

PRESTATIEKENMERKEN

1 DOEL EN TOEPASSINGSGBIED

Deze procedure vervangt de procedure CMA/3/Z van november 1999. Het toepassingsgebied is verruimd tot alle analysemethoden. De aanpak voor het onderzoek inzake de gelijkwaardigheid van methoden wordt niet meer opgenomen vermits een statistische benadering voor gelijkwaardigheid een aantal beperkingen inhoudt qua matrices, concentratiegebied, enz. Het oordeel van expert(en) is doorslaggevend voor de uitspraak inzake de gelijkwaardigheid van analysemethoden.

Analyseresultaten zijn slechts benaderingen van de ware waarde. De mate waarin analyseresultaten kunnen afwijken wordt gekwantificeerd met prestatiekenmerken. Zij weerspiegelen de prestatie (performantie) van een analysemethode onder verschillende omstandigheden. Het maatschappelijk belang van metingen maakt het noodzakelijk om voldoende inzicht te hebben in de mogelijkheden en beperkingen van de gebruikte analysemethoden.

De validatie van een analysemethode wordt gedefinieerd als het aantonen dat de (beschreven) analysemethode geschikt is voor de beoogde toepassing. Dit impliceert het vaststellen van de relevante prestatiekenmerken van de analysemethode en het evalueren van de geschiktheid voor het beoogde doel. Dit wordt in ISO 8402 als volgt verwoord: 'confirmation by examination and provision of objective evidence that the particular requirements for a specified intended use are fulfilled'. Hierbij dient vermeld te worden dat in de huidige praktijk er niet steeds duidelijkheid is betreffende externe eisen (uit regelgeving, contracten, ...) en de status ervan.

Methoden moeten gevalideerd worden telkens wanneer het nodig is om te verifiëren dat de prestatiekenmerken geschikt zijn voor toepassing bij een specifiek analytisch probleem. Dit is bijvoorbeeld zo voor nieuwe analysemethoden die met een bepaald doel ontwikkeld zijn, maar ook voor reeds gevalideerde analysemethoden die aangepast of uitgebreid worden, die blijkens de kwaliteitscontrole met de tijd veranderen, die in een ander laboratorium of door andere analisten of met andere apparatuur gebruikt worden, De verkregen prestatiekenmerken zijn daarom alleen geldig voor het desbetreffende laboratorium, en de uitvoeringsomstandigheden (analysemethode, ...) dienen hierbij te zijn vastgelegd. De uitgebreidheid van een (her)validatie hangt af van de mate van verandering. Eurachem en de nationale accreditatie-organismen zoals Belac stellen dat een minimale validatie steeds aangewezen is, ook indien een genormeerde analysemethode toegepast wordt.

Met betrekking tot de te valideren parameters kan men een onderscheid maken tussen kwalitatieve analysemethoden, kwantitatieve analysemethoden op hoog concentratieniveau en kwantitatieve analysemethoden op laag concentratieniveau. De meerderheid van de milieu-analysemethoden behoren tot laatstgenoemde categorie en bijgevolg is deze procedure ook hoofdzakelijk op dit type methoden gericht. Algemeen dient bij dergelijke validatie steeds maximale aandacht aan juistheid en precisie geschonken te worden en, indien relevant, ook aan de aantoonbaarheidsgrens.

Van elk validatieonderzoek wordt een apart rapport gemaakt, dat voldoet aan vooraf vastgelegde regels wat betreft opbouw, inhoud, beoordeling, goedkeuring en archivering.

Deze procedure behandelt enkel de intralaboratoriumvalidatie van analysemethoden voor fysische en chemische univariate grootheden. Voor de bepaling van prestatiekenmerken voor een groep van laboratoria worden o.a. in ISO 5725 procedures gegeven; de bepaling van dergelijke prestatiekenmerken vergt interlaboratoriumonderzoek.

2 TERMEN EN DEFINITIES

2.1 Juistheid (Eng: Trueness)

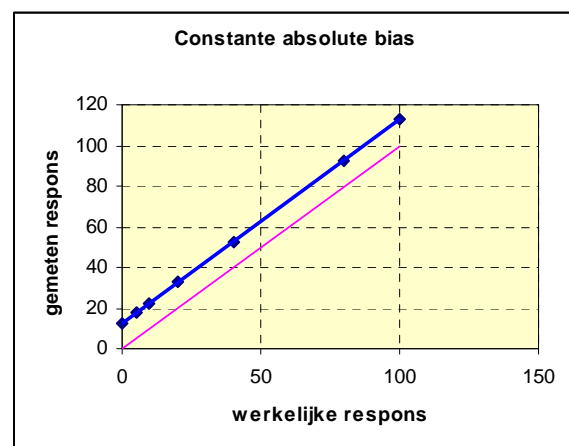
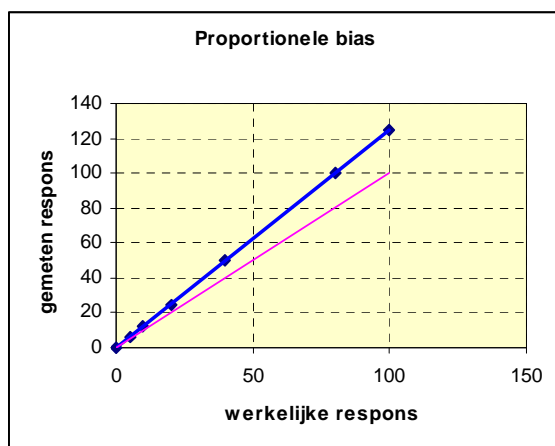
De juistheid van een analysemethode is de mate van overeenstemming tussen het gemiddelde van een reeks meetwaarden en de werkelijke waarde of de als werkelijk aangenomen waarde van de te bepalen grootte (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat voor de juistheid is de bias b , die dus overeenkomt met de (positieve of negatieve) systematische fout ¹.

De verwijzing van juistheid naar de term accuraatheid (Eng. Accuracy), nauwkeurigheid of een afgeleide ervan wordt door Eurachem ontraden. In hun meest gangbare betekenis omvatten deze termen een combinatie van 'random' componenten en de 'bias' component, en sluiten ze dus meer aan bij de term meetonzekerheid.

Met de term terugvinding T (Eng: Recovery) wordt de fractie van de component bedoeld die bij analyse wordt teruggevonden, na toevoeging onder gedefinieerde omstandigheden van een bekende hoeveelheid component aan het monster. In dit document worden terugvindingsexperimenten als één van de mogelijke werkwijzen voor bepaling van de juistheid van een analysemethode beschouwd en wordt geen systematisch onderscheid gemaakt tussen de termen juistheid en terugvinding.

In het geval een (referentie)methode wordt opgelegd voor het meten van een welbepaalde grootte, kan juistheid eveneens worden geïnterpreteerd als zijnde de mate van overeenstemming tussen de meetwaarde van het laboratorium en de als werkelijk aangenomen waarde van de te bepalen grootte met dezelfde methode (gewoonlijk volgend uit een interlaboratoriumvergelijking). In dit geval spreekt men van de bias ten opzichte van een methodegemiddelde. De keuze van de te rapporteren bias dient uit de context van de analyse-aanvraag duidelijk te zijn, en zondig afgesproken te worden met de klant.

Er kan verder een opsplitsing gemaakt worden tussen twee gevallen van bias, namelijk constante absolute bias en proportionele bias. Bij proportionele bias is de relatieve afwijking op ieder concentratieniveau constant en wordt deze procentueel uitgedrukt. In het geval van absolute constante bias is de afwijking op ieder concentratieniveau, absoluut uitgedrukt, even groot. Onderstaande grafieken verduidelijken beide gevallen van juistheidseffecten ten opzichte van het ideale geval (diagonaal). Voor hogere gehalten overheerst het proportionele deel van de juistheid meestal het constante deel. Voor gehalten nabij de aantoonbaarheidsgrens spelen proportionele juistheidseffecten een ondergeschikte rol.



2.2 Precisie (Eng.: Precision)

¹ In principe is de systematische afwijking een gemiddelde dat het resultaat is van een oneindig aantal metingen van dezelfde meetgrootte, uitgevoerd onder herhaalbaarheidscondities, verminderd met de ware waarde van de meetgrootte (cfr. NPR 2814).

De precisie van een analysemethode is de mate van spreiding in de analyseresultaten die verkregen worden door de analysemethode een herhaald aantal malen onder vastgelegde condities op hetzelfde monster uit te voeren (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat voor de precisie is de standaardafwijking of de variatiecoëfficiënt (relatieve standaardafwijking) van de testresultaten, dit wil zeggen dat de precisie wordt uitgedrukt als imprecisie. Naar de condities wordt normaal gerefereerd met de termen herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid.

2.3 Herhaalbaarheid (Eng: Repeatability)

Met herhaalbaarheid wordt bedoeld de precisie verkregen bij uitvoering van alle betreffende metingen door dezelfde analist, met dezelfde meetapparatuur, op zo dicht mogelijk bij elkaar gelegen tijdstippen (cfr. ISO 3534-1). De gebruikelijke maat is de herhaalbaarheidsstandaardafwijking s_r of de herhaalbaarheidsvariatiecoëfficiënt CV_r .

2.4 Reproduceerbaarheid (Eng.: Reproducibility)

Met reproduceerbaarheid wordt bedoeld de precisie verkregen bij uitvoering van alle betreffende metingen onder variabele omstandigheden, dit wil zeggen in verschillende laboratoriumruimten, door verschillende analisten, met verschillende apparaten en batches reagentia/standaarden, op verschillende tijdstippen met grotere tussenpozen (cfr. ISO 3534-1). Bij een uitspraak met betrekking tot reproduceerbaarheid dient bijgevolg aangegeven te worden welke condities veranderd werden.

Deze procedure richt zich enkel op de reproduceerbaarheid binnen een bepaald laboratorium (kortweg intra-reproduceerbaarheid), en als minimale eis hiervoor wordt vooropgesteld dat de factor tijd gevarieerd wordt, met andere woorden dat de betreffende analyses op verschillende dagen en in verschillende analysereeksen worden uitgevoerd (Eng.: Time-dependent intermediate precision). De gebruikelijke maat is de intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking s_R of de intra-reproduceerbaarheids-variatiecoëfficiënt CV_R .

2.5 Meetonzekerheid (Eng: Expanded uncertainty)

De meetonzekerheid U wordt gedefinieerd als de halve lengte van een interval waarbinnen de ware waarde wordt verwacht te liggen, en dit bij een bepaald betrouwbaarheidsniveau. In ISO GUM wordt dit als volgt verwoord: 'Quantity defining an interval about a result of a measurement that may be expected to encompass a large fraction of the distribution of values that could reasonably be attributed to the measurand'.

In principe dient de meetonzekerheid alle factoren te omvatten die van invloed zijn op het resultaat, gecombineerd volgens gevestigde procedures. Relevante factoren zijn:

- de monsterbewaring in het laboratorium;
- de initiële monstervoorbehandeling (bijv. homogenisatie, droging, deelmonsterneming, ...);
- de monstervorbereiding (bijv. extractie, ontsluiting, zuiveringen, ...);
- de eigenlijke meting van het preparaat (bijv. kalibratie, interferenties, ...) en
- de berekening van het analyseresultaat (bijv. correcties, ...).

In het kader van deze procedure is er van uitgegaan dat de meetonzekerheid zich beperkt tot het eigenlijke laboratoriumgebeuren (d.w.z. de vijf hoger vermelde stappen) en dat factoren zoals de monsterneming zelf (bijv. representativiteit, ...) en het transport van het monster naar het laboratorium (bijv. conservering, ...) niet per definitie opgenomen worden in de meetonzekerheid.

De prestatiekenmerken die de meetonzekerheid - of tenminste een gedeelte ervan - bepalen zijn de intra-reproduceerbaarheid van de analysemethode (voor wat de toevallige afwijking betreft) en de juistheid van de analysemethode (voor wat de systematische afwijking betreft). Door het in rekening brengen van een factor (Eng. coverage factor) op de toevallige afwijking wordt de waarschijnlijkheid dat de ware waarde in het interval ligt voldoende groot gemaakt.

Merk op dat meetonzekerheid geen prestatiekenmerk is, maar een karakteristiek van een meetwaarde. Mede om deze reden wordt meetonzekerheid in een apart deel nader bekeken (zie CMA/6/B).

2.6 Selectiviteit en specificiteit (Eng: Selectivity, Specificity)

De selectiviteit van een analysemethode is de (on)afhankelijkheid van een andere grootte dan de meetgrootte, met andere woorden de mate waarmee ze de te bepalen component in een mengsel of matrix kan onderscheiden van andere bestanddelen (cfr. IUPAC, ontwerp-NEN 7777). Bij een voldoende selectieve analyse worden de bepalingcondities zo gekozen dat de bijdragen van andere bestanddelen geëlimineerd worden of binnen de onzekerheidsmarge vallen. Deze potentiële bijdragen betreffen zowel interferenties (vanwege grootheden die zelf een signaal veroorzaken) als matrixeffecten (vanwege grootheden die het signaal van de meetgrootte veranderen).

Een analysemethode is specifiek als ze enkel reageert op de te bepalen component (cfr. AOAC, IUPAC). Specificiteit kan dus beschouwd worden als de ultieme selectiviteit. Het gebruik van deze term wordt door IUPAC ontraden.

2.7 Aantoonbaarheidsgrens (Eng: Limit of detection)

De aantoonbaarheidsgrens AG (ook wel detectielimiet genoemd) is de kleinste hoeveelheid stof of laagste concentratie van de component in het monster die met een bepaalde (en redelijke) statistische waarschijnlijkheid met de analysemethode aangetoond kan worden, met andere woorden waarvan de aanwezigheid nog met een bepaalde (on)zekerheid kan worden vastgesteld (cfr. AOAC, IUPAC). Het is bijgevolg een kwalitatief criterium.

In de gebruikelijke operationele definitie wordt het aspect waarschijnlijkheid in rekening gebracht door de aantoonbaarheidsgrens gelijk te stellen aan 3 maal de standaardafwijking op dit niveau (cfr. IUPAC). De aantoonbaarheidsgrens is aldus de waarde van de meetgrootte waarbij de variatiecoëfficiënt bij conventie 33% bedraagt. Voor meer achtergrondinformatie hieromtrent wordt verwezen naar ontwerp NEN 7777 en de daarin opgenomen referenties.

Bij gebruik van chromatografische meetsystemen wordt de aantoonbaarheidsgrens vaak gelijkgesteld aan de concentratie van de component in monsters welke resulteert in een signaal/ruis verhouding van 3.

2.8 Bepalingsgrens (Eng: Limit of quantitation)

De bepalinggrens, BG, wordt gedefinieerd als de kleinste hoeveelheid stof of laagste concentratie van de component in het monster die met een bepaalde (en redelijke) precisie en juistheid met de analysemethode gekwantificeerd kan worden, met andere woorden waarvan de meetwaarde nog met een bepaalde (on)zekerheid kan worden vastgesteld. In tegenstelling tot de aantoonbaarheidsgrens is de bepalinggrens een kwantitatief criterium.

Pragmatisch wordt de bepalinggrens in het kader van deze procedure gelijk gesteld aan 6 maal de standaardafwijking in eenheden van de meetgrootte. Bijgevolg is de bepalinggrens die waarde van de meetgrootte waarbij de variatiecoëfficiënt 17 % bedraagt.

2.9 Lineariteit (Eng: Linearity)

De lineariteit van een analysemethode is de eigenschap dat binnen vastgelegde grenzen er een rechtlijnig verband bestaat tussen de respons en de hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component. Het lineair gebied is het overeenkomstig werkgebied.

Indien niet aan lineariteit is voldaan, dient het werkgebied te worden versmald of moet worden overgeschakeld op een andere (bv. kwadratische) functie tussen respons en hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component.

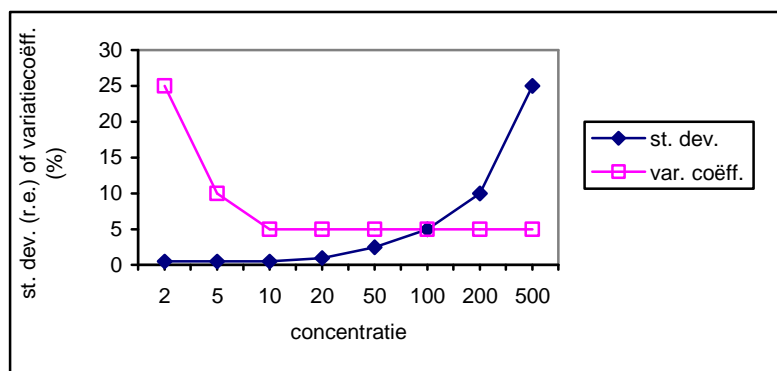
Met het begrip modelafwijking wordt algemeen de afwijking ("lack of fit") bedoeld van het aangenomen verband tussen meetgrootte en respons.

2.10 Werkgebied of bereik (Eng: Range, Measuring range, Working range)

Als extrapolatie van de IUPAC-definitie die instrumentgericht is, wordt het werkgebied van een analysemethode gedefinieerd als het interval tussen de kleinste en de grootste hoeveelheid (concentratie) van de te bepalen component waarvoor de analysemethode gevalideerd is, met andere woorden waarbinnen de prestatiekenmerken aan gedefinieerde eisen voldoen.

Hieruit volgt dat een werkgebied meestal vooropgesteld wordt bij het begin van het validatieonderzoek, rekening houdend met bv. toestelgegevens, verwachte gehalten in monsters, van toepassing zijnde regelgeving, Bij een optimaal werkgebied kunnen courante concentraties probleemloos worden gemeten en liggen kritische (cfr. regelgeving) concentraties niet helemaal aan de uitersten van het werkgebied.

Men noemt een werkgebied homogeen indien over het hele werkgebied de standaardafwijking (standaard deviatie) constant is (homoscedasticiteit of homogeniteit van de varianties). In praktijk is dit zelden het geval, behalve bij kleine werkgebieden; meestal is in het bovenste deel van het werkgebied de relatieve standaardafwijking constant (variatiëcoëfficiënt) en neemt met andere woorden de standaardafwijking proportioneel toe met de concentratie.



r.e.: respons eenheid

2.11 Robuustheid (Eng: Ruggedness, Robustness)

Onder robuustheid van een methode wordt de ongevoeligheid van het analyseresultaat verstaan voor kleine variaties in uitvoering, omstandigheden en hoedanigheid van materialen, zoals deze in de praktijk kunnen voorkomen (cfr. AOAC, ontwerp-NEN 7777).

2.12 Analyse

In het kader van validatie-experimenten komt het begrip analyse, zoals verder in de tekst vermeld, neer op het zo getrouw mogelijk uitvoeren van de volledige reeks stappen welke een routinemonster in het laboratorium ondergaat, van de gebruikelijke monstervoorbehandeling (deelmonsterneming, ...) tot en met de meting en berekening. Op die manier omvatten de prestatiekenmerken en de meetonzekerheid het gehele laboratoriumgebeuren en karakteriseren ze op een correcte wijze de analysemethode, respectievelijk de meetwaarden, van het laboratorium.

Wat de monstervoorbehandeling betreft komen typisch volgende situaties voor:

- in routine ondergaat het laboratoriummonster in zijn geheel een bepaalde monstervoorbehandeling (homogenisatie, droging, ...) vooraleer een analyseportie wordt afgenomen: in dat geval wordt bij de validatie-experimenten voor elke bepaling uitgegaan van een nieuwe portie van het aldus initieel voorbehandelde monster en volgt deze portie verder volledig de voor routinemonsters gebruikelijke werkwijze;
- in routine wordt uit het laboratoriummonster op welbepaalde wijze een deelmonster genomen, dat vervolgens een verdere voorbehandeling (droging, ...) ondergaat of rechtstreeks gebruikt wordt bij de monstervoorbereiding: in dat geval wordt bij de validatie-experimenten voor elke bepaling uitgegaan van een nieuw, op de gebruikelijke manier bekomen, deelmonster uit het laboratoriummonster en volgt dit verder volledig de voor routinemonsters gebruikelijke werkwijze.

Voor de bepaling van parameters waarvoor het hele monster dient in behandeling te worden genomen of die onmiddellijke analyse vereisen (bv. zwevend stof, biologisch zuurstof verbruik, vluchtige organische stoffen...) kan het noodzakelijk zijn om - in het kader van validatie experimenten - bij de monsternamen verschillende deelmonsters te voorzien.

3 ALGEMEEN VALIDATIEPLAN

In het algemeen worden bij validatieonderzoek de volgende stappen doorlopen (cfr. ontwerp-NEN 7777):

- bepaal op basis van het doel en de status van de analysemethode welke prestatiekenmerken bepaald moeten worden;
- bepaal het toepassingsgebied (matrices en werkgebied) waarvoor de analysemethode gevalideerd moet worden, en in hoeveel deelgebieden dit praktisch moet opgesplitst worden;
- ga na of er externe eisen gelden voor (een deel van) de prestatiekenmerken, en zo ja welke vorm deze hebben;
- ga na welke monsters nodig zijn voor het validatieonderzoek;
- voer het validatieonderzoek uit;
- beoordeel de vastgestelde prestatie in vergelijking met eventuele externe eisen, of (bij ontbreken van externe kwantitatieve eisen) rechtstreeks ten opzichte van het gebruiksdoel;
- rapporteer de resultaten in een validatierapport.

3.1 Selectie van de te bepalen prestatiekenmerken

Welke prestatiekenmerken bepaald dienen te worden, is vooral afhankelijk van de status van de analysemethode die men wenst uit te voeren.

Voor volledig nieuwe analysemethoden (d.w.z. door het laboratorium geheel zelf ontwikkeld en niet eerder gevalideerd) geldt dat een complete validatie is vereist. Deze omvat altijd de volgende prestatiekenmerken:

- werkgebied;
- juistheid;
- intra-reproduceerbaarheid;
- selectiviteit;
- robuustheid.

indien relevant omvat deze verder:

- aantoonbaarheids- en bepalingsgrens;
- herhaalbaarheid;
- lineariteit, of meer algemeen modelafwijking.

Meestal echter zullen laboratoria bij voorkeur de referentiemethoden overnemen. Dit zijn wettelijk vastgelegde of door de bevoegde overheid aanbevolen analysemethoden, vastgelegd in bijvoorbeeld een compendium of in internationale normen. Indien zulke analysemethode zonder wijzigingen wordt overgenomen, volstaat het in principe aan te tonen dat de essentiële prestatiekenmerken in overeenstemming zijn met de gedocumenteerde en/of met het gebruiksdoel. De uit te voeren validatie omvat dan minimaal:

- juistheid;
- intra-reproduceerbaarheid.

en indien relevant tevens:

- werkgebied;
- aantoonbaarheids- en bepalingsgrens;
- herhaalbaarheid;
- selectiviteit.

Voor een gewijzigde analysemethode, d.i. een analysemethode die reeds was gevalideerd maar waarin een verandering is aangebracht, is een hervalidatie nodig gericht op die prestatiekenmerken die redelijkerwijs door de verandering kunnen beïnvloed worden.

3.2 Bepaling van het toepassingsgebied en eventuele deelgebieden bij de validatie

Prestatiekenmerken hebben slechts betekenis bij ondubbelzinnig gedefinieerde analyseobjecten en analyseresultaten. Als de analyseprocedure hierover onvoldoende duidelijkheid verschaft, dient voorafgaand aan de validatie een duidelijke interpretatie te worden opgesteld en opgenomen in het validatierapport. Dit geldt bijvoorbeeld voor het aantal onderliggende metingen van een analyseresultaat (één of gemiddelde) en voor eventuele toegepaste correcties (voor extractiestandaarden, procedureblanco, ...). Ook het beoogde toepassingsgebied moet van tevoren worden gespecificeerd, nl. welke matrices (inclusief mogelijke interferenten) en welk werkgebied (eventueel per matrix).

Uitgangspunt is dat bij validatie gelijkaardige matrices zoveel mogelijk worden gecombineerd in één toepassingsgebied. In sommige gevallen kan het wenselijk zijn verschillende deelgebieden (zowel qua matrix als werkgebied) te onderscheiden en afzonderlijk te valideren. De belangrijkste overweging hierbij is voorkennis van, of twijfel over, de effecten van bepaalde interferenten.

In bepaalde gevallen kan worden volstaan met een validatie in de "moeilijkste" matrix. Dit geldt enkel voor zover sprake is van een ondubbelzinnige gradatie, en dient zonodig per prestatiekenmerk bekeken te worden. Zo kan bijvoorbeeld gebruik gemaakt worden van sterk matrixbelaste afvalwaters om een methode te valideren voor huishoudelijk en industrieel afvalwater, percolaatwater van stortplaatsen, eluaten en dergelijke, en kan de op basis van zulke monsters bekomen precisie eventueel aangewend worden als een "worst case" waarde voor het betreffende concentratiebereik in andere watertypes zoals grondwater, oppervlaktewater en drinkwater.

Globaal wordt voor de afzonderlijk te beschouwen matrices bij de validatie van analysemethoden voor vaste/pasteuze en vloeibare milieumatrices volgende vuistregel vooropgesteld:

vloeistoffen:

- water en waterige oplossingen: hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen:
 - drinkwater
 - afvalwaterbijkomend dienen specifieke prestatiekenmerken in oppervlaktewater en/of grondwater (met betrekking tot bodemsanering) onderzocht te worden, voor zover niet gedekt door de reeds gevalideerde matrices, tevens is aanvullend onderzoek met betrekking tot specifieke interferenten nodig voor zover van toepassing (bijvoorbeeld zeewater, zwembadwater, ...)
- organische vloeistoffen (afgewerkte olie, ...)

vaste/pasteuze stoffen : hierbij wordt onderscheid gemaakt tussen volgende vier hoofdmatrices :

- vaste afvalstoffen (bouw- en sloopafval, as en slakken, shredderafval, houtafval, ...)
- pasteuze afvalstoffen (zuiveringsslib, bagger- en ruimingsspecie, dierlijk vetafval, ...)
- compost
- bodem

Er wordt aangeraden om minimaal voor de vaste en pasteuze afvalstoffen voor één representatief monstertype uit het normale monsteraanbod de methode volledig te valideren. Een aanvullende controle van de methode is aangewezen op minstens 5 reële monsters, uit het normale monsteraanbod met verschillende herkomst/aard, via bijvoorbeeld duplo-analyses, standaardadditie, gebruik van interne standaarden, herextractie en dergelijke.

Voor de erkenning van laboratoria door de OVAM zijn verschillende analysepakketten door de minister vastgelegd. Deze analysepakketten zijn gebaseerd op de wetgevingen (VLAREA, VLAREBO en VLAREM) en niet op de betreffende hoofdmatrices of parameters. Afspraken in verband met de nodige methodevalidatie per analysepakket voor de hoofmatri(x)ces en bijhorende monstertypes zijn terug te vinden in bijlage 1.

3.3 Omgang met externe eisen

Omdat de waarde van een prestatiekenmerk wordt verkregen door metingen, is hiermee een onzekerheid verbonden. Dit is vooral van belang wanneer moet getoetst worden of aan extern opgelegde absolute grenswaarden voldaan is. In dat geval moet aangetoond worden dat het prestatiekenmerk met een betrouwbaarheid van tenminste 95% voldoet aan de eis, met andere woorden dat de numerieke waarde van het prestatiekenmerk plus (resp. minus) de onzekerheid kleiner (resp. groter) is dan de bovengrens (resp. ondergrens).

Traditioneel worden externe eisen echter meestal als een zogenaamde geschatte grenswaarde beschouwd en kan worden volstaan met het rechtstreeks vergelijken van de numerieke waarde van het prestatiekenmerk met de grenswaarde.

In de regel geldt dat eventuele uitbijters in de verzamelde analyseresultaten alleen worden verwijderd als de oorzaak bekend is en deze niet de praktijksituatie weerspiegelt (bv. foutieve preparatie van een synthetisch monster, technisch defect meettoestel, ...).

3.4 Keuze van de monsters voor een validatieonderzoek

Als algemene regel geldt dat de monsters zoveel mogelijk representatief moeten zijn voor het toepassingsgebied (of het deelgebied). In de verzameling validatiemonsters moeten dus de meest voorkomende matrices vertegenwoordigd zijn, op basis van inzicht in de relatieve aandelen van de verschillende monsters in de monsterstroom van het laboratorium. Eventueel kan de monstersselectie toegespitst worden op de "moeilijkste" matrix, rekening houdend met de onder punt 3.2 beschreven beperkingen.

Intra-reproduceerbaarheid, herhaalbaarheid, selectiviteit en robuustheid worden in principe bepaald op praktijkmonsters of monsters die hierop zoveel mogelijk gelijken (bijv. geaddeerde praktijkmonsters).

Voor validatie van de aantoonbaarheids- en bepalingsgrens gebruikt men, in volgorde van voorkeur, een praktijkmonster of representatief referentiemateriaal met gehalte nabij de verwachte aantoonbaarheidsgrens, een blanco praktijkmonster waaraan de te bepalen componenten werden geaddeerd tot een gehalte nabij de verwachte aantoonbaarheidsgrens, of een blanco praktijkmonster.

Voor validatie van de juistheid gebruikt men, in volgorde van voorkeur maar steeds de gelijkensis met praktijkmonsters voor ogen houdend:

- gecertificeerd referentiemateriaal en deelname aan interlaboratoriumtesten met herleidbare referentiewaarden, dit wil zeggen waarden gerelateerd aan een geschikte (bij voorkeur internationale) meetstandaard;
- geaddeerde praktijkmonsters waarvan de werkelijke waarde gebaseerd is op de gravimetrisch/volumetrisch toegevoegde hoeveelheid, deze kunnen zowel zelf aangemaakt zijn of deel uitmaken van een 'proficiency testing'; hierbij dient opgemerkt te worden dat additie-experimenten te optimistische resultaten kunnen opleveren omdat het toegevoegde deel van de component niet op dezelfde wijze in het monster opgenomen wordt als het oorspronkelijke deel;
- rondzendmonsters met een consensuswaarde (bijv. gemiddelde waarde uit 'proficiency testing' schema's) waarbij verschillende/gelijke methoden werden toegepast;
- niet-gecertificeerd referentiemateriaal en/of praktijkmonsters met een waarde die onafhankelijk is van het te valideren systeem, bijvoorbeeld bepaald met een andere methode waarvan de bias gekend is.

Voor de bepaling van de bias ten opzichte van een methodegemiddelde kan een gecertificeerd referentiemateriaal of een rondzendmonster met een consensuswaarde (bijvoorbeeld gemiddelde waarde uit ringtest) worden gebruikt, mits voor de berekening van de gecertificeerde waarde of consensuswaarde enkel meetresultaten, bekomen met dezelfde methode, werden verwerkt. Deze consensuswaarde kan verschillen van de werkelijke waarde.

Voor evaluatie van de lineariteit gebruikt men dezelfde matrix als bij de kalibratie (dit is meestal standaardoplossing, doch bij sommige technieken ook monster).

4 ALGEMENE PROCEDURE VOOR DE BEPALING VAN DE AFZONDERLIJKE PRESTATIEKENMERKEN

4.1 Juistheid

Hieronder worden eerst twee klassieke werkwijzen behandeld, nl. meervoudige analyse van een referentiemateriaal (met gekende ware waarde) en uitvoering van terugvindingsexperimenten op een geselecteerd monster.

Indien de juistheid slechts bij één concentratieniveau gevalideerd wordt, ligt dit bij voorkeur nabij de kritische waarde volgens de regelgeving, in het gebied tussen de typische waarden voor praktijkmonsters en deze kritische waarde. Bij onderzoek op meer dan één concentratieniveau (wat overigens aanbevolen wordt door Eurachem) kiest men deze tenminste een factor 10 uit elkaar.

Verder wordt een alternatieve werkwijze beschreven, namelijk evaluatie van de terugvinding en/of afwijking ten opzichte van de referentiewaarde voor verschillende monsters. Hierbij kan niet enkel de terugvinding van addities op verschillende monsters en/of verschillende concentratieniveau's gebruikt worden, maar eveneens resultaten bekomen via deelname aan 'proficiency testing' schema's (interlaboratoriumtesten), vergelijkende resultaten t.o.v. een referentiemethode, Deze werkwijze is vooral aangewezen indien er twijfel bestaat over het effect van diverse matrices binnen het toepassingsgebied (of desgevallend deelgebied) op de prestatiekenmerken juistheid en/of selectiviteit (matrixeffect).

Elk van de klassieke werkwijzen levert, naast informatie over de juistheid, simultaan informatie over de intra-reproduceerbaarheid van de analysemethode.

4.1.1 meervoudige analyse van een referentiemateriaal

Indien voor het toepassingsgebied (of desgevallend een deelgebied) een monster met een ware waarde of consensuswaarde beschikbaar is, voer dan hierop minstens 5 analyses (cfr. punt 2.12) uit, onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden (op verschillende dagen, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...). Bereken het gemiddelde van de bekomen meetwaarden. De bias wordt gegeven door:

$$b_{c(\text{rel})} = \frac{X_{\text{gem}} - C_{\text{ref}}}{C_{\text{ref}}} \times 100(\%) \quad (\text{in geval van een proportionele bias als } \%),$$

of

$$b_{c(\text{abs})} = X_{\text{gem}} - C_{\text{ref}} \quad (\text{in geval van een constante absolute bias}),$$

met:

$b_{c(\text{rel})}$ = procentuele bias (bij een waarde c van de meetgrootheid)

$b_{c(\text{abs})}$ = absolute bias (bij een waarde c van de meetgrootheid)

X_{gem} = gemiddelde waarde van de meetgrootheid

C_{ref} = ware waarde van het referentiemateriaal

De juistheid (uitgedrukt in %) wordt dan gegeven door $(100 + b_{c(\text{rel})})$.

De situatie van een constante absolute bias kan zich ondermeer voordoen in een laag concentratiegebied, bij een constante ongekende interferentie.

Indien binnen een bepaald toepassingsgebied op verschillende referentiematerialen dergelijke meervoudige analyse is uitgevoerd, wordt de juistheid bij voorkeur berekend door uit te middelen over de geanalyseerde materialen. Hierbij dient de zin van de afwijking (+ of -) mee in rekening te worden gebracht en dient desgevallend onderscheid gemaakt te worden tussen de situaties proportionele of constante absolute bias.

4.1.2 terugvindingsexperimenten op een geselecteerd monster

Indien geen geschikt monster met een ware waarde of consensuswaarde beschikbaar is en de component op een representatieve manier aan het monster kan toegevoegd worden, is een terugvindingsexperiment de meest aangewezen benadering. Een nadeel hiervan is dat bepaalde systematische afwijkingen, bijvoorbeeld veroorzaakt door interferenties, niet kunnen worden vastgesteld.

Neem hiervoor minstens 10 deelmonsters (cfr. punt 2.12) en voeg aan de helft een bekende hoeveelheid van de component zo representatief mogelijk toe, waardoor de meetgrootte met Δc wordt verhoogd. Richtlijnen met betrekking tot de werkwijze voor additie worden gegeven in bijlage 2.

Bepaal per monster de terugvinding uit het analyseresultaat voor het monster zonder en het monster met toevoeging van de component. Voer beide metingen zoveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden uit, dit wil zeggen in dezelfde analysereeks. Voer minstens 5 dergelijke paren analyses onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden uit (dit wil zeggen elk paar op een andere dag, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...).

Bereken voor elk van de experimenten de terugvinding (uitgedrukt in %) als:

$$T_{\Delta c, i} = \frac{X_{c+\Delta c, i} - X_{c, i}}{\Delta c} \times 100(\%)$$

met:

$T_{\Delta c, i}$ = procentuele terugvinding bij het i-de experiment (bij toevoeging Δc van de meetgrootte)

$X_{c+\Delta c, i}$ = i-de analyseresultaat voor waarde c met additie Δc van de meetgrootte

$X_{c, i}$ = i-de analyseresultaat voor waarde c van de meetgrootte

Δc = geaddieerde waarde van de meetgrootte

Bereken van de aldus bekomen terugvindingen de gemiddelde waarde \bar{T} , welke een maat is voor de juistheid, uitgedrukt in %. De procentuele bias kan berekend worden uit $b_{c, rel} = \bar{T} - 100$.

4.1.3 evaluatie van de terugvinding en/of afwijking ten opzichte van de referentiewaarde voor verschillende monsters

Voor wat addities betreft, gelden bij deze methode dezelfde randvoorwaarden en beperkingen als beschreven onder punt 4.1.2.

Voeg aan een deelmonster van een reeds eerder geanalyseerd monster een bekende hoeveelheid van de component zo representatief mogelijk toe, waardoor de meetgrootte met Δc wordt verhoogd. Analyseer dit monster met additie in dezelfde meetreeks, zoveel mogelijk onder dezelfde omstandigheden als het oorspronkelijk monster. Voer in totaal 5-10 dergelijke terugvindingsanalyses uit op verschillende monsters en concentratieniveaus, er over wakend dat deze als geheel de praktijksituatie zo goed mogelijk vertegenwoordigen. Voer de verschillende analyses op monsters met additie onder intra-reproduceerbaarheidsomstandigheden uit (op verschillende dagen, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...).

Bereken voor elk van de minstens 5 experimenten de terugvinding (uitgedrukt in %) uit het analyseresultaat voor het monster zonder en het monster met toevoeging van de component (voor formule zie punt 4.1.2). Bereken van de aldus bekomen terugvindingen de gemiddelde waarde \bar{T} . De procentuele bias kan berekend worden uit $b_{c, rel} = \bar{T} - 100$.

Bij deze werkwijze kunnen, naast terugvindingen bekomen via een additie-experiment, eveneens terugvindingen afgeleid uit de deelname aan 'proficiency testing' schema's, uit vergelijking van de methode t.o.v. een referentiemethode, ..., gebruikt worden. Hierbij blijft het belangrijkste uitgangspunt het gebruik van verschillende monsters, waarbij deze qua matrix en concentratieniveau het toepassingsgebied zo goed mogelijk moeten dekken.

4.2 Herhaalbaarheid en intra-reproduceerbaarheid

De algemene procedure voor het bepalen van de prestatiekenmerken herhaalbaarheid en intra-reproduceerbaarheid is dezelfde, met uitzondering van de analysecondities bij de experimenten (cfr. punt 2.3 en 2.4). Voor intra-reproduceerbaarheid wordt minstens de factor tijd bijkomend gevarieerd (uitvoering van de herhalingsanalyses op verschillende dagen) en voor zover relevant ook andere bronnen van variatie (analist, apparaat, kalibratie, ...). De bedoeling is om een zo goed mogelijke afspiegeling van de praktijksituatie te bekomen.

Er zijn twee klassieke werkwijzen, namelijk herhaalde analyse van hetzelfde monster en duplo-analyse van verschillende monsters (zie. punt 4.2.1 en 4.2.2). Eerstgenoemde benadering heeft als nadeel dat de informatie *sensu strictu* beperkt blijft tot dat ene monster. Anderzijds geldt bij laatstgenoemde benadering in principe de beperkende voorwaarde dat óf de standaardafwijking óf de variatiecoëfficiënt niet mag afhangen van de waarde van de meetgrootte, wat vaak eveneens tot een klein meetbereik leidt.

Indien, volgens eerstgenoemde werkwijze, de precisie slechts bij één concentratieniveau gevalideerd wordt, ligt dit bij voorkeur nabij de kritische waarde volgens de regelgeving, in het gebied tussen de typische waarden voor praktijkmonsters en deze kritische waarde. Bij onderzoek op meer dan één concentratieniveau (wat overigens voor herhaalbaarheidsonderzoek aanbevolen wordt door Eurachem) kiest men deze tenminste een factor 10 uit elkaar.

In praktijk zal een analysemethode, na ingebruikname, meestal ook opgevolgd worden aan de hand van een relevant controlemonster, zodat voor periodieke herevaluatie van de intra-reproduceerbaarheid ook de resultaten van deze eerstelijnscontrole als input gebruikt kunnen worden.

4.2.1 meervoudige analyse van hetzelfde monster

Voer op een volgens de aanbevelingen in punt 3.4 gekozen monster, desgevallend per deelgebied, minstens 5 analyses (cfr. punt 2.12) uit onder herhaalbaarheidscondities, respectievelijk intra-reproduceerbaarheidscondities. Bereken hieruit de herhaalbaarheidsstandaardafwijking s_r , respectievelijk intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking s_R , als:

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

$s =$	standaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
$n =$	aantal analyses, $n \geq 5$
$x_i =$	i-de analyseresultaat
$\bar{x} =$	gemiddelde van n analyseresultaten

Bij gebrek aan een geschikt monster kan eventueel gebruik gemaakt worden van een praktijkmonster waaraan een gepaste hoeveelheid van de component is geaddeerd, dit voor zover de geaddeerde component zoveel mogelijk op dezelfde wijze in het monster opgenomen is als de component van het praktijkmonster. Voor richtlijnen met betrekking tot additie wordt verwezen naar bijlage 2.

4.2.2 duplo-analyse van verschillende monsters

Kies de grootte van het (deel)gebied zo dat redelijkerwijs mag worden verondersteld dat óf de standaardafwijking óf de variatiecoëfficiënt van de analyseresultaten niet afhangt van de waarde van de meetgrootte. Veelal neigt de spreiding ruim boven de aantoonbaarheidsgrens naar proportionaliteit en mag in dit deel van het werkgebied de variatiecoëfficiënt constant verondersteld worden. Nabij de aantoonbaarheidsgrens mag daarentegen de standaardafwijking veelal constant verondersteld worden (cfr. punt 2.10).

Gebruik monsters volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer (cfr. punt 2.12), desgevallend per deelgebied, minstens 5 verschillende monsters in duplo. Bij het herhaalbaarheidsonderzoek dienen beide analyses van een paar onder herhaalbaarheidscondities uitgevoerd te worden. De verschillende monsters worden wel bij voorkeur op verschillende dagen geanalyseerd. Bij het intra-

reproduceerbaarheidsonderzoek mogen beide analyses van een paar niet op dezelfde dag uitgevoerd worden en dient het geheel gespreid te worden over tenminste evenveel dagen als het aantal monsterparen.

Als voor het betreffende meetbereik de standaardafwijking onafhankelijk mag worden verondersteld van de waarde van de meetgrootte (homogeniteit van de varianties), dan mogen de n standaardafwijkingen uit duplo's worden samengevoegd en kan s_r , resp. s_R , berekend worden als (ontwerp NEN 7777: 2001; AP 04 SG: 1998):

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}}$$

s = standaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
 n = aantal monsters in duplo geanalyseerd, $n \geq 5$
 x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

Als voor het betreffende meetbereik de variatiecoëfficiënt onafhankelijk mag worden verondersteld van de waarde van de meetgrootte, dan mogen de n variatiecoëfficiënten uit duplo's worden samengevoegd en kan de variatiecoëfficiënt CV_r , resp. CV_R , worden berekend uit de genormaliseerde verschillen als (ontwerp NEN 7777: 2001; AP 04 SG: 1998):

$$CV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{x_{i1} - x_{i2}}{0.5(x_{i1} + x_{i2})} \right)^2}{2n}} \times 100(\%)$$

CV = variatiecoëfficiënt, in %
 n = aantal monsters in duplo geanalyseerd, $n \geq 5$
 x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

4.3 Selectiviteit en robuustheid

Afzonderlijke selectiviteitsproeven zijn enkel zinvol in die gevallen waarbij de invloed onvoldoende wordt afgedekt door een ander prestatiekenmerk zoals juistheid. Experimenten hieromtrent situeren zich vaak eerder in het ontwikkelingsstadium van een analysemethode dan in het validatiestadium.

Kies om het effect van een bepaalde invloedsgrootte te onderzoeken zo mogelijk een praktijkmonster, volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Voeg aan verschillende deelmonsters een telkens toenemende hoeveelheid van de invloedsgrootte toe, zo representatief mogelijk en met minimale verdunning als gevolg. Analyseer de aldus bekomen monsters onder herhaalbaarheidscondities en bepaal de verandering van het analyseresultaat als gevolg van een verandering van de waarde van de invloedsgrootte. Al naargelang de voorkennis kan het noodzakelijk zijn om bovenvermelde proef uit te voeren in het onderste en bovenste deel van het werkgebied.

In geval er geen enkele voorkennis is met betrekking tot interferenten en er geen referentiematerialen beschikbaar zijn, kan de selectiviteit als volgt onderzocht worden:

- het analyseren van praktijkmonsters met de betreffende analysemethode en met een andere onafhankelijke analyse- of meetmethode (ander scheidings- en/of detectieprincipe);
- het analyseren van opeenvolgende, steeds grotere, verdunningen van praktijkmonsters (op voorwaarde dat de te bepalen component in voldoende hoge concentratie aanwezig is om nog in verdunning gemeten te kunnen worden).

Robuustheid is impliciet begrepen in de intra-reproduceerbaarheid, en zal meestal evenmin een specifieke validatie behoeven. De verhouding tussen intra-reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid kan worden gehanteerd als een maat voor (het gebrek aan) robuustheid. In het ideale geval zou deze verhouding 1 moeten bedragen, maar in praktijk zijn verhoudingen tot 1.5 tot 2 niet ongewoon.

Eventuele specifieke experimenten, gericht op de verandering van het analyseresultaat als gevolg van een verandering van de uitvoeringsomstandigheden, kunnen op gelijkaardige wijze opgezet worden als hierboven beschreven voor selectiviteitsonderzoek. Meestal zal het programma voor

eerstelijns kwaliteitscontrole zodanig ontworpen worden dat de meest kritische variabelen, namelijk de variabelen met het grootste effect op de juistheid en precisie, expliciet gecontroleerd worden.

4.4 Aantoonbaarheidsgrens en bepalingsgrens

In deze procedure wordt de aantoonbaarheidsgrens (AG) geoperationaliseerd als 3 maal de standaardafwijking op laag niveau (cfr. punt 2.7) en dit onder intra-reproduceerbaarheidscondities.

Hieronder worden drie benaderingen beschreven, nl. meervoudige analyse van een praktijkmonster met gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens, duplo-analyse van verschillende praktijkmonsters met gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens en berekening van de signaal/ruis verhouding voor verschillende praktijkmonsters met gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens.

Eerstgenoemde werkwijze is de meest klassieke maar heeft als nadeel dat de onzekerheid die het gevolg is van de aanwezigheid van interferenten in monsters, verschillende matrixeffecten en dergelijke niet gedekt wordt. Daarom kan de eigenlijke aantoonbaarheidsgrens onder praktijkomstandigheden hoger zijn. Deze beperking wordt enigszins ondervangen door de tweede werkwijze. De derde werkwijze is specifiek gericht op analysemethoden met een meting op basis van chromatografie en heeft als nadeel dat de keuze van het ruisgebied de bekomen aantoonbaarheidsgrens sterk kan beïnvloeden. Deze laatste methode brengt bovendien de mogelijke effecten van monsterheterogeniteit niet in rekening en mag enkel toegepast worden indien een homogenisatie van het volledige laboratoriummonster deel uitmaakt van de in routine gebruikelijke monstervoorbehandeling.

De bepalingsgrens wordt op dezelfde manier ingeschat, doch op basis van 6 maal de standaardafwijking.

Met de term 'gehalte nabij de aantoonbaarheidsgrens' (of 'laag gehalte') wordt een gehalte bedoeld dat bij voorkeur in het bereik tussen ca. 1 en 5 maal de aantoonbaarheidsgrens ligt en dat niet meer dan 10 maal de aantoonbaarheidsgrens bedraagt. Indien een parametergroep een groot aantal componenten (bijvoorbeeld >10) bevat kan het praktisch moeilijk zijn om een monster te vinden dat voor elke component ideaal is. In dergelijk geval mag voor enkele componenten van bovenvermelde beperking qua concentratiebereik afgeweken worden of mag de aantoonbaarheidsgrens geëxtrapoleerd worden uit soortgelijke componenten.

4.4.1 meervoudige analyse van een praktijkmonster met laag gehalte

Gebruik hiervoor een monster volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer het monster strikt volgens de gebruikelijke analyseprocedure (cfr. Punt 2.12). Analyseer het monster na één of meerdere dagen opnieuw, en vervolg dit totdat tenminste 5 analyseresultaten zijn verkregen. Voer de proeven zo uit dat het geheel de praktijksituatie (qua uitvoerende analisten, omgevingsomstandigheden, volgnummer in reeks, ...) weerspiegelt.

Bereken de standaardafwijking s_R uit de analyseresultaten en hieruit de aantoonbaarheidsgrens $AG_R = 3 s_R$.

Verhoog de waarde van de aantoonbaarheidsgrens met de gemiddelde waarde van de procedureblanco indien deze meetbaar is en een correctie voor de procedureblanco geen deel uitmaakt van de gebruikelijke analyseprocedure.

Wanneer verschillende praktijkmonsters met laag gehalte meervoudig geanalyseerd werden, wordt de hoogste van de bekomen waarden als uiteindelijke maat voor de aantoonbaarheidsgrens en bepalingsgrens, gehanteerd.

4.4.2 duplo-analyse van verschillende praktijkmonsters met laag gehalte

Gebruik monsters volgens de aanbevelingen in punt 3.4. Analyseer (cfr. punt 2.12) minstens 5 verschillende monsters in duplo, voer beide analyses van een paar niet op dezelfde dag uit en spreid het geheel over tenminste evenveel dagen als het aantal monsterparen.

Bereken s_R als (cfr. punt 4.2.2):

$$s_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_{i1} - x_{i2})^2}{2n}}$$

- s_R = intra-reproduceerbaarheidsstandaardafwijking, in eenheid analyseresultaat
 n = aantal monsters in duplo geanalyseerd, $n \geq 5$
 x_{i1} = eerste analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i
 x_{i2} = tweede analyseresultaat van een duplo-analyse op monster i

Bereken hieruit de aantoonbaarheidsgrens $AG_R = 3 s_R$.

Verhoog de waarde van de aantoonbaarheidsgrens met de gemiddelde waarde van de procedureblanco indien een correctie voor de procedureblanco geen deel uitmaakt van de gebruikelijke analyseprocedure.

4.4.3 signaal/ruis (S/R) verhouding voor verschillende praktijkmonsters met laag gehalte

Gebruik hiervoor minstens 5 verschillende monsters, volgens de aanbevelingen in punt 3.4 en analyseer deze onder intra-reproduceerbaarheidscondities (op verschillende dagen, met weerspiegeling van typische laboratoriumomstandigheden qua uitvoerende analisten, kalibratie, ...). Bepaal in elk chromatogram de signaal/ruis verhouding voor de piek welke overeenstemt met de component. Hierbij wordt de piekhoogte van de component als signaal genomen. De ruis hoogte dient in dezelfde eenheid uitgedrukt te worden en dient de piek-tot-piek ruis te omvatten of bij automatische dataverwerking tenminste 95% van alle ruispunten (-2s tot +2s). Als ruis wordt een gebied vlak vóór of na de piek van de component gekozen, waarin zich geen andere componentpieken (cfr. de identificatiecriteria) bevinden. De breedte van het beschouwde ruisgebied dient tenminste gelijk te zijn aan tweemaal de piekbreedte op halve hoogte van de componentpiek.

Bereken voor elk monster uit de aldus verkregen signaal/ruis verhouding en het gemeten gehalte van de component, de aantoonbaarheidsgrens voor het betreffende monster, zijnde het gehalte welk overeenkomt met een signaal/ruis verhouding van 3. Teneinde de variabiliteit in functie van analysecondities, aard van het monster en dergelijke mee in rekening te brengen, wordt de uiteindelijke aantoonbaarheidsgrens van de analysemethode gelijkgesteld aan de hoogste van de voor de verschillende monsters bekomen waarden.

Verhoog de aldus bekomen waarde van de aantoonbaarheidsgrens met de gemiddelde waarde van de procedureblanco indien een correctie voor de procedureblanco geen deel uitmaakt van de gebruikelijke analyseprocedure.

4.5 Lineariteit - modelafwijking

Bij de bepaling van de alineariteit, of meer algemeen de modelafwijking ('lack-of-fit'), wordt de experimentele afwijking ten opzichte van het kalibratiemodel gekwantificeerd. Veelal betreft deze enkel het instrumentele gedeelte van de analyse. Hiervoor kunnen in praktijk de experimentele meetwaarden van een kalibratie gebruikt worden.

Leg het kalibratiemodel vast aan de hand van tenminste 6 verschillende concentratieniveau's, gespreid over het gehele werkgebied. Aanbevolen wordt om bij het validatieonderzoek eenmalig elk concentratieniveau in drievoud te meten, zodat kan nagegaan worden hoe de variantie van herhalingsmetingen varieert met de concentratie.

Voer op de bekomen resultaten een gepaste regressie-analyse uit. Indien er een proportioneel verband is tussen de variantie van herhalingsmetingen en de concentratie wordt best een gewogen regressie toegepast. Het louter gebruiken van een correlatiecoëfficiënt ter bepaling van de lineariteit wordt afgeraden omdat dit een maat is voor de correlatie, niet voor de lineariteit. Het weerhouden kalibratiemodel moet uiteraard ook gehanteerd worden bij de verdere praktijktoepassing van de analysemethode.

Bereken de modelafwijking voor een waarde c van de meetgrootheid als:

$$\bar{d}_{c, \text{model}} = X_{c, \text{exp}} - X_{c, \text{model}}$$

met:

$X_{c, \text{exp}}$ =	experimentele meetwaarde of desgevallend de gemiddelde waarde van de herhalingsmetingen bij een waarde c van de meetgrootte
$X_{c, \text{model}}$ =	berekende meetwaarde welke volgens het kalibratiemodel bekomen wordt voor een waarde c van de meetgrootte

Zet de modelafwijkingen grafisch uit in functie van de meetgrootte en verifieer of deze random verdeeld zijn, systematische trends wijzen op non-lineariteit. Grote procentuele afwijkingen zijn niet noodzakelijk een indicatie voor alineariteit, maar verdienen niettemin speciale aandacht omdat ze tot een slechte intra-reproduceerbaarheid en hoge meetonzekerheid kunnen leiden. Alternatief kan men de responsfactoren $RF_c = X_c / c$ (of relatieve responsfactoren, bij gebruik van een interne standaard) uitzetten en toetsen ten opzichte van een vastgelegde eis. Meestal houdt zulke eis rekening met de aard van de bepalingsmethode.

Een tweede mogelijkheid is de kalibratiegegevens enerzijds met een lineair model en anderzijds met een kwadratisch model te evalueren (ISO 8466-1, 1990). Uit beide modellen wordt de residuele standaardafwijking s_{y1} en s_{y2} verkregen. Het verschil van de varianties DS^2 wordt als volgt berekend:

$$DS^2 = (N - 2)s_{y1}^2 - (N - 3)s_{y2}^2$$

met:

N het aantal concentratieniveaus ($N \geq 6$)

s_{y1}^2 = residuele standaardafwijking bij lineair model

s_{y2}^2 = residuele standaardafwijking bij kwadratisch model

het aantal vrijheidsgraden f is 1.

Vervolgens worden DS^2 en de variantie van de kwadratische kalibratiefunctie aan een F-test onderworpen om na te gaan of er significante verschillen bestaan. De testwaarde, F_{ber} , wordt bekomen uit:

$$F_{ber} = \frac{DS^2}{s_{y2}^2}$$

Indien $F_{ber} \leq F_{tabel}$, dan leidt de kwadratische functie niet tot een significant beter model, met andere woorden is de kalibratiefunctie lineair.

Indien $F_{ber} > F_{tabel}$, dan wordt het werkgebied verkleind om een lineaire kalibratiefunctie te verkrijgen, ofwel worden de meetwaarden van monsters met de kwadratische functie geëvalueerd.

Een derde mogelijkheid, weliswaar minder fundamenteel, is de berekening van een kwadratische functie, waarna gebruik gemaakt wordt van een t-test om te beoordelen of de coëfficiënt van de kwadratische term significant afwijkt van 0.

Bij vaststelling van een niet-lineair verband wordt aanbevolen om na te gaan hoe relevant het verschil is tussen een resultaat bekomen met een lineaire functie en met een kwadratische functie. Indien dit klein is vergeleken met de meetonzekerheid kan overwogen worden om toch met de lineaire vergelijking door te gaan en de corresponderende fout mee te verrekenen in de globale meetonzekerheid.

Voor de praktische uitwerking wordt verwezen naar de voorbeelden in CMA/6/C.

4.6 Werkgebied

De ondergrens van het werkgebied van een kwantitatieve analysemethode ligt in principe op of boven de bepalingsgrens en binnen het gebied waarvoor de lineariteit werd aangetoond.

Als vuistregel (streefwaarde) wordt in het kader van deze procedure vooropgesteld dat de rapportagegrens, de waarde beneden welke een component als niet kwantificeerbaar ('<') wordt gerapporteerd, hoogstens een vijfde van de toetsingswaarde of normwaarde voor de gemeten

monsters bedraagt, tenzij niet haalbaar volgens de huidige stand der techniek². Dit geldt zowel in geval de bepalingsgrens als rapportagegrens fungeert, als in geval van het systematisch gebruik van een rapportagegrens die hoger ligt dan de bepalingsgrens.

Wanneer het snijpunt van de kalibratielijns met de Y-as niet significant verschillend is van nul kan het werkgebied uitgebreid worden tot onder het concentratieniveau van de laagste kalibratiestandaard en tot de bepalingsgrens. In het andere geval wordt aanbevolen de laagste kalibratiestandaard als ondergrens van het werkgebied te beschouwen.

In bepaalde gevallen kan het aangewezen zijn om ook waarden tussen de aantoonbaarheidsgrens en de bepalingsgrens te rapporteren, omdat er wel degelijk informatie in zulke waarden kan zitten zodra over een aantal uitslagen wordt uitgemiddeld. Dergelijke werkwijze dient duidelijk te blijken uit het analyseverslag, bijvoorbeeld door de vermelding van de meetwaarden samen met de bepalingsgrens. Met betrekking tot de in eerste alinea beschreven vuistregel is het onverminderd de bepalingsgrens die aan het criterium moet getoetst worden.

In de meeste gevallen is het werkgebied tot boven het lineair gebied uit te breiden door verdunning van het monster of door minder monster in bewerking te nemen. Beperkende factoren voor de bovengrens zijn mogelijk, al naargelang de analysemethode, het optreden van geheugeneffecten, de capaciteit van bepaalde voorbereidingsstappen,

5 REFERENTIES

- Anal. Chim. Acta (1997), Hartmann et al., nr 338, p. 19-40
- AOAC Peer Verified Methods Program – Manual on Policies and Procedures, AOAC International, Arlington VA 22201-3301, USA
- AP 04 SG (1998), 'Accreditatieprogramma bouwstoffenbesluit, onderdeel: samenstelling grond', versie 4, juni 1998
- EA 2/06 (1997), 'Validation of test methods - General principles and concepts' februari 1997
- EPA (1982), 'Definition and procedure for the determination of the method detection limit', juli 1982
- Eurachem (1998), 'The fitness for purpose of analytical methods - A laboratory guide to method validation and related topics', versie 1.0
- Eurachem/CITAC (2000), 'Quantifying uncertainty in analytical measurement'
- IUPAC (1995), Nomenclature in Evaluation of Analytical Methods, Including Detection and Quantification Capabilities, IUPAC Recommendations 1995, Pure and Appl. Chem., 1995, 67, 1699 – 1723
- ISO 3534-1 (1993), 'Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: Probability and general statistical terms'
- ISO 5725-1 to -6 (1994), 'Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results'
- ISO 8466-1 (1990), 'Water quality – Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics: Part 1 – Statistical evaluation of the linear calibration function', 1st Edition 1990 (E)
- ISO 9169 (1994), 'Air quality - Determination of performance characteristics of measurement methods'
- ISO GUM / NBN X40-001 (1995), 'Guide to the expression of uncertainty in measurement'
- NBN-ISO 8402 (1990), 'Kwaliteit: Termen en definities'
- Ontwerp NEN 7777 (2001), 'Milieu - Prestatiekenmerken van meetmethoden', november 2001
- Pharmaceutisch Weekblad (1992), 'Richtlijnen voor analytische validatie', van de Vaart,

² In voorkomend geval wordt dit in de betreffende CMA-procedure en/of in een rapport van OVAM of het referentielaboratorium duidelijk aangegeven.

nr. 46, p. 1229-1235

- RIVM (1994), 'Prestatiekenmerken voor meetmethoden. Termen, definities en testprocedures ten behoeve van het Accreditatieprogramma Normalisatie en Validatie van Milieumeetmethoden', van de Wiel et al., Rapportnr. 219101004
- RvA SC08 (1996), 'Aanvullende criteria voor methode-validatie'

BIJLAGE 1 : Methodevalidatie van analysepakket met hoofdmatri(x)ces en bijhorende monstertypes

ANALYSEPAKKET	HOOFDMATRIX	MONSTERTYPES
1 aanvaardbaarheidscriteria voor afvalstoffen op stortplaatsen	pasteuze afvalstoffen	zuiveringsslib, bagger- en ruimingsspecie
	vaste afvalstoffen	bouw- en sloopafval, shredderafval, as en slakken
2.1 bodem algemeen	bodem	bodem
	water	grondwater
2.2 uitgegraven bodem	bodem	bodem
3 secundaire grondstoffen	pasteuze afvalstoffen	zuiveringsslib, bagger- en ruimingsspecie
	vaste afvalstoffen	bodemverbeterende middelen (excl compost), bouw- en sloopafval, as en slakken, uitgegraven bodem
4 gevaarlijke afvalstoffen	olie (1)	afgewerkte olie
	pasteuze afvalstoffen	zuiveringsslib, bagger- en ruimingsspecie
	vaste afvalstoffen	shredderafval, as en slakken
5 compost	compost	compost
7 eindproducten bij de verwerking van dierlijk afval	pasteuze afvalstoffen	dierlijk afval (vet)
	vaste afvalstoffen	dierlijk afval (meel)
9 specifieke verbrandingsparameters	olie	afgewerkte olie
	pasteuze afvalstoffen	zuiveringsslib
	vaste afvalstoffen	houtafval, as en slakken

(1) Vermits elk oliehoudend afval als gevaarlijk wordt aangeduid in de Europese afvalstoffenlijst is de validatie van alle parameters in de matrix olie niet noodzakelijk. Enkel voor de parameter PCB is validatie in matrix olie wel aangewezen vermits in de milieuvergunning van een meeverbrandingsinstallatie voor gevaarlijke afvalstoffen een maximumgehalte kan opgelegd worden.

Analysepakket 3.1			
PARAMETER	HOOFDMATRIX		MONSTERTYPES
	Pasteus	Vast	
Zuurtegraad	X		zuiveringsslib
Stikstof	X		zuiveringsslib
Difosforpentoxide	X		zuiveringsslib
Klei	X	X	bagger- en ruimingsspecie, uitgegraven bodem
Metalen via kolomtest	X	X	bagger- en ruimingsspecie, bouw- en sloopafval, as en slakken, uitgegraven bodem
Droogrest Metalen totaal Organische stof	X	X	zuiveringsslib, bodemverbeterende middelen (excl compost), bagger- en ruimingsspecie, uitgegraven bodem, bouw- en sloopafval, as en slakken

Analysepakket 3.3			
PARAMETER	HOOFDMATRIX		MONSTERTYPES
	Pasteus	Vast	
MAK, PAK, alkanen, EOX en minerale olie	X	X	zuiveringsslib, bagger- en ruimingsspecie, bodemverbeterende middelen (excl compost), bouw- en sloopafval, as en slakken, uitgegraven bodem
CI-KWS	X	X	zuiveringsslib, bodemverbeterende middelen (excl compost), bagger- en ruimingsspecie

Analysepakket 9				
PARAMETER	HOOFDMATRIX			MONSTERTYPES
	Olie	Pasteus	Vast	
Vlampunt	X			Olie
Oplosmiddelen (aspecifiek)	X			Olie
Gloeiverlies		X	X	Zuiveringsslib, as en slakken
TOC		X	X	Zuiveringsslib, as en slakken
Benzo(a)pyreen, PCP			X	houtafval
Droogrest	X	X	X	Olie, Zuiveringsslib, houtafval, as en slakken
Calorische waarde	X	X	X	Olie, Zuiveringsslib, houtafval
Chloriden Fluoriden Zwavel	X	X	X	Olie, Zuiveringsslib, houtafval
Metalen	X	X	X	Olie, Zuiveringsslib, houtafval
EOX	X	X	X	Olie, Zuiveringsslib, houtafval

BIJLAGE 2 : RICHTLIJNEN MET BETREKKING TOT ADDITIE

1 ALGEMENE RICHTLIJNEN VOOR ADDITIE

De additie van de component gebeurt proportioneel. Er wordt optimaal tussen 50% en 200% van de in het oorspronkelijk monster aanwezige hoeveelheid toegevoegd.

Het concentratieverschil dient voldoende groot te zijn in verhouding tot de beoogde meetonzekerheid, zonder evenwel de gelijkenis met praktijkmonsters in het gedrang te brengen.

De additie dient zodanig te gebeuren dat er minimale verdunning van het monster (behoud van matrix) optreedt. De verdunning bedraagt bij voorkeur niet meer dan 1% (m/m, v/v of v/m).

De additie dient zodanig uitgevoerd te worden dat de meetonzekerheid op het monster en het geaddeerd monster vergelijkbaar blijven (met behulp van voldoende betrouwbare standaardoplossing, ...).

2 SPECIFIEKE RICHTLIJNEN VOOR ADDEREN VAN VERSCHILLENDE MATRICES VOOR ORGANISCHE PARAMETERS

2.1 Adderen aan vaste materialen

2.1.1 matig vluchtige verbindingen

Afhankelijk van de grootte van de hoeveelheid materiaal, die voor de bepaling ingezet moet worden, moet een volume (ongeveer een tiende van het monstervolume) van een polair oplosmiddel (methanol, 2-propanol, aceton, ...) met een gekende hoeveelheid van te bepalen componenten, worden toegevoegd. Breng deze hoeveelheid niet op één plaats aan maar verdeel over het materiaal. Homogeniseer het monster en laat het oplosmiddel gedurende een voldoende lange tijd aan de lucht verdampen (bijvoorbeeld een nacht). Homogeniseer het monster opnieuw.

2.1.2 vluchtige verbindingen

Breng een hoeveelheid materiaal in een recipiënt en voeg de hoeveelheid oplosmiddel toe die voor de extractie/ontsluiting nodig is. Voeg vervolgens een gekende, kleine hoeveelheid (< 1 % v/v) van een oplossing met componenten toe. Deze oplossing dient met hetzelfde oplosmiddel aangemaakt te zijn als deze die voor de extractie/ontsluiting wordt gebruikt. Sluit de recipiënt af, homogeniseer en laat gedurende een voldoende lange tijd inwerken (bijvoorbeeld een nacht). Homogeniseer het monster opnieuw.

2.2 Adderen aan vloeistoffen

2.2.1 waterige oplossingen

Indien de componenten voldoende goed oplossen in water (bijv. fenolen, polaire pesticiden, ...) wordt in het monster een klein volume (< 0,1 % v/v) met een gekende hoeveelheid van de te bepalen stoffen gebracht. Deze stoffen dienen opgelost in een met water mengbaar oplosmiddel (methanol, 2-propanol, aceton, ...). Homogeniseer het monster.

Indien het componenten betreft die niet goed in water oplossen, brengt men in het geval van een vloeistof/vloeistof extractie eerst het monster over naar een scheitrechter en voert men nadien de additie (< 0,1 % v/v) uit. Wederom zijn de componenten in een met water mengbaar oplosmiddel opgenomen. Spoel de monsterrecipiënten na met het voor de extractie te gebruiken oplosmiddel.

Een andere mogelijkheid is het toevoegen van een additief waarmee de apolaire componenten in de matrix worden gehouden (bijvoorbeeld: 2-propanol, detergenten, ...). In dit geval kan men werken zoals voor polaire verbindingen aangegeven.

2.2.2 olie

Voeg aan een gekende hoeveelheid materiaal een kleine hoeveelheid (< 0,1 % v/v) oplossing toe met daarin de te bepalen componenten. Gebruik een oplosmiddel dat goed mengbaar is met de te onderzoeken olie (2-propanol, aceton, hexaan, ...). Homogeniseer het monster.