Zeitschrift: Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchungen und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 95 (2004)

Heft: 3

Artikel: Leitfaden zur Validierung chemisch-physikalischer Prüfverfahren und zur Abschätzung der Messunsicherheit

Autor: Albrecht, B. / Luginbühl, W. / Balsiger, C.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-981824

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 11.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Leitfaden zur Validierung chemisch-physikalischer Prüfverfahren und zur Abschätzung der Messunsicherheit

[1]B. Albrecht, [1]W. Luginbühl, [2]C. Balsiger, [3]R. Bögli, [4]U.P. Buxtorf, [5]F. Bühler, [6]H. Emch, [6]P. Roos, [7]A. Jakob, [8]G. Gremaud, [9]Ph. Hübner, [10]M. Schurter, [11]L. Spack, [12]P. Wenk, [13]M. Wolfensberger

[1] Eidg. Forschungsanstalt für Nutztiere und Milchwirtschaft, 3003 Berne
[2] AWEL, Amt für Abfall, Wasser, Energie und Luft, 8005 Zürich
[3] laboratoire central COOP, 4133 Pratteln
[4] laboratoire cantonal de Bâle-Ville, 4012 Bâle
[5] BMG Engineering AG, 8952 Schlieren
[6] METAS, 3003 Berne
[7] laboratoire de Spiez, groupement de l'armement, 3700 Spiez
[8] Office fédéral de la santé publique, 3003 Berne
[9] laboratoire cantonal de Bâle-Ville, 4012 Bâle
[10] BACHEMA AG, 8952 Schlieren
[11] NESTEC SA, 1000 Lausanne 26
[12] laboratoire cantonal de Bâle-Campagne, 4410 Liestal
[13] LFEM, 8600 Dübendorf

Eingegangen 30. März 2004, angenommen 30. April 2004

Vorwort

Der Text dieser Richtlinie wurde von Mitgliedern einer Expertengruppe des Bundes, des Kantonalen Vollzugs und der Privatwirtschaft erarbeitet, welche unter der Leitung von BAG (Bundesamt für Gesundheit) und METAS (Bundesamt für Metrologie und Akkreditierung) arbeitete. Er basiert auf der ISO-Norm 17025 (1), dem «Guide to the expression of uncertainty in measurement» (GUM) (2), dem Eurachem/CITAC Leitfaden (3) und weiterer Literatur (4–16).

Inhaltsverzeichnis

1	**Einleitung**	201
2	**Validierung**	201
2.1	Vorbemerkungen	201
2.2	Validierungskriterien	203
2.3	Anwendungsbereich	203
2.4	Selektivität/Spezifität	203
2.5	Kalibrierfunktion	204
2.6	Präzision	204
2.6.1	Wiederholpräzision	204
2.6.2	Laborpräzision	205
2.7	Richtigkeit	205
2.7.1	Bestimmung mit einem Referenzmaterial	205
2.7.2	Bestimmung mit einer Zweitmethode	206
2.7.3	Bestimmung über Aufdotierung	206
2.8	Entscheidungsgrenze *(CCα)*	206
2.8.1	Bestimmung ohne Festlegung eines zulässigen Höchstwerts	207
2.8.2	Bestimmung bei Festlegung eines zulässigen Höchstwerts	207
2.8.3	Bestimmung bei qualitativen Tests	207
2.9	Bestimmungsgrenze	207
2.10	Robustheit	208
3	**Messunsicherheit**	208
3.1	Abschätzung der Messunsicherheit durch statistische Auswertung von experimentellen Daten	208
3.1.1	Vorgehen	209
3.1.2	Spezifizierung der Messgrösse	209
3.1.3	Identifizierung der Unsicherheitsquellen	209
3.1.4	Quantifizierung des Beitrags der Präzision zur Messunsicherheit	209
3.1.5	Quantifizierung des Beitrags der Richtigkeit zur Messunsicherheit	209
3.1.6	Quantifizierung des Beitrags anderer Quellen zur Messunsicherheit	210
3.2	Abschätzung der Messunsicherheit auf Grund der Unsicherheitsquellen der einzelnen Analysenschritte	210
3.2.1	Vorgehen	210
3.3	Weitere Verfahren zur Ermittlung der Messunsicherheit	210
3.4	Berechnung der kombinierten Messunsicherheit u_c	211
3.5	Berechnung und Angabe der erweiterten Messunsicherheit $U(y)$	211
	Literatur	212
Anhang 1 – Gleichungen zur Abschätzung der Messunsicherheit (aus VAM(26))		215
Anhang 2 – Beispiele zur Bestimmung der Messunsicherheit		218
Anhang 3 – graphische Darstellung der Entscheidungsgrenze		219
Anhang 4 – Definitionen aus Normen		220

1 Einleitung

Jeder experimentell erzeugte Messwert ist mit Unsicherheiten behaftet, welche der Aussagekraft jeder Methode Grenzen setzen. Die Validierung untersucht und charakterisiert Prüfverfahren auf diese Leistungsgrenzen. Sie belegt, dass ein Prüfverfahren sich unter Berücksichtigung der Unsicherheiten für die Erfüllung einer bestimmten Aufgabe eignet.

Dieser Leitfaden beschreibt ein Vorgehen zur Validierung und Abschätzung der Messunsicherheit von chemisch-physikalischen Prüfverfahren durch ein Einzellabor.

Chemisch-physikalische Prüfprozesse bestehen in der Regel aus folgenden 6 Schritten:

Probenahme	
Transport/Lagerung	Präanalytischer Teil
Probenvorbereitung (z.B. homogenisieren)	
Probenaufbereitung (z.B. extrahieren)	
Messung	Analytischer Teil
Auswertung	

Ziel des präanalytischen Teils ist es, das zu untersuchende Probenmaterial so zu entnehmen, zu lagern und zu bearbeiten, dass der Gehalt der Probe an der zu bestimmenden Substanz unverändert bleibt und das zu entnehmende Aliquot repräsentativ für die Gesamtheit des zu untersuchenden Materials ist. Dieser präanalytische Teil ist schwierig quantitativ zu erfassen und die Unsicherheit bei der Probenahme ist in den wenigsten Fällen vernachlässigbar klein.

Der vorliegende Leitfaden behandelt den analytischen Teil; für die Aspekte des präanalytischen Teils wird auf die Literatur verwiesen (17–22).

Im Anhang 4 sind für alle wichtigen Begriffe die Definitionen aus Normen zusammengestellt. Erläuterungen von einzelnen Begriffen finden sich im Text bei den entsprechenden Kapiteln.

2 Validierung

Die Validierung ist gemäss ISO/IEC 17025 (1) *«die Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden».*

2.1 Vorbemerkungen

Das Ziel der Validierung von Prüfverfahren ist, nachvollziehbar den Nachweis zu erbringen, dass mit einem Prüfverfahren die vorgegebene, spezifische Prüfaufgabe erfüllt werden kann. Bei chemischen Prüfverfahren steht die Erkennung und Vermeidung systematischer Fehler (Richtigkeit) und die Präzision der Messergebnisse (Ergebnisunsicherheiten) im Vordergrund. Zusätzlich sind Aussagen über die Robustheit gegenüber äusseren Einflüssen und die Querempfindlichkeit bedingt

durch Matrixstörungen sowie den Einfluss verschiedener Laborbedingungen (Laborpräzision) erforderlich.

Eine Validierung ist kein einmaliger und danach abgeschlossener Vorgang. Während der Verwendung einer Methode erhöht sich die Zahl der untersuchten Proben. Mit zunehmender Erfahrung verringert sich oft der Schwankungsbereich der Resultate, der Vertrauensbereich auf Regelkarten und die Messunsicherheit. Der beschriebene Validierungsaufwand erfüllt die Minimalanforderungen für die Akkreditierung. Je grösser die Folgen eines Ergebnisses sind, desto grösser muss der Aufwand für die Absicherung sein.

Die Auswahl der Matrices und der Umfang der Validierung (Anzahl Proben, Aufwand für die einzelnen Validierungskriterien) richten sich deshalb nach dem Untersuchungsziel. Eine Validierung sollte die typischen Matrices umfassen und eine möglichst genaue Aussage über das gewünschte Untersuchungsziel (z.B. die Einhaltung einer Spezifikation) machen. Wird das Untersuchungsziel geändert (z.B. andere Matrices, neue Spezifikationen) ist die Validierung zu ergänzen.

Die Validierung darf nur mit homogenen Proben durchgeführt werden. Die Homogenität ist beispielsweise durch eine Prüfung auf Normalverteilung bei der Präzisionsbestimmung zu verifizieren.

Die laborinterne Einführung bereits bestehender, anderweitig validierter Methoden kann fallweise mit einem vereinfachten Validierungsverfahren durchgeführt werden. Dies bedingt jedoch eine entsprechende Erfahrung des Laborpersonals. Auch wenn genormte Prüfanweisungen (z.B. ISO, EN, SLMB, DIN, AOAC) als validiert gelten, muss ein Labor belegen können, dass die Methode intern beherrscht wird (z.B. Überprüfung Präzision, Richtigkeit, Entscheidungsgrenze).

Der Umfang einer Validierung wird auch durch die der Methode zu Grunde liegenden Fragestellung bestimmt. Diese lässt sich in drei Klassen einteilen:

A.) Ja/Nein Entscheid

Bei qualitativen Verfahren (z.B. Nachweis verbotener Substanzen) geht es um die Frage, ob eine Substanz in einer bestimmten Matrix vorhanden ist oder nicht. Für die Validierung genügt es, die Entscheidungsgrenze (inkl. α-Fehler, siehe Anhang 3) zu bestimmen, sowie die Selektivität und die Leerwerte zu überprüfen.

B.) Vergleich mit Limiten

Bei Methoden zur Überwachung von Limiten (Grenzwerte, Spezifikationen) konzentriert sich der Validierungsaufwand auf den Konzentrationsbereich um die fragliche Limite.

C.) Monitoring

Den grössten Validierungsaufwand benötigen Methoden, mit denen Substanzen über einen grossen Konzentrationsbereich und eventuell über grosse Zeitintervalle bestimmt werden müssen.

Validierungsdaten müssen grundsätzlich ausreisserfrei sein. Bei ausreisserverdächtigen Werten sind Ausreissertests (z.B. Test nach Dixon, Grubbs oder Nalimov (5, 12)) mit einem definierten Signifikanzniveau (z.B. 99 %, Wahl ist zu begründen) anzuwenden. Jeder eliminierte Ausreisser ist durch 2 bis 3 neue Werte zu ersetzen.

2.2 Validierungskriterien

In der Regel hat die vollständige Validierung einer quantitativen Methode folgende Kriterien zu umfassen:
Anwendungsbereich (Kap. 2.3)
Selektivität/Spezifität (Kap. 2.4)
Kalibrierfunktion (Kap. 2.5)
Präzision (Kap. 2.6)
Richtigkeit (Kap. 2.7)
Entscheidungsgrenze (Kap. 2.8)
Bestimmungsgrenze (Kap. 2.9)
Robustheit (Kap. 2.10)
Messunsicherheit (Kap. 3)

Falls auf die Bearbeitung einzelner Punkte verzichtet wird, ist dies schriftlich zu begründen und festzuhalten (z.B. Anwendungsbereich ist weit von möglicher Entscheidungsgrenze entfernt, Hinweis auf Erfahrungswerte aus Laborvergleichsstudien).

2.3 Anwendungsbereich

Im Anwendungsbereich werden die Analyten, der interessierende Konzentrationsbereich und die zu untersuchenden Matrixklassen festgelegt. Eine neu zu untersuchende Matrixklasse kann zu einer Änderung relevanter Validierungskriterien wie z.B. der Entscheidungsgrenze, der Selektivität, der Präzision und der Richtigkeit führen. Deshalb bedingen Erweiterungen des Anwendungsbereiches zusätzliche Abklärungen und allfällige Validierungen.

2.4 Selektivität/Spezifität

Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, verschiedene, nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren (12).

Spezifität ist die Fähigkeit einer Methode, eine Substanz oder eine Substanzklasse ohne Verfälschung durch andere in der Probe vorhandene Komponenten zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren (12).

Eine *selektive* Methode liefert direkt interpretierbare Ergebnisse für *alle* interessierenden Analyten, wohingegen eine *spezifische* Methode direkt interpretierbare Ergebnisse für *einen* Analyten liefert, während andere Analyten sich gegenseitig stören können (12).

Liegen Zweifel an der Selektivität/Spezifität vor, gibt es grundsätzlich zwei Möglichkeiten der Überprüfung. Entweder wird das zu validierende Trenn- oder Detektionsverfahren mit einem Verfahren höheren Informationsgehaltes (z.B. GC-MS statt GC-FID) verglichen, oder potenziell störende Matrixbestandteile werden addiert und deren Auswirkung auf das Messsignal beobachtet.

Dazu ist entweder eine geeignete Anzahl Leerwertproben undotiert zu analysieren und auf Störungen zu untersuchen und/oder es sind Leerwertproben mit Konzentrationen von Substanzen, welche die Identifizierung von Analyten stören könnten, zu dotieren und nach der Analyse zu prüfen, ob ihr Vorhandensein zu einer falschen Identifizierung führen kann, die Identifizierung des Zielanalyten beeinträchtigt oder die Quantifizierung beeinflusst wird (12).

2.5 Kalibrierfunktion

Die Kalibrierfunktion ist der funktionale Zusammenhang zwischen der Messgrösse, z.B. der Extinktion, und dem Gehalt, z.B. einer Massenkonzentration (31).

Die Kalibrierfunktion kann linear, linearisiert oder nicht linear sein. Die Linearität ist die Fähigkeit eines Verfahrens/einer Methode, innerhalb eines bestimmten Konzentrationsbereichs Messergebnisse zu generieren, deren Abhängigkeit von der Konzentration bzw. Menge des Analyten in der Probe durch eine statistisch signifikante Geradengleichung (lineare Regression) zu beschreiben ist.

Wird eine Kalibrierfunktion verwendet, ist sie mit mindestens 5 Standardlösungen (Dreifach-Bestimmung) mit Konzentrationen, welche äquidistant über den Messbereich verteilt sind, zu bestimmen (15). Liegen Zweifel über den Grad der Kalibrierfunktion vor, sind statistische Tests durchzuführen (z.B. Anpassungstest nach Mandel, Residualanalyse (13)).

2.6 Präzision

Die Präzision beschreibt die zufällige Abweichung von Werten um einen Mittelwert. Man unterteilt sie in Wiederhol-, Labor- und Vergleichpräzision.

Die Präzision wird als Standardabweichung einer Datenreihe angegeben. Die Validierung von Prüfverfahren umfasst mindestens die Laborpräzision. Es ist unbedingt darauf zu achten, dass alle relevanten Schritte des Prüfverfahrens dabei berücksichtigt werden, da jeder Schritt einen Beitrag zur Präzision leistet.

Die Vergleichpräzision (reproducibility) ergibt sich aus Methodenvergleichsstudien (5). Die Bestimmung ist nicht Gegenstand dieses Leitfadens, da sie die Mitwirkung mehrerer Laboratorien voraussetzt.

2.6.1 Wiederholpräzision

Präzision, welche mit einem festgelegten Verfahren unter Wiederholbedingungen (gleiche Probe, gleicher Analytiker, gleiches Gerät, gleiche Reagenzien etc.) bestimmt wird (englisch: repeatability).

Zur Bestimmung der Wiederholpräzision sind die Konzentrationen in typischen Matrices jeweils 6–10 mal zu bestimmen und die mittleren Konzentrationen sowie die Standardabweichungen (s_r) zu berechnen. Die Wiederholgrenze (r) kann aus der Wiederholstandardabweichung (s_r) wie folgt berechnet werden:

$$r = s_r \cdot 2\sqrt{2}$$

Weiterführende Angaben zur Auswahl der Proben und dem exakten Vorgehen finden sich in (5).

Die Wiederholpräzision kann auch aus den Differenzen von Doppelbestimmungen an mindestens 20 verschiedenen Proben ermittelt werden (34).

2.6.2 Laborpräzision

Präzision, welche sich aus Wiederholungen der Bestimmung in einem Labor an derselben Probe unter wechselnden Bedingungen ergibt (englisch: intermediate precision).

Eine Probe ist an verschiedenen Tagen mindestens je 6–10 mal unter verschiedenen Bedingungen (Analytiker, Tage, Chargen von Reagenzien, Lösungsmittel, Geräte, Umgebungsbedingungen usw.) zu bestimmen. Die Laborpräzision kann auch durch Mittelwert-Regelkarten bestimmt werden.

2.7 Richtigkeit

Die Richtigkeit ist die systematische Abweichung eines eruierten Wertes von einem als richtig angesehenen Wert (englisch: trueness, Messabweichung, englisch: bias = lack of trueness).

Im Rahmen der Validierung ist die Richtigkeit der am schwierigsten zu bestimmende Parameter einer Methode. Gründe dafür liegen beispielsweise in der mangelnden Kenntnis über Bindungsform und Verteilung des Analyten in der Matrix oder über die Reinheit und Stabilität eines Referenzmaterials. Da die Richtigkeit konzentrationsabhängig ist, sollte sie immer an mehreren Proben unterschiedlichen Gehaltes bestimmt werden. Die Richtigkeit kann als Prozentwert (Wiederfindung) angegeben werden. Ist die Wiederfindung signifikant von 100 % verschieden (t-Test), ist anzugeben, ob die Resultate korrigiert sind oder nicht.

2.7.1 Bestimmung mit einem Referenzmaterial

Nach Möglichkeit ist die Richtigkeit mit zertifiziertem Referenzmaterial zu bestimmen. Das genaue Verfahren und die notwendige Anzahl Bestimmungen sind in (5) beschrieben. Im Allgemeinen genügen 6–10 Bestimmungen. Wenn kein zertifiziertes Referenzmaterial, aber ein gut beschriebenes Material (z.B. Proben aus Ringversuchen) vorhanden ist, sollte die Richtigkeit mit diesem überprüft werden.

2.7.2 Bestimmung mit einer Zweitmethode

Die Bestimmung der Richtigkeit kann mit einer validierten Zweitmethode, wenn möglich einer Referenzmethode durchgeführt werden. Das Messprinzip der Zweitmethode muss sich von der zu validierenden Methode unterscheiden. Die relative Richtigkeit ist der Grad der Übereinstimmung der zu validierenden Methode mit der Zweitmethode. Sie wird bestimmt, indem von 6–10 typischen Proben die Konzentrationen, welche vorzugsweise einen grösseren Konzentrationsbereich abdecken, mit beiden Methoden bestimmt, die Differenzen der Werte aus beiden Methoden, der Mittelwert sowie die Standardabweichung der Differenzen gebildet werden und mit dem t-Test (paarweiser t-Test der Resultate beider Methoden oder t-Test der Differenzen) getestet wird, ob bei einem vorgegebenen Signifikanzniveau (im Normalfall 95 %) ein Unterschied besteht (ein Beispiel ist in (13) gut beschrieben).

2.7.3 Bestimmung über Aufdotierung

Wenn kein zertifiziertes Referenzmaterial und keine Zweitmethode zur Verfügung stehen, wird die Richtigkeit durch Aufdotierung (Aufstockverfahren, Additionsmethode, «Spiken») bestimmt. Der Analyt wird zu 6–10 Proben zugegeben. Dann werden die Konzentrationen der undotierten sowie dotierten Proben bestimmt. Die Differenz zwischen den beiden Resultaten im Verhältnis zur dotierten Konzentration ergibt die Wiederfindung (6).

Obwohl dieses Verfahren sehr oft angewandt wird, hat es einige gravierende Nachteile:

- Es sind nur Aussagen über die Stufen nach der Aufstockung möglich.
- Die Wechselwirkungen zwischen dem Analyt und der Matrix sind bei den realen Proben und bei den aufgestockten Proben häufig unterschiedlich.
- Die Wiederfindung und die Messunsicherheit hängen normalerweise vom Gehalt des Analyten ab. Es muss deshalb darauf geachtet werden, dass die dotierte Probe ungefähr den Gehalt aufweist bei dem Aussagen gemacht werden sollen.
- Die beste Aussage kann mit der Dotierung von realen Proben gemacht werden. In der Spurenanalytik stehen aber reale Proben ohne Analyt oder mit bekanntem Analytgehalt meist nicht zur Verfügung, weil ja eben mit dieser Methode der Analytgehalt bestimmt werden soll.

2.8 Entscheidungsgrenze (CCα)

Die Entscheidungsgrenze (CCα) ist jener Wert, bei und über dem mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von α bestimmt werden kann, dass eine Probe positiv ist (16). α entspricht der Rate falsch positiver Ergebnisse, typische Werte sind 1% falls keine zulässige Höchstmenge festgesetzt wurde oder 5 % in allen andern Fällen (siehe Anhang 3).

2.8.1 Bestimmung ohne Festlegung eines zulässigen Höchstwerts

Im Fall von Stoffen, für die kein zulässiger Höchstwert festgelegt worden ist, kann die Entscheidungsgrenze $CC\alpha$ wie folgt bestimmt werden (16):

Durch das Verfahren der Kalibrierkurve gemäss ISO 11843 (10). In diesem Fall müssen Leerwertproben verwendet werden, die in gleichmässigen Schritten in der Konzentration der geforderten Mindestleistungsgrenze (z.B. 1 mg/kg) und höheren Konzentrationen dotiert sind. Die gemessenen Signale werden gegen die zugesetzte Konzentration aufgetragen. Das extrapolierte Signal am y-Achsenabschnitt plus das 2,33fache der aus der Regressionsberechnung erhaltenen Standardabweichung des y-Achsenabschnitts ergibt auf der X-Achse die Konzentration, die der Entscheidungsgrenze entspricht ($\alpha = 1\,\%$). Dieses Verfahren ist nur auf quantitative Bestimmungen anwendbar.

2.8.2 Bestimmung bei Festlegung eines zulässigen Höchstwerts

Im Fall von Stoffen mit einem festgelegten zulässigen Höchstwert kann die Entscheidungsgrenze $CC\alpha$ wie folgt bestimmt werden (16):

- Entweder durch das Verfahren der Kalibrierkurve gemäss ISO 11843 (10). In diesem Fall müssen Leerwertproben verwendet werden, die in gleichmässigen Schritten in Konzentrationen um den zulässigen Grenzwert dotiert sind. Die gemessenen Signale werden gegen die zugesetzte Konzentration aufgetragen. Das gemessene oder extrapolierte Signal am zulässigen Grenzwert plus das 1,64fache der Standardabweichung bei dieser Konzentration ergibt auf der X-Achse die Konzentration, die der Entscheidungsgrenze entspricht ($\alpha = 5\,\%$);
- oder durch Analysieren von 6 (12) bis 20 (16) Leerwertproben pro Matrix, dotiert mit dem (den) Analyten in der Konzentration des zulässigen Grenzwerts. Die Konzentration am zulässigen Grenzwert plus das 1,64fache der entsprechenden Standardabweichung ist gleich der Entscheidungsgrenze ($\alpha = 5\,\%$).

2.8.3 Bestimmung bei qualitativen Tests

Eine negative Probe wird mit unterschiedlichen Mengen an Analyten aufgestockt und die unterste Konzentration mit positivem Testergebnis bestimmt.

2.9 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze ist der Gehalt eines Analyten, der mit einer vorgegebenen Richtigkeit und Präzision quantitativ erfasst werden kann (12).

Die vorgegebene Richtigkeit und Präzision, welche die Bestimmungsgrenze ausmachen, hängen von der analytischen Fragestellung ab. Die Bestimmungsgrenze entspricht der Analytkonzentration mit definiertem relativen Vertrauensbereich. Sie kann mit den Validierungsdaten an Proben mit genügend tiefen Gehalten abgeschätzt oder durch Mehrfachmessungen (n = 6 bis 10) von dotierten Leerwertproben bestimmt werden. Die aus den Mehrfachmessungen berechnete relative Standardabweichung darf dabei einen vorgegebenen Wert (z.B. 25%) nicht überschreiten.

Die Bestimmungsgrenze sollte höchstens 50 % der unteren Spezifikationsgrenze betragen (12).

2.10 Robustheit

Fähigkeit einer Methode, gleichbleibende Resultate unter variierenden Bedingungen zu liefern (englisch: ruggedness, robustness).

Zu einer Validierung gehören Überlegungen zur Robustheit. Die kritischen Faktoren der Probenvorbereitung, der Aufbereitung und der Analyse, welche die Messergebnisse beeinflussen könnten, werden hinterfragt. Kritische Faktoren können sein: der Analytiker; Gehalt und Stabilität von Reagenzien, Standards, Proben sowie deren Lösungen; Geräte- und Umgebungsbedingungen.

Sind Zweifel oder Anhaltspunkte (z.B. Resultate aus Regelkarten) vorhanden, dass eine Methode beim vorgeschriebenen Vorgehen unstabil ist, müssen die Ursachen abgeklärt werden. Eine bewährte Möglichkeit ist, die kritischen Faktoren des Prüfverfahrens gezielt zu verändern und ihre Auswirkungen zu bestimmen. Die Faktoren werden in der Grössenordnung verändert, wie sie im Labor vorkommen und in ihren Extremen untersucht (8, 9). Grundsätzlich sollten nicht einzelne Parameter, sondern mehrere Faktoren auf einmal untersucht werden. Das genaue Vorgehen ist in (12) beschrieben. Beeinflusst ein Faktor das Ergebnis wesentlich, sind mit weiteren Tests die Akzeptanzgrenzen zu bestimmen und die Grenzen in der Prüfanweisung deutlich anzugeben.

3 Messunsicherheit

Die Messunsicherheit ist ein «dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet, die vernünftigerweise der Messgrösse zugeordnet werden könnte» (14).

Die Messunsicherheit resultiert aus experimentell bestimmten Unsicherheiten und/oder geschätzten Unsicherheiten. Sie muss das gesamte Prüfverfahren umfassen. Bezieht sich das Ergebnis auf eine homogenisierte Probe, umfasst die Messunsicherheit nur den analytischen Teil. Andernfalls muss auch der präanalytische Teil berücksichtigt werden. Es muss aus dem Prüfbericht hervorgehen, worauf sich die Messunsicherheit bezieht.

Der Aufwand für die Ermittlung der Messunsicherheit hängt von der analytischen Problemstellung ab.

3.1 Abschätzung der Messunsicherheit durch statistische Auswertung von experimentellen Daten

Für die Abschätzung der Messunsicherheit können Daten aus der Validierung, aus Ringversuchen und aus Regelkarten verwendet werden. Allerdings muss sichergestellt sein, dass zum Zeitpunkt, bei welchem die Messunsicherheit abgeschätzt wird, keine signifikant anderen Bedingungen (z.B. andere Probenvorbehandlung,

Veränderungen in Proben-Matrices, Umweltfaktoren) herrschen als zum Zeitpunkt der Validierung.

3.1.1 Vorgehen

- Spezifizierung der Messgrösse (Kap. 3.1.2)
- Identifizierung der Unsicherheitsquellen (Kap. 3.1.3)
- Quantifizierung des Beitrags durch die Präzision (Kap. 3.1.4)
- Quantifizierung des Beitrags durch die Richtigkeit (Kap. 3.1.5)
- Quantifizierung des Beitrags anderer Quellen (Kap. 3.1.6)
- Berechnung der kombinierten Messunsicherheit (Kap. 3.4)
- Berechnung der erweiterten Messunsicherheit und Angabe im Prüfbericht (Kap. 3.5)

3.1.2 Spezifizierung der Messgrösse

Die Messgrösse ist deutlich zu beschreiben, insbesondere ist die Beziehung zwischen der Messgrösse und den Parametern, von denen sie abhängt, aufzuführen. Diese Information ist üblicherweise im Prüfverfahren niedergelegt.

3.1.3 Identifizierung der Unsicherheitsquellen

Eine vollständige Liste der relevanten Unsicherheitsquellen wird erstellt. Dazu ist ein Ursache-Wirkungsdiagramm geeignet (Ishikawa-Diagramme; Beispiele dazu sind im Anhang 2 aufgeführt). Eine Liste möglicher Unsicherheitsquellen findet sich in Kap. 3.1.6.

3.1.4 Quantifizierung des Beitrags der Präzision zur Messunsicherheit

Es wird geprüft, ob die Standardabweichungen sämtlicher bisher geprüften Matrices vergleichbar sind (F-Test). Ist dies der Fall, können sie zusammengefasst werden, sonst muss die Messunsicherheit für die interessierende Probe separat bestimmt und berechnet werden (Anhang 1, Gleichung 1a). Erfolgt die Abschätzung aus Ringversuchen gilt Gleichung 1b.

3.1.5 Quantifizierung des Beitrags der Richtigkeit zur Messunsicherheit

Die Messunsicherheit aus der Richtigkeit $u(\overline{R}_m)$ ergibt sich aus der Wiederfindung $\overline{R}_m$ (Abschätzung mit einem Referenzmaterial (Gleichungen 2, 3), Vergleich mit einer Referenzmethode (Gleichungen 4, 5) oder durch Aufdotierung (Gleichungen 6, 7)).

Man unterscheidet:

- $\overline{R}_m$ ist nicht signifikant von 1 verschieden (eventuell Prüfung mit dem t-Test) und das Resultat wird ohne Berücksichtigung der Wiederfindung angegeben. Der Beitrag zur Messunsicherheit ist $u(\overline{R}_m)$.
- $\overline{R}_m$ ist signifikant von 1 verschieden und das Resultat wird mit der Wiederfindung korrigiert, so ist der Beitrag zur Messunsicherheit $u(\overline{R}_m)/\overline{R}_m$.

- $\overline{R}_m$ ist signifikant von 1 verschieden und das Resultat wird nicht mit der Wiederfindung korrigiert (in begründeten Ausnahmefällen), so ist die Messunsicherheit höher als bei einer Wiederfindung von 1. Sie wird mit Gleichung 8 berechnet.

3.1.6 Quantifizierung des Beitrags anderer Quellen zur Messunsicherheit

Beiträge aus Quellen, welche nicht durch die Präzisions- oder Richtigkeitsexperimente erfasst werden, müssen aus Literaturstudien oder experimentell mit Robustheitstests abgeschätzt werden. Quellen, die kleiner als ein Drittel der grössten Beiträge sind, müssen nicht im Detail bestimmt, sondern können abgeschätzt werden.

Typische Unsicherheitsquellen sind:

- Probenahme
- Probenvorbereitung
- Lagerung
- Instrumentelle systematische Abweichungen
- Reinheit der Reagenzien
- Repräsentativität und Homogenität des Referenzmaterials
- Unvollständige Reaktionen, Nebenreaktionen
- Umweltfaktoren (Temperatur, Luftfeuchtigkeit)
- Einfluss der Matrices
- Wahl der Kalibrierfunktion

Diese Quellen können voneinander abhängen. In diesem Fall sind zusätzlich die Kovarianzen zu berechnen oder abzuschätzen (3).

3.2 Abschätzung der Messunsicherheit auf Grund der Unsicherheitsquellen der einzelnen Analysenschritte

Falls keine Daten aus Validierung, aus Ringversuchen oder aus Regelkarten vorhanden sind, können die einzelnen Unsicherheitsquellen separat bestimmt und kombiniert werden (3).

3.2.1 Vorgehen

- Spezifizierung der Messgrösse (Kap. 3.1.2)
- Identifizierung der Unsicherheitsquellen (Kap. 3.1.3)
- Quantifizierung der Unsicherheitskomponenten (3)
- Berechnung der kombinierten Messunsicherheit (Kap. 3.4)
- Berechnung der erweiterten Messunsicherheit und Angabe im Prüfbericht (Kap. 3.5)

3.3 Weitere Verfahren zur Ermittlung der Messunsicherheit

Ist eine Abschätzung der Messunsicherheit wie sie oben beschrieben wurde auf Grund des Untersuchungsziels zu aufwändig (z.B. einmalige Fragestellung, erstes orientierendes Resultat), kann sie wie folgt abgeschätzt werden:

- aus Literaturwerten von anderen Prüfverfahren oder Ringversuchen;
- durch Expertenbeurteilung (3) (z.B. durch Analogiebetrachtungen von ähnlichen Prüfverfahren oder ähnlichen Matrices);
- Die Messunsicherheit kann mit Hilfe der empirischen Horwitzgleichung abgeschätzt werden.

$$u_c \cong 0.02.c^{0.8495}$$

c: Konzentration in kg/kg (5 % = 0.05)
u_c: Kombinierte Messunsicherheit

Dieses Vorgehen kann nur in Ausnahmefällen verwendet werden und ist klar zu begründen. Die resultierende Schätzung ist mit eigenen Experimenten zu verifizieren.

3.4 Berechnung der kombinierten Messunsicherheit u_c

Zur Berechnung der kombinierten Messunsicherheit werden die bestimmten und abgeschätzten Unsicherheiten in Standardunsicherheiten (=in der Form einer Standardabweichung) umgerechnet. Anschliessend werden diese Standardunsicherheiten kombiniert. Man unterscheidet:

- die Beziehung zwischen der Messgrösse und den Parametern, von denen sie abhängt y=f(p, q, r) enthält nur Quotienten und Produkte (Gleichung 9).
- die Beziehung zwischen der Messgrösse und den Parametern, von denen sie abhängt y=f(p, q, r) enthält nur Additionen und Subtraktionen (Gleichung 10).
- die Beziehung zwischen der Messgrösse und den Parametern, von denen sie abhängt y=f(p, q, r) enthält Quotienten und Produkte, aber auch Additionen und Subtraktionen: Die Beziehung kann in Teile gegliedert werden, die mit der Gleichungen 9 und 10 zu behandeln sind. Beispielsweise für den Fall y=(o+p)/(q+r): (o+p) und (q+r) werden zuerst mit der Gleichung 10 berechnet und anschliessend werden die Resultate in die Gleichung 9 eingesetzt.

3.5 Berechnung und Angabe der erweiterten Messunsicherheit U(y)

Für ein Einzelresultat ist die erweiterte Messunsicherheit *U(y)* das Produkt der kombinierten Messunsicherheit (Kap. 3.4) mit einem Erweiterungsfaktor ($k=2$, Gleichung 12).

Der Messwert *(y)* und die dazugehörige erweiterte Messunsicherheit *(U(y))* geben den Bereich *(y ± U(y))* an, der den «wahren» Wert der gemessenen Grösse mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 95 % enthält (Normalverteilung).

Die Messunsicherheit muss gemäss ISO 17025 (1) auf dem Prüfbericht angegeben werden, wenn sie

- für die Gültigkeit oder Anwendung der Prüfergebnisse von Bedeutung ist,
- vom Kunden verlangt wurde oder
- die Einhaltung von vorgegebenen Grenzen in Frage stellt.

Falls die angegebene erweiterte Messunsicherheit ein anderes Vertrauensintervall als 95 % abdeckt ($k=2$), muss dies ebenfalls angegeben werden.

Beispiel für die Angabe der erweiterten Messunsicherheit für ein Vertrauensintervall von 95 %:

Cadmium: 1,52 ± 0,14 mg/kg

Résumé

Toute valeur expérimentale est entachée d'une incertitude de mesure qui limite l'applicabilité de la méthode utilisée. La validation étudie et caractérise les performances et les limites des méthodes d'essai. Elle atteste qu'une méthode d'essai convient à l'exécution d'une certaine tâche dès lors que l'on tient compte des incertitudes. Ce guide décrit des méthodes d'estimation de l'incertitude de mesure et la validation des méthodes d'essai physico-chimiques par un seul laboratoire.

Summary "Guide to evaluate the physico-chemical test methods and to estimate the measurement uncertainty"

Any experimental result has a measurement uncertainty which set limits to the applicability of the test method used. The Validation studies and characterizes the fitness for purpose of test methods. It gives the proof that a test method is fit for purpose, provided that the measurement uncertainty is properly taken in account. This guide describes methods to evaluate the measurement uncertainty and how to validate physico-chemical test methods by one single laboratory.

Key words

Validation, measurement uncertainty, analytical chemistry

Literatur

1 SN EN ISO/IEC 17025 Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien (ISO/IEC 17025:1999, Ausgabe: 2000-05)

2 Guide to the expression of uncertainty in measurement, ISO, Genf, ISBN 92-67-10188-9 (1993)

3 EURACHEM/CITAC Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, second edition (QUAM:2000.P1): http://www.measurementuncertainty.org/mu/quam2.pdf
EURACHEM/CITAC Leitfaden Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen, Zweite Auflage, (2. Entwurf), Stand: Mai 2003
http://www.uni-stuttgart.de/eurachem/pdf/quam2000de_v2.pdf

4 Richtlinie 96/23/EG vom 29.4.1996 über Kontrollmassnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Richtlinien 85/358/EWG und 86/469/EWG und der Entscheidungen 89/187/EWG und 91/994/EWG. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L125: 10–32 (1996)

5 ISO 5725: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – ISO 5725-1:1994(E): General principles and definitions; ISO 5725-2:1994(E): Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard method; ISO 5725-4:1994(E): Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method

6 *Thompson M., Ellison S.L.R. and Wood R.:* Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis, Pure Appl. Chem., **74**, 835–855 (2002)

7 DIN 55350, Begriffe der Qualitätssicherung und Statistik, 1987
8 *Youden W.J. and Steiner E.H.:* Statistical Manual of the AOAC – Association of Official Analytical Chemists, AOAC-I, Washington DC (1975)
9 AOAC-I Peer Verified Methods, Policies and Procedures (1993), AOAC International, 2200 Wilson Blvd., Suite 400, Arlington, Virginia 22201-3301, USA
10 ISO 11843:1997 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions, Part 2: Methodology in the linear calibration case
11 *Barwick V.J. and Ellison S.L.R.:* VAM Project 3.2.1 Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles, Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data, Version 5.1 (2000)
12 *Kromidas S.:* Handbuch Validierung in der Analytik, Verlag Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-29811-8 (2000)
13 *Gottwald W.:* Statistik für Anwender, Verlag Wiley-VCH, Weinheim, ISBN 3-527-29780-4 (2000)
14 SN ENV 13005 Leitfaden zur Angabe der Unsicherheit beim Messen (Ausgabe 2000-05)
15 *Meier P.C. and Zünd R.E.:* Statistical Methods in Analytical Chemistry, Verlag Wiley (2nd Edition), New York (2000)
16 ENTSCHEIDUNG DER KOMMISSION vom 12. August 2002 zur Umsetzung der Richtlinie 96/23/EG des Rates betreffend die Durchführung von Analysemethoden und die Auswertung von Ergebnissen. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L221: 8–36 (2002)
17 Richtlinie 2002/63/EG der Kommission vom 11.7.2002 zur Festlegung gemeinschaftlicher Probenahmemethoden zur amtlichen Kontrolle von Pestizidrückständen in und auf Erzeugnissen pflanzlichen und tierieschen Ursprungs und zur Aufhebung der Richtlinie 79/700/EWG. Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L187: 30–43 (2002)
18 Verordnung über die Probenerhebung von Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen Artikel 6. SR 817.94. EDMZ, 3000 Bern
19 Codex Alimentarius CX/MAS 02/3: Proposed draft general guidelines on sampling. 24th Session, Budapest, Hungary, 18–22 November 2002
20 ISO 6644:2002 Flowing cereals and milled cereal products. Automatic sampling by mechanical means
21 ISO 13690:1999 Cereals, pulses and milled products – Sampling of static batches
22 FIL-IDF 50C:1995 Milk and milk products – Guidance on sampling
23 EURACHEM/CITAC Leitfaden Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen, zweite Auflage (2. Entwurf), QUAM:2000.P1; Beispiel A4
24 EURACHEM/CITAC Leitfaden Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen, zweite Auflage (2. Entwurf), QUAM:2000.P1; Beispiel A5
25 EURACHEM/CITAC Leitfaden Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen, zweite Auflage (2. Entwurf), QUAM:2000.P1; Beispiel A7
26 *Barwick V.J. and Ellison S.L.R.:* VAM Project 3.2.1 Development and Harmonisation of Measurement Uncertainty Principles, Part (d): Protocol for uncertainty evaluation from validation data, Version 5.1: 41–55 (2000)
27 *Spack L.:* Estimation of Measurement Uncertainty for the Analysis of Coffein by HPLC-UV, Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. (in press)
28 *Spack L.:* Estimation of Measurement Uncertainty for the Analysis of Chloramphenicol by HPLC-MS/MS, Mitt. Geb. Lebensmittelunters. Hyg. (in press)
29 *Pantazopoulos P.:* Uncertainty Estimate for: Procedure ONT-FCL-0024 "Determination of Ochratoxin A in Wine and Grape Juice by High Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection"
http://www.measurementuncertainty.org/mu/examples/pdf/EncertaintyEstimateExampleFoodLaboratoryDivisionOntarioRegion.pdf
30 DIN 38402 Teil 51 (DEV A51), Kalibrierung von Analysenverfahren (1986)

31 DIN 32645, Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze (1994)
32 AFK-SK-LEB-IV.doc/Rev. 1.0/15.01.02 Deutsches Akkreditierungssystem Prüfwesen GmbH DAP, Anforderungskatalog des Sektorkomitees Lebensmittelanalytik, http://www.dap.de/95doc/AFK-SK-LEB.pdf
33 DIN NAW IW1, Strategien für die Wasseranalytik, Validierung und Qualitätssicherung in der Routine, Entwurf (1997)
34 ISO 8196-1/2:2000: Milk – Definition and evaluation of the overall accuracy of indirect methods of milk analysis – Part 2: Calibration and quality control in the dairy laboratory

Anhang 1 – Gleichungen zur Abschätzung der Messunsicherheit (aus VAM(26))

Berechnung des Beitrages $u(P)$ der Präzision

A. Aus Validierungsdaten:

$$u(P)=S_{obs} \tag{1a}$$

s_{obs}: Standardabweichung der gemessenen Konzentrationen

B. Aus Ringversuchs-Daten (1b)

$$u(P)=\frac{r}{2\sqrt{2}}=S_r$$

r: Wiederholgrenze

S_r: Wiederholstandardabweichung

Berechnung des Beitrages $u(\overline{R}_m)$ der Richtigkeit

Abschätzung von $\overline{R}_m$ und $u(\overline{R}_m)$ mit einem Referenzmaterial

$$\overline{R}_m=\frac{\overline{c}_{obs}}{\overline{c}_{CRM}} \tag{2}$$

$$u(\overline{R}_m)=\overline{R}_m\cdot\sqrt{\frac{s^2{}_{obs}}{n\times\overline{c}^2{}_{obs}}+\left(\frac{u(c_{CRM})}{c_{CRM}}\right)^2} \tag{3}$$

$\overline{c}_{obs}$: Mittelwert der gemessenen Konzentrationen

c_{CRM}: zertifizierter Wert

s_{obs}: Standardabweichung der gemessenen Konzentrationen

$u(c_{CRM})$: Standardabweichung des zertifizierten Wertes (zertifizierte Unsicherheit (z. B. ±2mg/l) dividiert durch $\sqrt{3}$)

n: Anzahl Bestimmungen (normalerweise 6–10)

Abschätzung von $\overline{R}_m$ und $u(\overline{R}_m)$ durch Vergleich mit einer Referenzmethode

$$\overline{R}_m=\frac{\overline{c}_{method}}{\overline{c}_{standard}} \tag{4}$$

$$u(\overline{R}_m)=\overline{R}_m\cdot\sqrt{\frac{s^2{}_{method}}{n\cdot\overline{c}^2{}_{method}}+\left(\frac{u(c_{standard})}{\overline{c}_{standard}}\right)^2} \tag{5}$$

$\overline{c}_{method}$: Mittelwert der Konzentrationen der zu prüfenden Methode

$\overline{c}_{standard}$: Mittelwert der Konzentrationen der Referenzmethode

s_{method}: Standardabweichung der zu prüfenden Methode
$u(c_{standard})$: Standardabweichung der Referenzmethode
n: Anzahl Bestimmungen (normalerweise 6–10)

Abschätzung von und durch Aufdotierung

$$\bar{R}_m = \frac{\bar{c}_{obs} - \bar{c}_{native}}{\bar{c}_{spike}} \tag{6}$$

$$u(\bar{R}_m) = R_m \cdot \sqrt{\frac{\frac{s^2_{obs}}{n} + s^2_{native}}{(\bar{c}_{obs} - \bar{c}_{native})^2} + \left(\frac{u(c_{spike})}{c_{spike}}\right)^2} \tag{7}$$

c_{obs}: Mittelwert der Konzentrationen der dotierten Probe
c_{native}: Mittelwert der Konzentrationen der undotierten Probe
c_{spike}: zugesetzte Konzentration
s_{obs}: Standardabweichung der dotierten Probe
s_{native}: Standardabweichung des Mittelwertes der undotierten Probe
$u(c_{spike})$: Standardunsicherheit der zugesetzten Konzentration (Dieser Beitrag wird aus den Unsicherheiten der Einzelschritte bei Herstellung abgeschätzt)
n: Anzahl Bestimmungen (normalerweise 6–10)

$$u(\bar{R}_m)'' = \sqrt{\left(\frac{1-\bar{R}_m}{k}\right)^2 + u(\bar{R}_m)^2} \tag{8}$$

k: Korrekturfakor, welcher für die Berechnung der erweiterten Messunsicherheit benützt wird (im Normalfall $k=2$)
$u(R_m)''$: Beitrag der Richtigkeit zur Messunsicherheit in dem Fall, wo $\bar{R}_m$ signifikant von 1 verschieden ist und das Resultat nicht mit der Wiederfindung korrigiert wird)

Berechnung der kombinierten Messunsicherheit $u_c(y)$

$$u_c(y) = y\sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \left(\frac{u(r)}{r}\right)^2 + \ldots} \tag{9}$$

$$u_c(y) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + u(r)^2 + \ldots} \tag{10}$$

$u_c(y)$: kombinierte Standardunsicherheit
p, q, r: Parameter, welche y beeinflussen
$u(p), u(q), u(r)$: Standardunsicherheit von p, q, r

Berechnung der erweiterten Messunsicherheit $U(y)$

$$U(y) = k \cdot u(y) \tag{12}$$

$k = 2$ (Vertrauensbereich mit 95 % Wahrscheinlichkeit)

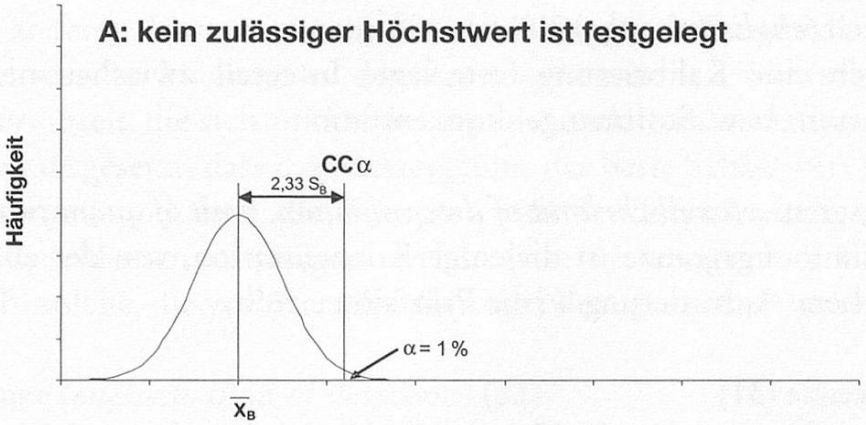
Anhang 2 – Beispiele zur Bestimmung der Messunsicherheit

Analyt, Matrix, Analysentechnik	*Gehalt*	*Vorgehen*:*	*Literatur*
Organophosphorpestizide in Brot mit GC	15 µg/kg–1,3 mg/kg	1	23
Cadmiumfreisetzung aus Keramik mit AAS	0,1 mg/kg–0,9 mg/kg	2	24
Blei in Wasser mit IDMS und ICP-MS	10 mg/kg	2	25
Vitamine A und E in Kindernahrungsmittel mit HPLC	5 mg/kg–280 mg/kg	1	26
Koffein in Kaffee mit HPLC	0,04 g/100 g–2,8 g/100 g	1	27
Chloramphenicol in Lebensmittel mit Honig	nd–2 µg/kg	1	28
Ochratoxin A in Wein und Traubensaft mit HPLC	0,02 µg/kg–10 µg/kg	1	29

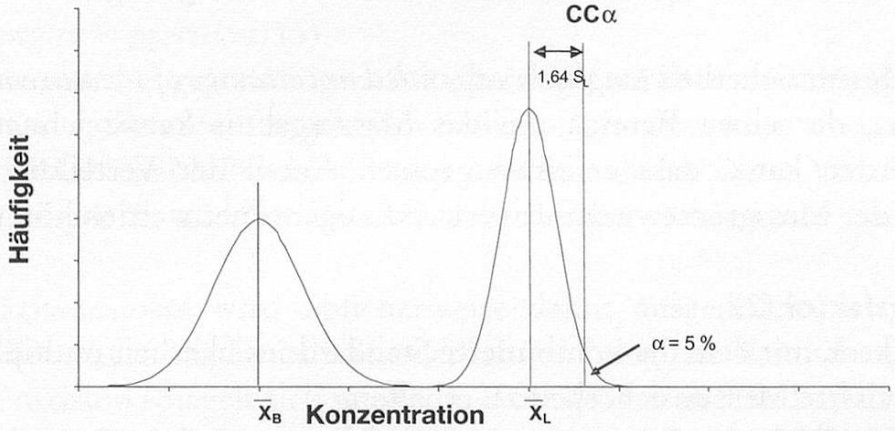
* Grundsätzlich unterscheidet man 2 verschiedene Vorgehensweisen (3):
Vorgehen 1: Abschätzen der Messunsicherheit durch statistische Auswertung von experimentellen Daten (s. Kap. 3.1).
Vorgehen 2: Abschätzung der Messunsicherheit auf Grund der Unsicherheitsquellen der einzelnen Analysenschritte (s. Kap. 3.2)

weitere Beispiele findet man auch im Internet:
http://www.measurementuncertainty.org/mu/examples/index.html?text=hplc.html

Anhang 3 – graphische Darstellung der Entscheidungsgrenze



B: zulässiger Höchstwert ist festgelegt



$\overline{X}_B$ mittlere «Konzentration» der Leerwertprobe

$\overline{X}_L$ mittlere Konzentration der Probe, die den Analyten in der Konzentration des zulässigen Höchstwertes (Limite) enthält

s_B Standardabweichung der Leerwertprobe (bestimmt unter Laborpräzisionsbedingungen)

s_L Standardabweichung der Probe, die den Analyten in der Konzentration des zulässigen Höchstwertes enthält (bestimmt unter Laborpräzisionsbedingungen)

α Rate falsch positiver Ergebnisse (Irrtumswahrscheinlichkeit):
wenn kein zulässiger Höchstwert festgelegt worden ist, wird $\alpha = 1\,\%$ gewählt;
wenn ein zulässiger Höchstwert festgelegt worden ist, wird $\alpha = 5\,\%$ gewählt

Anhang 4 – Definitionen aus Normen

Arbeitsbereich *(englisch: range)* (30)

Das durch eine Kalibrierung festgelegte Intervall zwischen niedrigster und höchster Massen- bzw. Stoffmengenkonzentration.

Bestimmungsgrenze *(englisch: limit of determination, limit of quantification)* (31)

Die Bestimmungsgrenze ist diejenige Konzentration, von der ab die Messung eine vorgegebene Anforderung an die Präzision erfüllt.

Erfassungsgrenze (31)

Die Erfassungsgrenze ist der kleinste Gehalt einer gegebenen Probe, bei dem mit einer Wahrscheinlichkeit von 1-β ein Nachweis möglich ist.

Die Erfassungsgrenze ist diejenige Konzentration, bei welcher der Nachweis mit hoher Sicherheit – beispielsweise in 19 von 20 Fällen – gelingt.

Erweiterte Messunsicherheit *(englisch: expanded uncertainty of measurement)* (2)

Kennwert, der einen Bereich um das Messergebnis kennzeichnet, von dem erwartet werden kann, dass er einen grossen Anteil der Verteilung der Werte umfasst, die der Messgrösse vernünftigerweise zugeordnet werden könnten.

Erweiterungsfaktor (2)

Zahlenfaktor, mit dem die kombinierte Standardunsicherheit multipliziert wird, um eine erweiterte Messunsicherheit zu erhalten.

ANMERKUNG: Ein Erweiterungsfaktor k liegt typisch im Bereich 2 bis 3.

Kalibrierfunktion *(englisch: calibration function)* (31)

Die Kalibrierfunktion ist der funktionale Zusammenhang zwischen der Messgrösse, z.B. der Extinktion, und dem Gehalt, z.B. einer Massenkonzentration.

Leerprobe und Leerwert (31)

Die Leerprobe ist unter Idealbedingungen eine Probe, welche den nachzuweisenden oder den zu bestimmenden Bestandteil nicht enthält, sonst aber mit der Analysenprobe übereinstimmt.

Messunsicherheit *(englisch: uncertainty of measurement)* (2)

Dem Messergebnis zugeordneter Parameter, der die Streuung der Werte kennzeichnet, die vernünftigerweise der Messgrösse zugeordnet werden könnte.

ANMERKUNGEN: Der Parameter kann beispielsweise eine Standardabweichung (oder ein gegebenes Vielfaches davon), oder die halbe Weite eines Bereiches sein, der ein festgelegtes Vertrauensniveau hat.

Messunsicherheit enthält im allgemeinen viele Komponenten. Einige dieser Komponenten können aus der statistischen Verteilung der Ergebnisse einer Messreihe ermittelt und durch empirische Standardabweichungen gekennzeichnet werden. Die anderen Komponenten, die ebenfalls durch Standardabweichungen charakterisiert werden können, werden aus angenommenen Wahrscheinlichkeitsverteilungen ermittelt, die sich auf Erfahrung oder andere Information gründen.

Es wird vorausgesetzt, dass das Messergebnis der beste Schätzwert für den Wert der Messgrösse ist, und dass alle Komponenten der Unsicherheit zur Streuung beitragen, eingeschlossen diejenigen, welche von systematischen Einwirkungen herrühren, z.B. solche, die von Korrektionen und Bezugsnormalen stammen.

Nachweisgrenze *(englisch: limit of detection)* (32)

Kleinste nachweisbare Menge. Die Nachweisgrenze ist der kleinste Wert des Gehaltes eines Analyten, für den die Prüfmethode Signalwerte liefert, die sich statistisch signifikant von «Null» unterscheiden.

Präzision *(englisch: precision)* (5)

Das Ausmass der gegenseitigen Annäherung zwischen unabhängigen Ermittlungsergebnissen, die unter festgelegten Bedingungen gewonnen sind.

ANMERKUNGEN: Präzision hängt ausschliesslich von der Verteilung zufälliger Abweichungen ab und bezieht sich nicht auf den wahren oder den vorgegebenen Wert.

Das Präzisionsmass wird üblicherweise damit ausgedrückt, «wie unpräzise etwas ist2. Errechnet wird es als Standardabweichung der Ermittlungsergebnisse. Geringere Präzision spiegelt sich wieder in einer grösseren Standardabweichung.

«Unabhängige Ermittlungsergebnisse» bedeutet Ergebnisse, die unbeeinflusst durch irgendein vorausgehendes Ergebnis am selben oder an einem ähnlichen Untersuchungsobjekt gewonnen werden. Quantitative Präzisionsmasse hängen entscheidend von den festgelegten Bedingungen ab. Wiederholbedingungen und Vergleichsbedingungen sind ein besonderes Paar von extremen Bedingungen.

Richtigkeit *(englisch: trueness)* (5)

Das Ausmass der Annäherung zwischen dem Mittelwert aus einer grossen Serie von Ermittlungsergebnissen und einem anerkannten Bezugswert.

ANMERKUNG 1: Das Richtigkeitsmass wird üblicherweise ausgedrückt mittels einer systematischen Abweichungskomponente.

Robustheit *(englisch: ruggedness, robustness)* (33)

Relative Unempfindlichkeit eines Analysenverfahrens gegenüber Änderungen der analytischen Randbedingungen.

Selektivität *(englisch: selectivity)* (32)

Selektivität ist die Fähigkeit einer Methode, verschiedene, nebeneinander zu bestimmende Komponenten ohne gegenseitige Störung zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren.

Spezifität *(englisch: specifity)* (32)

Spezifität ist die Fähigkeit einer Methode, eine Substanz oder eine Substanzklasse ohne Verfälschung durch andere in der Probe vorhandene Komponenten zu erfassen und sie somit eindeutig zu identifizieren.

Validierung *(englisch: validation)* (1)

Bestätigung durch Untersuchung und Bereitstellung eines Nachweises, dass die besonderen Anforderungen für einen speziellen beabsichtigten Gebrauch erfüllt werden.

Vergleichpräzision *(englisch: reproducibility)* (5)

Präzision unter Vergleichbedingungen.

Vergleichbedingungen: Bedingungen bei der Gewinnung von voneinander unabhängigen Ermittlungsergebnissen, bestehend in der Anwendung desselben Verfahrens an identischen Untersuchungsobjekten in verschiedenen Labors durch verschiedene Bearbeiter mit verschiedenen Geräteausrüstungen

Vergleichgrenze *(englisch: reproducibility limit)* (5)

Wert, unter dem oder gleich dem der Betrag der Differenz zwischen zwei unter Vergleichbedingungen (s.o.) gewonnenen Ermittlungsergebnissen mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % erwartet werden kann.

ANMERKUNG 1: Das benutzte Symbol ist *R*.

Wiederholpräzision *(englisch: repeatability)* (5)

Präzision unter Wiederholbedingungen.

Wiederholbedingungen: Bedingungen bei der Gewinnung von voneinander unabhängigen Ermittlungsergebnissen, bestehend in der Anwendung desselben Verfahrens am identischen Untersuchungsobjekt im selben Labor durch denselben Bearbeiter mit derselben Geräteausrüstung in kurzen Zeitabständen.

Wiederholgrenze *(englisch: repeatability limit)* (5)

Wert, unter dem oder gleich dem der Betrag der Differenz zwischen zwei unter Wiederholbedingungen (s.o.) gewonnenen Ermittlungsergebnissen mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % erwartet werden kann.

ANMERKUNG 1: Das benutzte Symbol ist *r*.