

Bestimmungsgrenze ist nicht gleich Bestimmungsgrenze

Volkmar Neitzel, Essen

Die meisten der im Einsatz befindlichen Analysenverfahren basieren auf kalibrierten Messgeräten [1 bis 3], wobei sich im Rahmen der Kalibrierung ein Arbeitsbereich ergibt, in dem die zu messenden Werte liegen müssen. Das obere Ende des Messbereichs ist der höchste Kalibrierungspunkt, das untere der niedrigste Kalibrierungspunkt oder die Bestimmungsgrenze (BG), wenn diese über dem niedrigsten Kalibrierungspunkt liegt. In der DIN 32645 [4] wird beschrieben, wie die Bestimmungsgrenze zu ermitteln ist. Da die Norm dem Anwender viele Freiheiten bei der Berechnung gibt, können bei gleichen Kalibrierungspunkten sehr unterschiedliche Bestimmungsgrenzen resultieren.

Grundlagen

Wird ein Analysenverfahren kalibriert, so erhält man einen funktionalen Zusammenhang zwischen der Messgröße, die das verwendete Gerät liefert (zum Beispiel ein Potential, eine Peakfläche, einen Chemikalienverbrauch und so weiter), und der interessierenden Gehaltsgröße. Auch bei einer nicht linearen Funktion liegen die Messpunkte nicht exakt auf der Ausgleichsfunktion. Bei einer wiederholten Messung von Kalibrierungspunkten stellt man darüber hinaus fest, dass die Werte streuen. Aus diesem Grund existiert um die Kalibrierungsfunktion ein Vertrauensband, das die Unsicherheit der Messungen kennzeichnet. Selbst der Leerwert streut um einen zentralen Punkt. Die DIN 32645 – sie gilt nur für lineare Kalibrierungsfunktionen, Varianzenhomogenität (vergleichbare Wertestreuungen am oberen und unteren Ende des Arbeitsbereichs) und Normalverteilung der Wertestreuung, die aber in der Praxis häufig vorliegen – quantifiziert den Zusammenhang

Der Autor:

Dr. Volkmar Neitzel studierte Chemie an der GH/UNI Essen und ist seit 1984 als Mitarbeiter beim Ruhrverband in Essen beschäftigt, derzeit als Bereichsleiter für zentrale Aufgaben. Er ist Autor und Mitautor mehrerer Fachbücher zur Labordatenverarbeitung, zur Qualitätssicherung in der Analytik und zur Technik der Behandlung und Kontrolle von Abwasser. Seit rund zehn Jahren fungiert er als Lehrbeauftragter an der Technischen Fachhochschule Agricola in Bochum für Umweltchemie und Wassertechnologie.



und gibt ein Verfahren an, um die Bestimmungsgrenze zu berechnen.

Da die Leerwerte bei wiederholter Messung streuen, gibt es durchaus solche, deren Messwert im Einzelfall identisch ist mit einem Messwert für einen sehr geringen Gehalt. Nur bei häufigen Wiederholungen, die in der Praxis zu nicht vertretbaren Kosten führen würden, könnte man feststellen, dass sich die Mittelwerte beider Verteilungen unterscheiden. Es bedarf also der Statistik und definierter Unterscheidungsgrenzen, damit sich ein ermittelter Gehalt von einem Leerwert unterscheiden lässt. Als Obergrenze für den Leerwert nimmt man beispielsweise den Messwert, der nur von 5% aller Leerwerte überschritten wird (kritischer Wert). Ein Gehalt, dessen wiederholte Messwerte zu je 50% diese Obergrenze über- bzw. unterschreiten, kennzeichnet die Nachweisgrenze (NG). Ab hier gilt eine Komponente als vorhanden aber nicht quantifizierbar. Ein Gehalt, dessen Messwerte zu 95% die Obergrenze überschreiten, charakterisiert die Erfassungsgrenze (EG), die doppelt so hoch liegt wie die Nachweisgrenze. Oberhalb der EG gelten Komponenten als vorhanden und quantifizierbar.

Die Bestimmungsgrenze – sie orientiert sich nicht an Mess- sondern Gehaltsgrößen – ist definiert als der Gehalt, bei dem unter Zugrundelegung einer festgelegten Wahrscheinlichkeit die relative Ergebnisunsicherheit, definiert als der Quotient aus dem halben zweiseitigen Prognoseintervall und dem zugehörigen Gehalt, einen vorgegebenen Wert annimmt. Was heißt das?

Bei wiederholter Messung eines Gehaltes erhält man eine Standardabweichung als Maß seiner Streuung. Diese wird mit einem Tabellenwert der t-Verteilung (zweiseitige Fragestellung) multipliziert, der von der gewählten statistischen Sicherheit (z. B. 95%) und der Zahl der Kalibrierungspunkte abhängt. Als weiterer Faktor kommt ein Wurzelausdruck hinzu, dessen Wert u. a. von der Zahl der Kalibrierungspunkte, der Zahl der Wiederholmessungen und seiner Entfernung von der Mitte des Arbeitsbereichs beeinflusst wird. Auf diese Weise ergibt sich rechnerisch die Unsicherheit des Messwertes ΔBG . Teil man diese Unsicherheit durch den Messwert selbst, erhält man die relative Unsicherheit $\Delta BG/BG$. Soll die relative Unsicherheit z. B. 1/3 (33%) betragen, ist der Gehalt zu ermitteln,

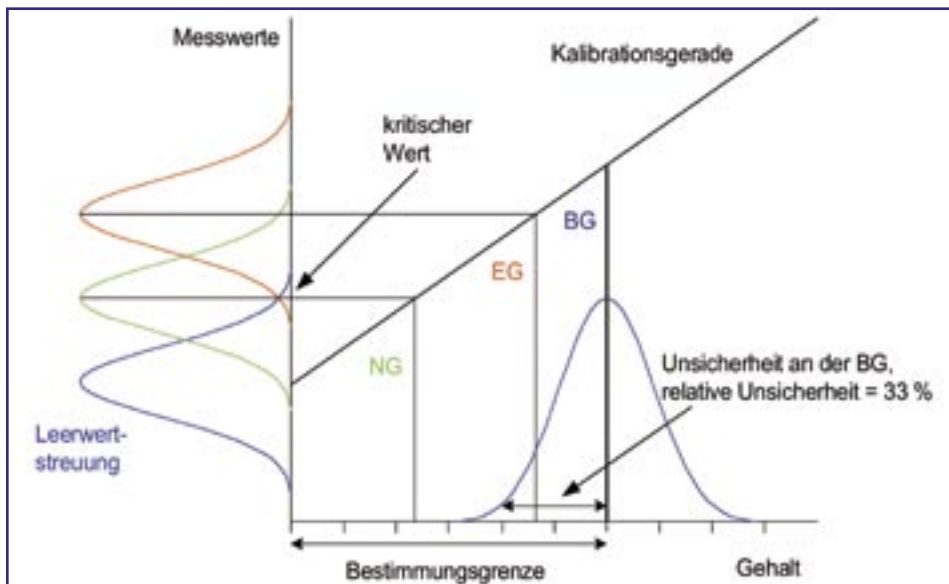


Abbildung 1: Visualisierung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze sowie des kritischen Wertes und der relativen Unsicherheit bei einer Kalibrierung.

bei dem seine Unsicherheit ein Drittel so groß ist, wie der Gehalt selbst ($\Delta BG/BG = 1/3$ oder $3 \Delta BG = BG$) Die statistische Sicherheit und das Maß der relativen Unsicherheit kann der Anwender selbst wählen. Einschränkend darf aber die Bestimmungsgrenze nicht kleiner als die Erfassungsgrenze sein. In Abbildung 1 ist der Sachverhalt dargestellt.

Allgemeiner Fall und Leistungsgrenze

In der Praxis ist das Analysenverfahren mit seinen Leistungsmerkmalen entweder gesetzlich vorgeschrieben oder ein Auftraggeber legt dieses fest. In manchen Fällen hat ein Labor auch die Freiheit ein geeignetes Verfahren so auszuwählen, dass die zu bestimmenden Gehalte in dessen Arbeitsbereich liegen. Aus den Kalibrierungsdaten lässt sich gemäß der DIN 32645 die Bestimmungsgrenze als weiteres Leistungsmerkmal des Verfahrens berechnen. Liegt sie unterhalb des niedrigsten Kalibrierungspunktes, kann der gesamte Arbeitsbereich für Messungen verwendet werden, denn er ist experimentell gesichert und alle Ergebnisse weisen eine ausreichend geringe relative Unsicherheit auf. Viele Fälle des Laboralltags bewegen sich in diesem Bereich. Falls man mehrere Konzentrationsbereiche verwendet, in denen jeweils die Kriterien für die Anwendbarkeit der Kalibrierungsfunktion gegeben sind (z. B. Varianzenhomogenität), tritt häufig der Effekt auf, dass bei höheren Gehalten größere Streuungen zu verzeichnen sind und sich daraus höhere Bestimmungsgrenzen ergeben. Zu kleineren Gehalten hin wird man dann immer niedrigere Bestimmungsgrenzen berechnen (Abbildung 2).

Solange die errechnete Bestimmungsgrenze unterhalb des niedrigsten Kalibrierungspunktes liegt, ist es legitim, sich dieser anzunähern. Bei genügend geringen Gehalten liegt aber die BG innerhalb der Kalibrierungspunkte und damit ist die Leistungsgrenze des Verfahrens erreicht. Unterhalb der BG dürfen

keine Messwerte für Gehaltsangaben verwendet werden, da sie nicht die erforderliche Ergebnissicherheit aufweisen.

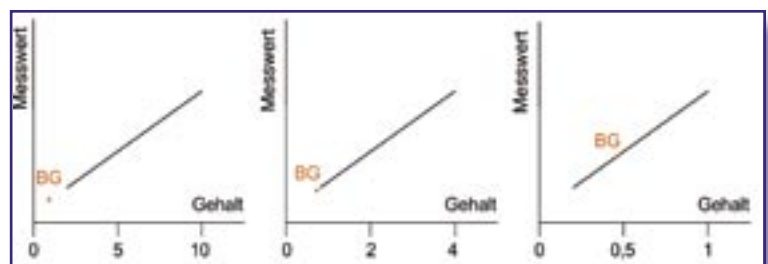
In der DIN 32645 wird darauf abgehoben, die Leistungsgrenze eines Messverfahrens zu ermitteln. Sie fordert sogar, dass die Nachweisgrenze um den Faktor 10 unterhalb des höchsten Kalibrierungspunktes liegen soll. Dadurch bedingt kann man allenfalls nur einen Teil des kalibrierten Bereichs (nämlich den oberhalb der BG) für Messzwecke nutzen.

Direkte und indirekte Methode

Bestimmungsgrenzen lassen sich aus Leerwerten und alternativ aus der Kalibrierungsgeraden berechnen. Stützt man sich auf Leerwerte, so bezeichnet man dies als direkte Methode, im anderen Fall als indirekte Methode. In beiden Fällen gehen charakteristische Größen der Kalibrierungsgeraden in die Berechnungen mit ein, jedoch stützen sich die Unsicherheiten von Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen bei der direkten Methode auf die Streuung der Leerwerte, die in der Regel geringer ist als die Reststandardabweichung.

In der Praxis sind beide Methoden durchzurechnen und es ist zu prüfen, ob sich gleichwertige Resultate ergeben. Trifft dies zu, bleibt es dem Anwender überlassen sich die für ihn besseren Grenzen auszusuchen. Bei signifikanten Differenzen ist das Ergebnis der di-

Abbildung 2: Abhängigkeit der Bestimmungsgrenze vom Arbeitsbereich.



Gehaltsgröße	Messwerte	Leerwerte
0,05	0,12	0,027
0,1	0,281	0,033
0,15	0,405	0,041
0,2	0,535	0,028
0,25	0,662	0,018
0,3	0,789	0,022
0,35	0,916	0,029
0,4	1	0,038
0,45	1,15	0,024
0,5	1,25	0,023

Tabelle 1: Ausgangsdaten der Kalibrierung.

rekten Methode maßgebend. Es gibt aber Messverfahren, bei denen die Unsicherheit des Leerwertes nicht bestimmt werden kann. Ist das der Fall, so muss auf die indirekte Methode zurückgegriffen werden.

Verifizierte Bestimmungsgrenze

Gemäß der DIN 32645 lässt sich die Bestimmungsgrenze berechnen und ist ein hypothetischer Wert (Schätzwert), auch wenn sich dieser aus praktisch ermittelten Daten ergibt. Auch wenn im Volksmund unter einer Schätzung eine grobe unsichere Angabe verstanden wird, verwendet man diesen Begriff für die berechnete Bestimmungsgrenze. Für die praktische Anwendung sollte – auch wenn dies mit einem Aufwand verbunden ist – die geschätzte BG experimentell überprüft, also verifiziert werden [5].

Zur Verifizierung der BG, die für das Gesamtverfahren oder auch nur für den Messvorgang erfolgen kann, ist die Matrix oder eine Bezugslösung mit dem geschätzten Gehalt der BG-Konzentration aufzudotieren und mehrfach (mindestens dreifach) zu messen. Die sich aus den Messwerten ergebende relative Messunsicherheit muss die Vorgaben erfüllen und gilt dann als verifiziert. In der Laborpraxis sollten nur verifizierte Bestimmungsgrenzen verwendet werden.

Es ist bekannt, dass die Matrix Einfluss auf eine Analysenergebnis nehmen kann und das in z. T.

Ordinatenabschnitt:	0,0275
Steigung:	2,4846
Korrelationskoeffizient:	0,9989
Bestimmtheitsmaß:	0,9978
Reststandardabweichung:	0,0188
Verfahrensstandardabweichung:	0,0076
relative Verfahrensstandardabw. in %:	2,7523

Tabelle 2: Verfahrenskenngrößen aus der Kalibrierung.

erheblichem Maße. Gerade bei geringen Gehalten, also nahe der Bestimmungsgrenze, macht sich dies besonders bemerkbar. Aus diesem Grund gibt es eine idealisierte BG, die aus matrixfreien Proben abgeleitet wird, und weitere, hiervon abweichende Bestimmungsgrenzen für jede Matrix. In der Regel liegen matrixbeeinflusste Bestimmungsgrenzen höher als die in matrixfreien Lösungen ermittelten. Im Sinne einer praktikablen Vorgehensweise sollten die zu untersuchenden Matrices in Gruppen ähnlicher Zusammensetzung zusammengefasst und für die einzelnen Gruppen Bestimmungsgrenzen ermittelt werden.

Beispiel

Anhand eines konkreten Beispiels soll aufgezeigt werden, wie bei gleichen Ausgangsdaten zur Kalibrierung doch sehr unterschiedliche Bestimmungsgrenzen resultieren, wenn unter Ausnutzung der Entscheidungsfreiheiten die DIN 32645 angewandt wird. In Tabelle 1 sind die Ausgangsdaten zusammengestellt. Die Varianzenhomogenität am oberen und unteren Ende des Arbeitsbereichs wurde überprüft und ist gegeben. Als statistische Sicherheiten werden – so die Norm – üblicherweise 95 % oder 99 % gewählt, was auch nachfolgend berücksichtigt wird. Hinsichtlich der relativen Messunsicherheit lässt die DIN 32645 Werte kleiner als 100 % zu, sofern die BG die EG nicht unterschreitet. Empfohlen werden 33 %. Im nachfolgenden Beispiel werden sowohl 50 % als auch 33 % berücksichtigt.

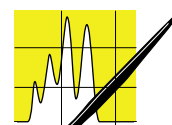
Tabelle 3: Errechenbare Bestimmungsgrenzen aus der Kalibrierung und den Leerwerten für unterschiedliche statistische Sicherheiten und relative Messunsicherheiten.

Statistische Sicherheit in %	Relative Ergebnisunsicherheit in %	BG errechnet aus Leerwerten	BG errechnet aus der Kalibration
95	33	0,024	0,061
95	50	0,016	0,041
99	33	0,035	0,087
99	50	0,023	0,059

Aus den Kalibrierungsdaten errechnen sich die in Tabelle 2 zusammengestellten Verfahrenskenngrößen, die wiederum Ausgangspunkt für die Berechnung der Bestimmungsgrenze sind. Da die Streuung der Leerwerte so groß ist, dass sich keine signifikanten Unterschiede bei der direkten und indirekten Methode zur Berechnung der BG ergeben, stehen beide Werte bei den unterschiedlichen statistischen Sicherheiten und relativen Messunsicherheiten zur Verfügung. In Tabelle 3 sind für die möglichen Varianten die errechenbaren Bestimmungsgrenzen zusammengestellt.

Die Tabelle 3 verdeutlicht das Problem, dass unterschiedliche Labors, die experimentell die gleichen Kalibrierungsdaten ermittelten, zu unterschiedlichen Bestimmungsgrenzen für das gleiche Messverfahren kommen, wenn sie – wie zugelassen – die DIN 32645 entsprechend ihrer Vorstellung auslegen. In dem hier aufgeführten Beispiel liegt zwischen der kleinsten und größten BG ein Faktor von mehr als 5. Ein Labor, das auf dem freien Markt seine Dienstleistungen anbietet, kann guten Gewissens eine BG von 0,016 angeben und gegenüber einem Mitbewerber besser dastehen, wenn dieser eine bessere Aussage-

sicherheit anstrebt. Hier sollte eine Vereinheitlichung zumindest für bestimmte Fragestellungen vorgenommen werden. Ehrlicherweise gehört zur Angabe der Bestimmungsgrenze als Leistungsmerkmal für ein validiertes Messverfahren auch die statistische Sicherheit und die relative Ergebnisunsicherheit an der BG.



AUFSÄTZE

Literatur

- [1] Neitzel, V.: Die Kalibrierung von Analysenverfahren, Teil 1: Lineare Kalibrierungsfunktionen. CLB 01/2002
- [2] Neitzel, V.: Die Kalibrierung von Analysenverfahren, Teil 2: Nicht lineare Kalibrierungsfunktionen. CLB 02/2002
- [3] Neitzel, V.: Die Kalibrierung von Analysenverfahren, Teil 3: Besondere Kalibrierungsfunktionen. CLB 03/2002
- [4] DIN 32645: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Mai 1994
- [5] Geiß, S. und Einax, J. W.: Comparison of detection limits in environmental analysis – is it possible? An approach on quality assurance in the lower working range by verification. Fresenius J. Anal Chem 370: 673-678 (2002)

Halten Sie ein Ökosystem mit Tieren und Pflanzen in Ihren Händen: Eine Glaskugel im ökologischen Gleichgewicht

Hellrote Garnelen, Mikroorganismen und Algen leben gemeinsam in Wasser mit Meerwasser-ähnlicher Salzkonzentration. Sie sind vollständig von Glas umschlossen; es findet kein Gas- oder anderer Stoffaustausch mit der Umwelt außerhalb des Glases statt! Triebfeder für das Leben im Glas ist einzig das eingestrahlte Licht.



Winzige Algen, zum Teil an getrockneten Gorgonien, erzeugen aus Kohlendioxid Sauerstoff. Dazu benötigen sie Lichtenergie. Die Garnelen atmen den Sauerstoff und fressen Algen sowie im Wasser vorhandene Bakterien. Diese wiederum formen die tierischen Abfallstoffe in Nährstoffe für die Algen um. Ebenso erzeugen Garnelen und Bakterien Kohlendioxid für die pflanzlichen Lebensformen...

In solch einer Ecosphere leben die Garnelen typischerweise zwei Jahre, können aber auch bis zu zehn Jahre alt werden. Dafür galt es beispielsweise, Garnelen zu finden, die sich nicht gegenseitig fressen. Auch jeder Besitzer einer Ecosphere muss das Gleichgewicht des Lebens im Auge behalten. So führt zuviel Licht zu starkem Algenwachstum – und darüber hinaus zu für die Garnelen unverträglichen pH-Werten im Wasser. Ebenso ist eine möglichst gleichmäßige Raumtemperatur nötig. Und direktes Sonnenlicht führt zu einem tödlichen Treibhauseffekt in der Miniwelt.

Wie Sie Ihre Ecosphere erhalten: Siehe letzte Seite dieser CLB!