

## Kalibrierung, Auswertung, Ergebnisangabe

### 1 Arbeitsgrundlagen

- DIN 38402-A51 Kalibrierung von Analysenverfahren, Auswertung von Analysenergebnissen und lineare Kalibrierfunktionen für die Bestimmung von Verfahrenskenngrößen (Mai 1986)
- DIN 32645 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze (Mai 1994)
- DIN 32633 Verfahren der Standardaddition (Dezember 1998)
- Strategien für die Wasseranalytik:  
Verfahrensentwicklung, Validierung und Qualitätssicherung in der Routine,  
DEV 39.Lieferung 1997
- AQS-Merkblätter  
für die Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung  
Herausgegeben von der Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA)  
Erich Schmidt Verlag GmbH & Co., Berlin 1991

Weitere Literatur siehe Abschnitt 9

### 2 Einleitung

Das Merkblatt enthält Hinweise und Empfehlungen für die praktische Durchführung der unterschiedlichen Kalibrierverfahren sowie ihrer Vor- und Nachteile im Routinebetrieb.

Außerdem werden Hinweise zur Auswertung analytischer Messsignale sowie zur Angabe des damit erhaltenen Untersuchungsergebnisses gegeben.

### 3 Begriffe

**Kalibrieren** ist die Messung von Kalibrierlösungen mit als bekannt vorausgesetzten Gehalten zur Ermittlung des funktionalen Zusammenhanges zwischen den Messsignalen des analytischen Systems und den interessierenden Gehalten der zu bestimmenden Substanzen.

Prinzipiell ist zu unterscheiden zwischen der Grundkalibrierung und der Kalibrierung über das Gesamtverfahren.

- **Grundkalibrierung** ist die Kalibrierung des analytischen Messverfahren mit Bezugslösungen in reinen Lösemitteln.
- **Kalibrierung über das Gesamtverfahren** ist eine Kalibrierung bei der die Probenvorbereitungsschritte (z.B. Aufschluss, Extraktion, Anreicherung, Reinigung etc.) einbezogen werden.

Sowohl Grundkalibrierung als auch Kalibrierung über das Gesamtverfahren können mit **externem** und mit **internem Standard** durchgeführt werden.

### 4 Zweck der Kalibrierung

Kalibrierungen sind notwendig zur Verfahrensentwicklung, zur Kontrolle der Leistungsfähigkeit und zur Validierung des Analysenverfahrens im Laboratorium sowie zur Gewinnung von Analysenergebnissen in der Routine.

Um diese zu produzieren, muss das Analysenverfahren beschrieben werden. Dazu gehört die Beachtung und Erarbeitung nachfolgender Punkte:

- die Ermittlung des funktionalen Zusammenhanges, beschrieben durch eine lineare Funktion oder eine Funktion höherer Ordnung (Kalibrierfunktion). Aus der Kalibrierfunktion kann eine graphische Darstellung erstellt werden.
- die Berechnung der Leistungsfähigkeit des Analysenverfahrens mit
  - Reststandardabweichung  $s_y$
  - Verfahrensstandardabweichung  $s_{x_0}$
  - Ermittlung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze
- die Überprüfung der Verfahrenskenngrößen in der Routine.

Die Leistungsfähigkeit des Analysenverfahrens ist zu kontrollieren :

- bei der Erarbeitung eines neuen Analysenverfahrens
- bei Verfahrensänderungen.
- bei größeren Reparaturen am Gerät

## 5 Kalibrierverfahren und ihre Anwendungsbereiche

Zu den am häufigsten eingesetzten Kalibrierverfahren zählen:

- Kalibrieren mit externem Standard
- Kalibrieren mit internem Standard
- Standardaddition

Für alle Kalibrierverfahren gilt, dass der kalibrierte Bereich nicht extrapoliert werden darf.

### 5.1 Kalibrierung mit externem Standard

#### 5.1.1 Grundkalibrierung mit externem Standard

Zur Ermittlung der Kalibrierfunktion und der Verfahrenskenngrößen des analytischen Messverfahrens wird eine Grundkalibrierung [1] mit externem Standard durchgeführt. Sie erfolgt mit Bezugslösungen (Standards) in reinen Lösemitteln.

Sie dient ausschließlich der Kalibrierung des analytischen Grundverfahrens (Analysenprinzip) und gibt Auskunft insbesondere in der organischen Wasseranalytik über den linearen Arbeitsbereich des Detektors, die Retentionszeiten und das relative Ansprechverhalten der zu bestimmenden Verbindungen. In Verbindung mit der Wiederfindungsrate kann sie zur Quantifizierung einzelner Komponenten dienen. In einigen Normen wird auch der Begriff "Gerätekalibrierung" oder "Kalibrierung mit externem Standard, nicht über das Gesamtverfahren" benutzt.

Wenn die Stabilität des Messverfahrens hoch ist (keine Drift, zeitliche Stabilität der Messwerte, gleichbleibende Empfindlichkeit etc.) kann ggf. für einen längeren Zeitraum mit der Grundkalibrierung gearbeitet werden; unabdingbar aber ist eine arbeitstägliche Kontrolle der Grundkalibrierung mit mindestens zwei Massenkonzentrationen (20% und 80% des Arbeitsbereiches) oder die Messung einer Kontrollprobe mit 50% der maximalen Arbeitsbereichs-Massenkonzentration.

Die Grundkalibrierung führt zu engeren Vertrauensbändern als die Kalibrierung über das Gesamtverfahren. Deshalb ist die Angabe des Vertrauensbereiches des Ergebnisses für reale Proben entweder aus der Spannweitenregelkarte oder aus unabhängigen Mehrfachanalysen zu ermitteln.

### 5.1.2 Kalibrierung mit externem Standard über das Gesamtverfahren

Die Kalibrierung über das Gesamtverfahren umfasst im Gegensatz zur Grundkalibrierung auch die Probenvorbereitungsschritte und beinhaltet somit auch die daraus resultierenden zufälligen Verfahrensfehler. Deshalb ist der Vertrauensbereich für reale Proben aus der Gesamtkalibrierung ermittelbar.

Die Gesamtkalibrierung kompensiert ebenfalls systematische Mehr- oder Minderbefunde. Deshalb entfällt die Korrektur über die Wiederfindungsrate.

Eine arbeitstägliche Überprüfung der Kalibrierung mit mindestens zwei Massenkonzentrationen (20% und 80% des Arbeitsbereiches) ist erforderlich.

Bei Matrixeinflüssen muss mit matrixangepassten Bezugslösungen oder Wiederfindungskorrekturen gearbeitet werden. Voraussetzung ist, dass die laborinternen Wiederfindungsraten der zu bestimmenden Komponenten bekannt, ausreichend hoch und reproduzierbar sind.

## 5.2 Kalibrierung mit internem Standard

Der interne Standard darf weder zum analytisch zu bestimmenden Stoffumfang gehören, noch in der Probe vorhanden sein (bzw. nur in vernachlässigbarer Konzentration, z.B. <0,1% der zugesetzten internen Standardkonzentration).

Der interne Standard sollte sich in seinen für die jeweilige analytische Methode relevanten chemisch-physikalischen Eigenschaften ähnlich verhalten wie die zu bestimmenden Komponenten[1]. Die zugesetzte Menge des internen Standards soll zur Kompensation konzentrationsabhängiger Effekte so bemessen sein, dass seine Konzentration möglichst etwa der mittleren Konzentration der zu bestimmenden Komponente in den zu messenden Proben entspricht und zur niedrigsten zu bestimmenden Konzentration das Verhältnis 10:1 nicht überschritten wird. Zur Kompensation nicht konzentrationsabhängiger Effekte, insbesondere bei Analysemethoden mit sehr großem dynamischen Messbereich, sollte die Konzentration des internen Standards so gewählt werden, dass dessen Signalintensität im optimalen Messbereich liegt.

Bei Mehrkomponentenverfahren (z.B. GC, HPLC, ICP-MS) bringt häufig der Einsatz mehrerer interner Standards Vorteile, da damit ein ähnliches chemisch-physikalisches Verhalten von Analyten und internem Standard eher erreichbar ist.

So sind z.B. Homologe als interne Standards geeignet. Besonders vorteilhaft ist die Verwendung der gleichen, jedoch aus anderen Isotopen aufgebauten Verbindung in der GC und bei der massenspektrometrischen Detektion (z.B. deuterierte oder C-13-Standards bei der GC/MS) [2].

Interne Standards können an verschiedenen Stellen während des Analysenverfahrens zugesetzt werden, um bestimmte im Verlauf der Probenvorbereitung und der Messung auftretende Fehler zu korrigieren.

Bei der Kalibrierung mit internem Standard werden die Verhältnisse der Messwerte der jeweiligen Analyten zu denen des jeweiligen internen Standards zur Ermittlung der Kalibrierfunktion und der Verfahrenskenngrößen verwendet.

### 5.2.1 Grundkalibrierung mit internem Standard

Bei der Grundkalibrierung mit internem Standard [3] werden zur Messlösung die gleichen bekannten Mengen eines oder mehrerer Standards zugesetzt. Er dient ausschließlich dazu, Ungenauigkeiten z.B. bei der Probenaufgabe, Änderungen der Detektorempfindlichkeit, Signaldepressionen, Retentionszeitverschiebungen oder Viskositätsänderungen auszugleichen [4].

### 5.2.2 Kalibrierung mit internem Standard über das Gesamtverfahren

Bei dieser Art der Kalibrierung können die internen Standards zugesetzt werden :

- bei der Probenahme zur Kontrolle von Verlusten bei Konservierung, Transport und Lagerung
- zu Beginn der Aufarbeitung zum Ausgleich der Fehler im gesamten Verfahren
- während einzelner Aufarbeitungsschritte zur Korrektur der nachfolgenden Fehler, z.B. des Verlustes bei Probenaufschluss oder Extraktion

### 5.3 Standardaddition

Die Standardaddition ist das Kalibrieren in der Matrix der Probe durch Zugabe verschiedener bekannter Mengen des Analyten. Sie ist dann anzuwenden, wenn durch Matrixeinflüsse Störungen auftreten, die die Steigung der Bezugsfunktion der Kalibrierung mit externem Standard verändern (proportional systematische Abweichungen oder multiplikative Fehler) [1,5]. Konstant systematische Abweichungen oder additive Fehler [5] können mit Hilfe der Standardaddition nicht korrigiert werden, weil sie unabhängig von der Konzentration des Analyten sind. Diese sind nur durch Anwendung unabhängiger Analyseverfahren oder mit zertifizierten Referenzmaterialien zu erkennen und zu beheben.

Eine ausreichende Präzision im Routinebetrieb ist mit 3 - 5 Aufstockungen im Verhältnis 1:2:3 gewährleistet. Die Konzentration des Analyten in den aufgestockten Lösungen darf nicht außerhalb des Arbeitsbereiches der linearen Kalibrierfunktion liegen. Die Notwendigkeit, eine Konzentration im deutlichen Überschuss über die Ausgangskonzentration in der Probe aufzustocken, bedeutet, dass beim Einsatz der Standardaddition der Arbeitsbereich eingeschränkt ist. Selbst bei optimierten Zusätzen des Analyten kann sich der benutzbare Arbeitsbereich auf 25% der oberen Arbeitsbereichsgrenze der externen Kalibrierung verkleinern.

Voraussetzungen für eine Standardaddition sind:

1. Der dotierte Analyt verhält sich in Bezug auf das analytische Verfahren genauso, wie der in der Probe vorhandene Analyt
2. Varianzenhomogenität sollte über den gesamten Bereich der Kalibrierkurve in der Probenmatrix gegeben sein, d.h. gleiche Streuung der Messwerte über den gesamten Massenkonzentrationsbereich.
3. Es muss im angewendeten Konzentrationsbereich Linearität bestehen.

Berechnung der Konzentration, graphische Darstellung und Durchführung: siehe Anhang 1

## 6 Durchführung der Kalibrierung

Der erforderliche Kalibrieraufwand hängt von der analytischen Fragestellung und der notwendigen Präzision ab.

Für die Erarbeitung eines neuen Analyseverfahrens muss zunächst eine Grundkalibrierung mit externem oder internem Standard bzw. eine Kalibrierung über das Gesamtverfahren gemäß DIN 38402-A51 durchgeführt werden.

Entsprechend DIN 38402-A51 und DIN 32645 werden folgende Arbeitsschritte durchgeführt:

1. Festlegung und Absicherung des Arbeitsbereiches
2. Überprüfung der Varianzenhomogenität
3. Linearitätstest
4. Ausreißertest
5. Ermittlung der Verfahrenskenndaten
6. Ermittlung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen (DIN 32 645)

Nachfolgend werden Hinweise und Ergänzungen zu obengenannten Punkten gegeben:

### 6.1 Festlegung und Absicherung des Arbeitsbereiches

Der Arbeitsbereich der Kalibriergeraden sollte sich grundsätzlich an den in der Praxis häufig vorkommenden Konzentrationen in realen Proben orientieren. Es empfiehlt sich zunächst, eine Massenkonzentrationsdekade zu wählen. Nach DIN 38402-A51 wird empfohlen, 10 Kalibrierstandards (mindestens 5) äquidistant über den Arbeitsbereich zu verteilen und diese zur Aufnahme der Kalibrierfunktion zu messen. Wird der äquidistante Abstand nicht eingehalten, können sich folgende Größen ändern:

- der Mittelwert der Kalibrierkonzentrationen und der dazugehörige Informationswert (entsprechen nicht mehr der Mitte des Arbeitsbereiches)

- die Vertrauensbänder und der Vertrauensbereich
- die Verfahrensstandardabweichung (bei einem nach oben verschobenen Mittelwert der Kalibrierkonzentration erhält man im Regelfall eine kleinere relative Verfahrensstandardabweichung; ein nach unten verschobener Mittelwert der Kalibrierkonzentration ergibt eine größere relative Verfahrensstandardabweichung)

## 6.2 Überprüfung der Varianzenhomogenität

Ist die Homogenität nicht gegeben, sollte geprüft werden, ob der Arbeitsbereich verkleinert werden kann und dann Varianzenhomogenität vorliegt. Wenn die Veränderung des Arbeitsbereiches nicht sinnvoll ist, können einerseits aufwendige und komplexere statistische Methoden angewandt werden, z.B. gewichtete Regression oder multiple-curve-fitting. Andererseits ist es auch möglich, trotz Varianzeninhomogenität zu kalibrieren. Ist Varianzenhomogenität nicht gegeben, ist zu beachten, dass das Analyseergebnis, das mit dieser Kalibrierfunktion ermittelt wurde, mit einer größeren Unpräzision behaftet ist (größerer Vertrauensbereich mit Auswirkung auf z.B. die Schätzung der Nachweisgrenze).

## 6.3 Linearitätstest

Nach Möglichkeit sollte mit linearen Kalibrierfunktionen gearbeitet werden. Ist die Funktion nicht linear, muss entweder der Arbeitsbereich soweit eingeschränkt werden, dass sich eine lineare Kalibrierfunktion ergibt oder mit einer Kalibrierfunktion 2. Grades gearbeitet werden [6, 7].

Die Linearität der Kalibrierfunktion kann mit einem Linearitätstest rechnerisch geprüft werden. Hierzu eignen sich der Anpassungstest nach Mandel [1] oder die Residualanalyse [1]. Eine graphische Überprüfung der Linearität soll in jedem Fall erfolgen.

## 6.4 Ausreißertest

Kalibrierdaten müssen ausreißerfrei sein. Die Prüfung hierauf kann z.B. mit Hilfe der Residualanalyse [1] erfolgen. Falls Ausreißer bei den Kalibrierdaten ermittelt werden, muss nach der Fehlerursache gesucht, der Ausreißer entfernt bzw. neu kalibriert werden.

## 6.5 Ermittlung der Verfahrenskenngrößen

Nach Festlegung des jeweiligen Arbeitsbereiches werden die Verfahrenskenngrößen:

- Reststandardabweichung
- Verfahrensstandardabweichung
- Steigung und Ordinatenabschnitt der Kalibrierfunktion

nach DIN 38402-A51 ermittelt.

Die Reststandardabweichung quantifiziert die Streuung der Messwerte um die Kalibriergerade. Die Verfahrensstandardabweichung bringt die Reststandardabweichung in Beziehung zur Steigung der Kalibrierfunktion. Sie ist das Maß für die Güte des Analysenverfahrens und bietet die Möglichkeit, auch Analysenverfahren mit unterschiedlichen Arbeitsbereichen zu vergleichen.

## 6.6 Ermittlung von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

### 6.6.1 Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze ist derjenige Gehalt eines Analyten, der unter der Verwendung der ermittelten Kalibrierfunktion dem kritischen Wert (bei vorgegebener statistischer Sicherheit ermittelter Unterscheidungswert von Leerprobe und Bestandteil der Probe) der Messgröße zugeordnet werden kann. Sie ist eine Entscheidungsgrenze für das Vorhandensein eines Bestandteiles.

In der Praxis heißt das zu entscheiden, ob ein Messsignal aus einer Probe mit einer sehr kleinen Analytkonzentration sich von den möglichen Leerwerten unterscheidet und mit Hilfe der Kalibrierfunktion die

zugehörige Konzentration berechnet werden kann. Als Entscheidungshilfe gibt es die folgenden Möglichkeiten:

1. statistische Schätzung mit Hilfe der Berechnungsmethoden nach DIN 32 645 mit den darin zugelassenen Möglichkeiten (Gleichung 8, 9, 15, 16 mit freier Wahl von  $\alpha$  und  $f$ ) entsprechend des durchgeführten Kalibrier- bzw. Messdesigns
2. Schätzung über die grafische Ermittlung des Signal/Rausch-Verhältnisses
3. andere dokumentierte Schätzmethoden

In der Spurenanalytik ist es üblich, unter anderem den analytischen Verfahrensparameter Nachweisgrenze zum Vergleich der Leistungsfähigkeit verschiedener Laboratorien oder verschiedener analytischer Verfahren zu verwenden. Wegen der großen Schwankungsmöglichkeiten bei der Schätzung der Nachweisgrenze nach den o. g. Methoden müssen die durch Schätzung ermittelten Werte für die Nachweisgrenze durch reale Messungen kontrolliert werden. Somit kann auch eine Vergleichbarkeit der Nachweisgrenze gewährleistet werden.

*Kontrolle der durch Schätzung ermittelten Nachweisgrenze:*

Je nachdem, ob die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens oder des analytischen Messverfahrens angegeben werden soll, müssen die entsprechenden Leerwertlösungen auf die geschätzte Nachweisgrenzenkonzentration  $n$ -mal ( $n > 3$ ) dotiert werden. Die Analyse der dotierten Leerwertlösungen muss dann Messsignale erzeugen, deren Mittelwert sich von den gesondert ermittelten Signalen der undotierten Leerwertlösungen unterscheidet.

### 6.6.2 Erfassungsgrenze

Die Erfassungsgrenze ist der kleinste Gehalt eines Analyten, bei dem mit festgelegter Wahrscheinlichkeit ein Nachweis möglich ist. Die Erfassungsgrenze liegt um die Breite des Prognoseintervalls oberhalb der Nachweisgrenze.

Hier heißt es zu entscheiden, ob die Konzentration oder Menge eines Analyten immer ausreicht, ein Messsignal zu erzeugen, das sich von den möglichen Leerwerten unterscheidet (Irrtumrisiko erster und zweiter Art).

Bei Anwendung der o. g. Kontrolle der durch Schätzung ermittelten Nachweisgrenze kann die Erfassungsgrenze als doppelte Nachweisgrenze bestimmt werden.

### 6.6.3 Bestimmungsgrenze

Die Bestimmungsgrenze ist der kleinste Gehalt eines Analyten, der noch quantitativ mit einer festgelegten Präzision bestimmt werden kann. Es ist der Gehalt, bei dem unter Zugrundelegung einer festgelegten Wahrscheinlichkeit die relative Ergebnisunsicherheit, definiert als Quotient aus dem halben zweiseitigen Prognoseintervall und dem zugehörigen Gehalt, einen vorgegebenen Wert annimmt. Die Bestimmungsgrenze ist größer als die Erfassungsgrenze.

Für die Schätzung der Bestimmungsgrenze sollte die iterative Methode nach DIN 32 645 Gleichung (14) mit der relativen Ergebnisunsicherheit  $k=2$  oder  $k=3$  und  $\alpha=0,05$  angewendet werden.

Bei der Schätzung aus der Nachweisgrenze entsprechend DIN 32 645 Gleichung (14) ohne Iteration ist nach Pkt. 6.6.1 die kontrolliert bestimmte Nachweisgrenze einzusetzen.

*Kontrolle der durch Schätzung ermittelten Bestimmungsgrenze:*

Sollen Bestimmungsgrenzen verglichen werden, müssen die geschätzten Bestimmungsgrenzen durch reale Messungen verifiziert werden. Je nachdem, ob die Bestimmungsgrenze des Gesamtverfahrens oder des analytischen Messverfahrens angegeben werden soll, muss die Matrix- oder die Bezugslösung mit der geschätzten Bestimmungsgrenzenkonzentration dotiert werden. Das Vertrauensintervall der  $n$  ( $n > 3$ ) Parallelbestimmungen dieser Proben mit  $\alpha = 0,05$  darf dann nur die Hälfte bzw. bei  $k=3$  nur ein Drittel der Bestimmungsgrenzenkonzentration betragen.

## 7 Kontrolle der Kalibrierung in der Routineanalytik

Ausgehend von den entwickelten Analysenverfahren und den darin enthaltenen Kalibrierverfahren (s. Punkt 5) muss in der Routineanalytik arbeitstäglich die Gültigkeit der Kalibrierung überprüft werden. Dazu müssen in geeigneten Abständen in der Messsequenz unabhängig von der Kalibrierung Kontrollproben analysiert werden.

Es bieten sich zwei Möglichkeiten an:

- a) Überprüfung der Gültigkeit der Kalibrierung mit zwei Kalibrierlösungen (20% und 80% der maximalen Arbeitsbereichs-Massenkonzentration).  
Liegen die beiden Kontrollen innerhalb des Vertrauensbandes der Kalibrierung, ist mit der ursprünglichen Kalibrierung weiterzuarbeiten. Liegen eine oder beide Kontrollen außerhalb des Vertrauensbandes, ist neu zu kalibrieren. Mit dieser Zwei-Punkt-Kalibrierung darf nur gearbeitet werden, wenn die resultierende Unsicherheit in Relation zur Gesamtunsicherheit des Verfahrens akzeptabel ist.
- b) Messung einer unabhängigen Kontrollprobe mit etwa 50% der maximalen Arbeitsbereichs-Massenkonzentration.  
Bei Überschreitung der Ausschlussgrenzen der entsprechenden Kontrollkarte ist eine neue Kalibrierung zu erstellen und die Analyse der Proben zwischen dieser und der vorherigen Kontrollmessung zu wiederholen.

Die arbeitstägliche Kontrolle der Kalibrierung gemäß a) ist vor Beginn jeder Messserie durchzuführen.

In Abhängigkeit von der Stabilität des Verfahrens ist die Messung einer Kontrollprobe gemäß b) in geeigneten Abständen innerhalb einer Messserie und an deren Ende vorzunehmen.

Die Ergebnisse dieser Kontrollmessungen sind in geeigneter Form zu dokumentieren (z.B. Mittelwert- oder Zielwertkontrollkarten).

## 8 Auswertung der analytischen Messwerte und Angabe der Ergebnisse

### 8.1 Auswertung der analytischen Messwerte

Die Auswertung der Rohdaten und analytischen Messergebnisse erfolgt nach verfahrensabhangigen Auswertevorschriften. Dabei sollten alle auftretenden Störungen und Korrekturen berücksichtigt werden. Sofern der Auswertemodus nicht in den entsprechenden Normen vorgeschrieben ist, muss dies dokumentiert werden.

### 8.2 Angabe der Ergebnisse

Die Angabe der Ergebnisse schließt neben dem Gehalt der Probe die Angabe zur Probenherkunft, Bezeichnung, Probenaufbereitung und des angewandten Analysenverfahrens ein.

Im Allgemeinen wird die Angabe der Analyseergebnisse mit der gültigen Maßeinheit und der Zahl der signifikanten Stellen in den entsprechenden Normen festgelegt. Ist dies nicht der Fall, sollte je nach Anforderung an die Analyse dies aus der Ergebnisunsicherheit abgeleitet werden. Die aus dem genutzten Analysenverfahren erreichte Präzision der Ergebnisse lässt sich abschätzen aus:

- dem Vertrauensbereich der Kalibrierfunktion des Gesamtverfahrens
- dem Mittelwert unabhängiger Mehrfachbestimmungen einer Probe
- dem genutzten Qualitätssicherungssystem, wie z.B. der Spannweitenkontrollkarte

Werden in der Probe Gehalte ermittelt, die unter der gültigen Bestimmungsgrenze des Verfahrens liegen, so ist als Ergebnis  $<$  Bestimmungsgrenze (z.B.  $<0,1$ ) anzugeben.

## 9 Literatur

- [1] W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert,  
Qualitätssicherung in der analytischen Chemie VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1992)
- [2] ENV 13530,  
Richtlinie zur analytischen Qualitätssicherung in der Wasseranalytik (1997)
- [3] Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement  
(Draft for Distribution by IUPAC) (1997)
- [4] DIN 38406-E22 und DIN EN ISO 11885,  
Bestimmung von 33 Elementen durch induktiv gekoppelte Plasma-Atom-Emissionsspektrometrie (April 1998)
- [5] W. Funk, V. Dammann, C. Vonderheid, G. Oehlmann,  
Statistische Methoden in der Wasseranalytik, Begriffe, Strategien, Anwendungen  
VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim (1985)
- [6] K. Doerffel,  
Statistik in der analytischen Chemie,  
Verlag für Grundstoffindustrie (1982) 5. Auflage, Leipzig 1990
- [7] DIN ISO 8466-2,  
Kalibrierung und Auswertung analytischer Verfahren und Beurteilung von Verfahrenskenndaten – Teil 2: Kalibrierstrategie für nichtlineare Kalibrierfunktionen zweiten Grades  
(ISO 8466-2: 1993) (September 2000)



## Anhang 1

## Berechnung der Konzentration nach Anwendung des Standardadditionsverfahrens

In einer Probe soll die zu analysierende, unbekannte Konzentration des Analyten  $x_A$  enthalten sein. Der Analyt in dieser Probe verursacht bei einer Messung das Signal  $y_A$ .

### Die allgemeine lineare Kalibrierfunktion

$$y = a + bx \quad (1)$$

wird mit  $a=0$  (keine konstant systematischen Abweichungen) zu

$$y = bx \quad (2)$$

Die Konzentration des Analyten  $x_A$  kann dann mit Hilfe der Gleichung

$$x_A = \frac{y_A}{b} \quad (3)$$

ermittelt werden.

Aus der Standarddotierung und den zugehörigen Signalen ermittelt man mit Hilfe der linearen Regression den Anstieg  $b$  der Kalibriergerade in der Probenmatrix (siehe Abbildung). Dieser Anstieg  $b$  ist spezifisch für den Analyten in der Probenmatrix. Der Achsenabschnitt der Kalibriergerade in der Probenmatrix  $a$  entspricht dann auch dem Signal der undotierten Probe  $y_A$ , so dass  $x_A$  auch nach der folgenden Formel berechnet werden kann:

$$x_A = \frac{a}{b} \quad (4)$$

Die Ermittlung von Analyseergebnissen mit Hilfe der Standardaddition führt im Vergleich mit der direkten Ermittlung über die externe Kalibrierung häufig zu einer größeren Standardabweichung, da aus Gründen der Aufwandsreduzierung nicht so viele Kalibrierpunkte und Parallelbestimmungen einbezogen werden, wie für eine externe Kalibrierung, deren Bezugsfunktion für sehr viele Proben verwendet wird.

Die Standardabweichung von  $x_A$  ( $s_{x_A}$ ) hängt von der Standardabweichung von  $y_A$  ( $s_{y_A}$ ) (berechnet aus den Parallelbestimmungen der unaufgestockten Probe  $s_{y_A}$  oder als Standardabweichung des Achsenabschnitts  $a$  aus der Kalibriergeraden in der Probenmatrix  $s_a$ ) und der Standardabweichung von  $b$ ,  $s_b$  (berechnet aus der Kalibriergeraden in der Probenmatrix) ab.

Nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung für näherungsweise unabhängige Fehler addieren sich die Varianzen der Relativfehler zur relativen Gesamtvarianz.

$$\left(\frac{s_{x_A}}{x_A}\right)^2 = \left(\frac{s_{y_A}}{y_A}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 \quad (5)$$

Die Standardabweichung der durch Standardaddition ermittelten Konzentration des Analyten  $s_{x_A}$  kann dann wie folgt berechnet werden:

$$s_{x_A} = x_A \cdot \sqrt{\left(\frac{s_a}{y_A}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2} \quad (6)$$

oder

$$s_{x_A} = x_A \cdot \sqrt{\left(\frac{s_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2} \quad (7)$$

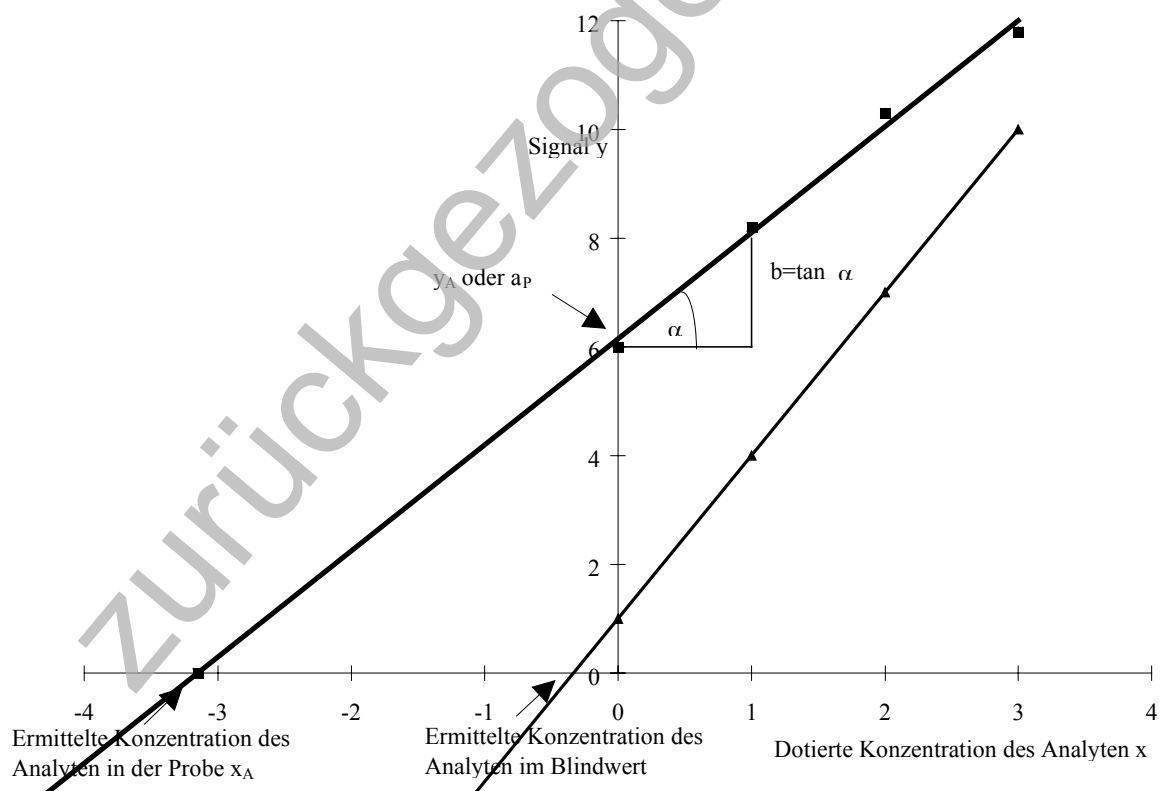
wobei

$$s_a = \sqrt{\frac{s_b^2}{m} \sum x_i^2} \quad (8)$$

$$s_b = \sqrt{\frac{\sum_1^m (y_i - \hat{y}_i)^2}{(m-2) \sum_1^m (x_i - \bar{x})^2}} \quad (9)$$

### Graphische Darstellung

Die Konzentration des Analyten kann auch graphisch (siehe Abbildung – Beispiel mit 3 Dotierungen) ermittelt werden; sie ergibt sich durch Extrapolation der Kalibrierfunktion bis zum Schnittpunkt mit der x-Achse bei  $y=0$  als negativer Ordinatenabschnitt.



**Durchführung**

1. Teilung der Probe in 4 bis 6 Aliquote
2. Dotierung von 3 bis 5 äquidistanten Konzentrationsstufen des Analyten zu den Teilproben, dabei ist darauf zu achten, dass die Konzentration der Matrix gleich bleibt (gleiche Endvolumina der dotierten und undotierten Teilproben) und der lineare Kalibrierbereich nicht überschritten wird.
3. Registrierung der analytischen Signale der undotierten und der dotierten Teilproben
4. Ermittlung der Parameter der Regressionsgeraden (Kalibriergerade in der Probenmatrix)
5. Berechnung von  $x_A$  und  $s_{x_A}$
6. Subtraktion von gesondert, ggf. auch durch Standardaddition, bestimmten Blindwerten.

Beispiel: (siehe Abbildung – Beispiel mit 3 Dotierungen)

Dotierte Konzentration	Analytisches Signal
0	6,0
1	8,2
2	10,3
3	11,8

$$b = 1,95 \quad a_p = 6,15$$

$$s_b = 0,116 \quad s_{a_p} = 0,217$$

$$x_A = 3,15$$

$$s_{x_A} = 0,218$$