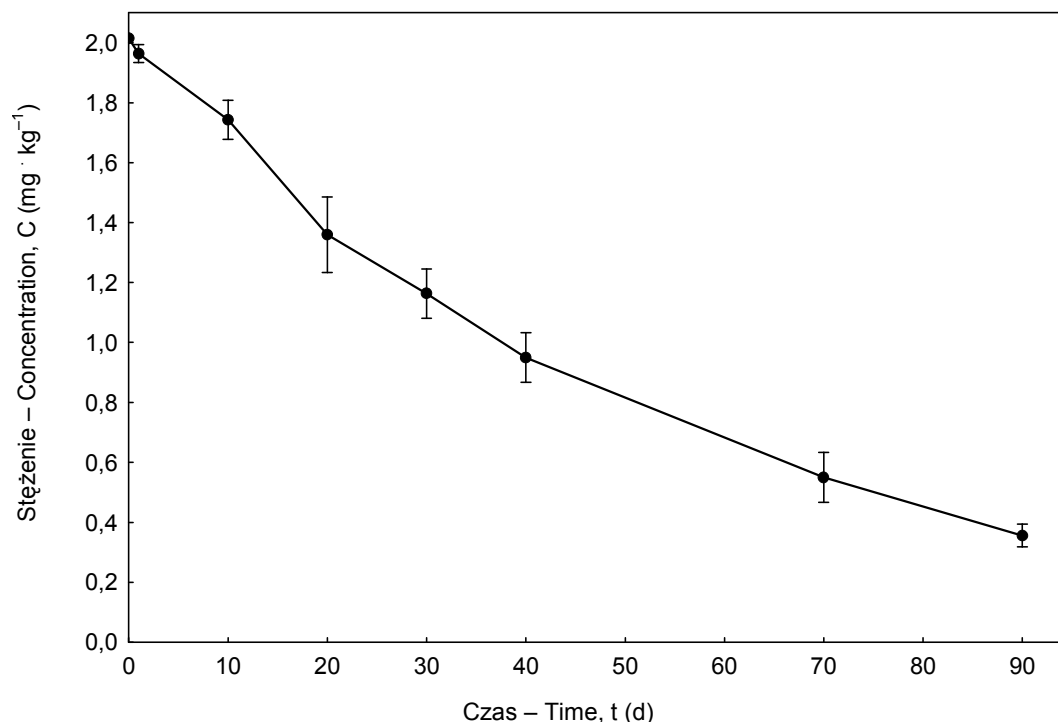


Pionowe słupki reprezentują średnie z trzech replikacji i 95-procentowe przedziały ufności.  
Verticals bars represent the means of three replications and 95% confidence intervals.

Rys. 1. Krzywe kinetyczne zanikania linuronu w glebie według modelu SFO  
Fig. 1. Kinetic curves of linuron degradation in soil according to the SFO model

### Metoda graficzna

Najprostszym sposobem opisu procesów degradacji substancji w czasie jest założenie o liniowości tego zjawiska w każdym etapie badań i przedstawienie ich na wykresie w postaci linii łamanej (rys. 2).



Pionowe słupki reprezentują średnie z trzech replikacji i 95-procentowe przedziały ufności.  
Verticals bars represent the means of three replications and 95% confidence intervals.

Rys. 2. Degradacja linuronu w glebie  
Fig. 2. Degradation of linuron in soil

Wówczas jedynym sposobem oszacowania czasu półtrwania  $T_{0,5}$  jest metoda graficzna. Polega ona na znalezieniu przedziału dwóch pomiarów koncentracji  $[C(t_n) ; C(t_{n+1})]$ , który obejmuje połowę wartości początkowego stężenia substancji ( $0,5 C_0$ )

$$C(t_n) > 0,5 C_0 > C(t_{n+1})$$

oraz

$$t_n < T_{0,5} < t_{n+1},$$

gdzie  $n$  oznacza kolejny numer pomiaru stężenia.

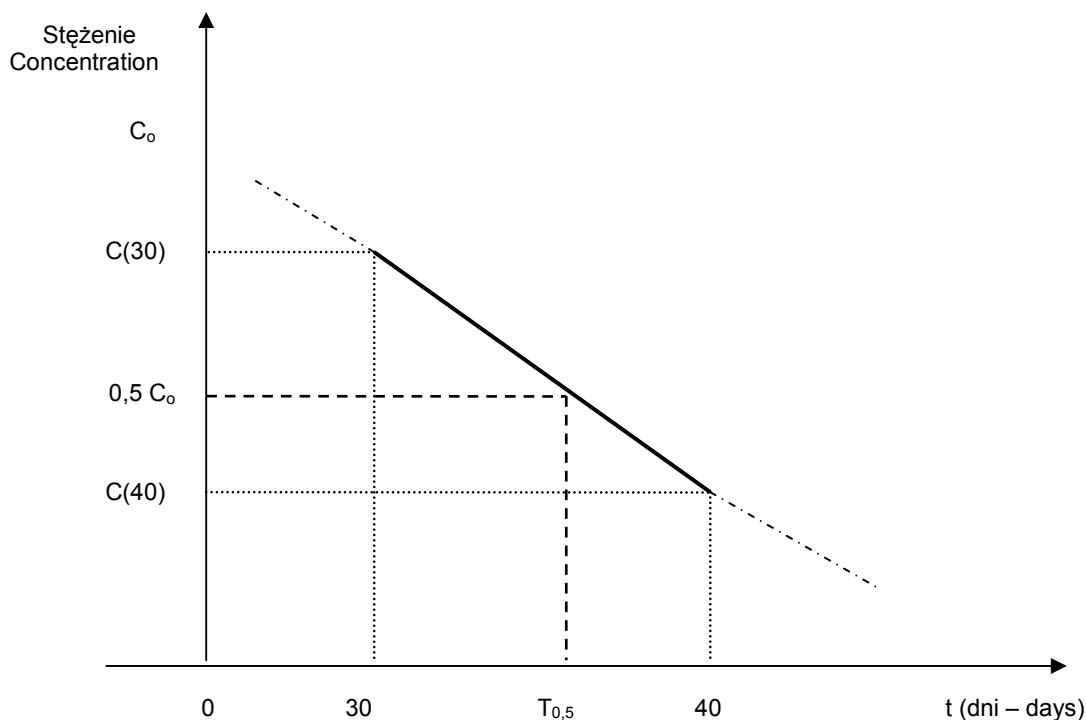
Stosując metodę interpolacji liniowej otrzymuje się równość:

$$\frac{C(t_n) - 0,5C_0}{T_{0,5} - t_n} = \frac{C(t_n) - C(t_{n+1})}{t_{n+1} - t_n} \quad (8)$$

Wtedy po przekształceniach:

$$T_{0,5} = t_n + \frac{C(t_n) - 0,5C_0}{C(t_n) - C(t_{n+1})} (t_{n+1} - t_n) \quad (9)$$

W badaniach własnych początkowe stężenie herbicydu ( $C_0 = 2,015 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) zmniejszyło się do połowy między  $t_n = 30$ . a  $t_{n+1} = 40$ . dniem eksperymentu – rysunek 3.



Rys. 3. Metoda interpolacji liniowej wyznaczania czasu półtrwania  
 Fig. 3. Linear interpolation method of half-life time determination

Stąd

$$T_{0,5} = 30 + \frac{C(30) - 0,5C_0}{C(30) - C(40)} (40 - 30). \quad (10)$$

Wartość średnia stężenia dla  $t = 30$  – z trzech powtórzeń –  $C(30)$  jest równa 1,163, a jej niepewność standardowa  $u = 0,0191$ . Dla  $t = 40$  wartości te wynoszą odpowiednio  $C(40) = 0,950$  i  $u = 0,0193$ . Ze wzoru (9) wyliczono wartość średnią okresu półtrwania  $T_{0,5} = 37,3$ .

Zakładając współczynnik rozszerzenia równy 2, przedziały ufności dla średnich stężeń na końcach wyróżnionego etapu degradacji linuronu wynoszą:  $1,12 < C(30) < 1,20$  oraz  $0,91 < C(40) < 0,98$ .

Znając końce przedziałów ufności, obliczono – ze wzoru (9) – wartości  $T_{0,5}$ : minimalną 35,5 i maksymalną 39,1. Różnice między średnią a wartościami ekstremalnymi wynoszą  $\Delta T_{0,5} (\text{min.}) = 1,77$  i  $\Delta T_{0,5} (\text{max.}) = 1,84$ . Ostatecznie jako niepewność oszacowania  $\Delta T_{0,5}$  należy przyjąć większą z tych różnic i zapisać po zaokrągleniu  $T_{0,5} \pm \Delta T_{0,5} = 37,3 \pm 1,8$ ; wtedy niepewność względna (w %) jest równa:

$$u_r = \frac{\Delta T_{0,5}}{T_{0,5}} 100\% = \frac{1,8}{37,3} 100\% = 4,8\%.$$

## DYSKUSJA

W ostatnich latach zaczęto przywiązywać dużą wagę do procesu szacowania niepewności (błędów) pomiarowych, co skutkowało nowym ujęciem tego zagadnienia, łącznie z częściową zmianą terminologii (Guide ISO 1995). Wielkości pomiarowe jako

zmienne losowe podlegają prawom statystyki matematycznej, według których wartość oczekiwana badanej cechy jest równa wartości prawdziwej z określonym prawdopodobieństwem. Każdy wynik pomiaru powinien być podawany wraz jego niepewnością oznaczenia, ponieważ tylko wtedy jest wiarygodny.

W pogłębionych badaniach kinetyki rozpadu pestycydów w glebie większą wagę przywiązuje się do metod symulacyjnych niż do estymacji pomiarów (Dubus i in. 2002, Beulke i in. 2006). W niniejszej, metodycznej pracy jako przykład obliczeń wybrano ważny, m.in. z punktu widzenia ochrony środowiska, czas półtrwania linuronu w glebie, który można oszacować tylko w sposób pośredni. W tym celu dokonano porównania dwóch różnych metod: analitycznej i graficznej. Obliczanie wartości półokresu  $T_{0,5}$  metodami analitycznymi, na podstawie równań modeli kinetycznych rozpadu herbicydu w środowisku, jest często spotykanym rozwiązaniem tego problemu (Beulke i Brown 2001, Swarczewicz i Gregorczyk 2012). Celem zwiększenia wiarygodności oznaczenia  $T_{0,5}$  obliczono tzw. niepewność rozszerzoną. Jest to określony liczbowy przedział, w którym znajduje się wynik pomiaru z większym prawdopodobieństwem niż w przypadku niepewności standardowej. Niepewności pomiarowe mają z reguły rozkłady zbliżone do normalnego (Bulska 2008). W pracy przyjęto powyższe założenie oraz uwzględniono podwójną wartość niepewności standardowej, otrzymując w ten sposób przedział o poziomie ufności około 0,95 (95%), który szczególnie odpowiada dużej liczbie stopni swobody i jest ogólnie akceptowany przez badaczy (Gregorczyk 1996).

Drugą, zastosowaną metodą wyznaczenia czasu półtrwania i oszacowania jego dokładności obliczenia była metoda graficzna (Kucharski i Sadowski 2009a, 2009b). Proces degradacji herbicydu w glebie przedstawia się w postaci krzywej łamanej, a następnie metodą interpolacji liniowej znajduje się wartość czasu, w którym stężenie substancji aktywnej zmniejsza się do połowy. Porównanie obu zastosowanych w pracy metod zawiera tabela 2.

Tabela 2. Porównanie współczynników funkcji degradacji i czasu półtrwania linuronu  
Table 2. Comparison of degradation function coefficients and half-life time of linuron

Metoda Method	$C_0$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$u(C_0)$ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	$k$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$u(k)$ ( $\text{d}^{-1}$ )	$T_{0,5} \pm \Delta T_{0,5}$ $DT50 \pm \Delta DT50$ (d)	$u_r$ (%)	$R^2$
Analityczna Analytical	2,04	0,028	$1,92 \cdot 10^{-2}$	$0,0284 \cdot 10^{-2}$	$36,1 \pm 1,1$	3,0	0,995
Graficzna Graphical	2,015	—	—	—	$37,3 \pm 1,8$	4,8	—

$C_0$  – stężenie początkowe – initial concentration;  $k$  – stała szybkości reakcji – reaction rate constant;  $T_{0,5}$  – czas półtrwania,  $DT50$  – half – life time;  $\pm \Delta T_{0,5}$  – niepewność rozszerzona,  $\pm \Delta DT50$  – extended uncertainty;  $u_r$  – niepewność względna – relative uncertainty.

$R^2$  – współczynnik determinacji – determination coefficient.

Wartości czasu półtrwania  $T_{0,5}$  są zbliżone, lecz dokładniejszą metodą okazała się metoda analityczna w porównaniu z metodą graficzną. Świadczą o tym wartości względnych procentowych niepewności (odpowiednio 3,0 i 4,8%). Ponadto w metodzie analitycznej można wyznaczyć stałą szybkości reakcji  $k$  i jej niepewność standardową  $u(k)$  oraz wartość współczynnika determinacji  $R^2$ . Należy także pamiętać, że większość zjawisk obserwowanych w przyrodzie jest opisywana funkcjami gładkimi (różniczkowalnymi) i z tego względu nie powinno się łączyć punktów pomiarowych krzywą łamaną. Zaletą metody graficznej jest jej prostota oraz otrzymanie wyników zbliżonych do rezultatów uzyskanymi innymi metodami.

Niekiedy obliczenie wartości półokresu metodami analitycznymi jest niewykonalne, np. w dwueksponencyjnym modelu rozpadu herbicydu. Wówczas jedynym sposobem są procedury numeryczne (Gregorczyk i Swarczewicz 2012).

## PIŚMIENNICTWO

- Bulska E.** 2008. Metrologia chemiczna. MALMUT. Warszawa.
- Beulke S., Brown C.D.** 2001. Evaluation of methods to derive pesticide degradation parameters for regulatory modelling. *Biol. Fertil. Soils* 33, 558–564.
- Beulke S., Brown C.D., Dubus I.G.** 2006. User subjectivity in Monte Carlo modeling of pesticide exposure. *Environ. Toxicol. Chem.* 25 (8), 2227–2236.
- Dubus I.G., Brown C.D., Beulke S., Turner N.L.** 2002. Uncertainty and probabilistic approaches to pesticide fate modelling. Cranfield Centre for Ecochemistry research report for DEFRA PL0548, Cranfield University, Silsoe, UK.
- FOCUS.** 2006. Guidance document on estimating persistence and degradation kinetics from environmental fate studies on pesticides in EU registration. Report of the FOCUS Work Group on Degradation Kinetics, EC Document Reference Sanco/10058/2005, Version 1.0. European Commission, Brussels.
- Guide to the expression of uncertainty in measurement.** 1995. ISO. Genewa.
- Gregorczyk A.** 1996. Error estimation in plant growth analysis. *Acta Soc. Bot. Pol.* 65 (3–4), 207–212.
- Gregorczyk A., Swarczewicz M.** 2012. Model dwueksponencyjny i jego zastosowanie do opisu degradacji herbicydów w glebie. *Pol. J. Agr.* 8, 9–14.
- Kucharski M., Sadowski J.** 2009a. Influence of adjuvants on behavior of phenmedipham in plant and soil. *Pol. J. Agr.* 1, 32–36.
- Kucharski M., Sadowski J.** 2009b. Degradation of ethofumesate in soil under laboratory conditions. *Pol. J. Environ. Stud.* 18 (2), 243–247.
- Swarczewicz M., Gregorczyk A.** 2012. The effects of pesticide mixtures on degradation of pendimethalin in soils. *Environ. Monit. Assess.* 184 (5), 3077–3084.
- Szydłowski H.** 2000. Międzynarodowe normy oceny niepewności pomiarowych. *Postępy Fiz.* 51 (2), 92–97.