



## Die neue DIN 38402 - A51 zur linearen Kalibrierung von Analysenverfahren

Dank an Frau Gerhild Donnevert,  
Technische Hochschule Mittelhessen.  
Viele der folgenden Folien basieren auf  
einem ihrer Vorträge

### Dr.-Ing. Michael Koch

Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte und Abfallwirtschaft  
der Universität Stuttgart  
Arbeitsbereich Hydrochemie und Analytische Qualitätssicherung  
Bandtäle 2  
D-70569 Stuttgart  
Tel.: 0711 685 65444 / Fax: 0711 685 55444  
E-Mail: Michael.Koch@iswa.uni-stuttgart.de



## Die alte A51

- erschienen Mai 1986
- wurde damals hauptsächlich für photometrische Bestimmungen entwickelt
- Hauptziel war die Bestimmung von Verfahrenskenndaten
- zu viele Restriktionen für moderne Analysenverfahren

## Die alte A51

- **Varianzenhomogenität** muss erfüllt sein
- Arbeitsbereich i.d.R. **nur eine Dekade**
- Mind. 5, gewöhnlich **10 Kalibrierpunkte**
- **Äquidistante** Verteilung der Kalibrierpunkte
- Linearitätstest mit Anpassungstest nach **Mandel**
- Berechnung der **Verfahrenskenngrößen**
  - Reststandardabweichung  $s_y$
  - Verfahrensstandardabweichung  $s_{x0}$
  - Verfahrensvariationskoeffizient  $V_{x0}$
- Schätzung der Messunsicherheit aus der Kalibrierung über einen **Vertrauensbereich**

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Die neue DIN 38402 – A51 (Sept 2015)

- Ergebnis sechsjähriger, intensiver Diskussion
- Was ist neu?
  - neuer Linearitätstest
  - Arbeitsbereich kann viel größer sein
  - Varianzenhomogenität wird nicht vorausgesetzt
  - Beschreibung verschiedener Kalibrierstrategien
  - Strategien zur Prüfung der Gültigkeit der Kalibrierung
  - Mandel-Test, Berechnung von Verfahrenskennwerten und Vertrauensbereichen nur noch im informativen Anhang
- Ziel der Norm ist Kalibrierung für die **Routineanalytik**

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



## Linearitätstest – alt (Mandel-test)

- erfordert äquidistante Kalibrierung und Varianzenhomogenität
- Statistischer Signifikanztest angewandt auf Reststandardabweichungen aus linearer und quadratischer Regression
- Wenn die Reststandardabweichung aus der quadratischen Regression signifikant besser ist (99% Vertrauensniveau), dann ist die Kalibrierfunktion nicht linear

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



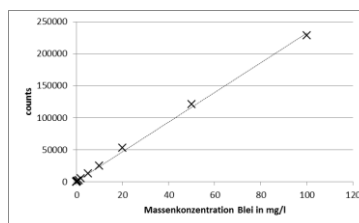
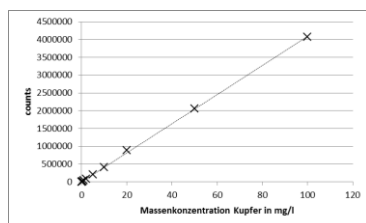
## Linearitätstest - neu

- 2 Möglichkeiten:
  - Punkt-zu-Punkt-Steigung (im normativen Teil)
  - Empirischer Krümmungstest (im informativen Anhang)

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Linearitätstest über Punkt-zu-Punkt-Steigung - I

- Erstellung einer Kalibrierreihe mit mindestens 6 Punkten
- Gehalte können äquidistant sein, auf geometrischer Reihe beruhen (1, 2, 4, 8,...) oder auf Zehnerpotenzen beruhen. Für Verfahren mit sehr großem Bereich z.B.: 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 50;...
- Mehrfachbestimmungen erhöhen die Aussagesicherheit
- Visuelle Prüfung im x-y-Diagramm
- Beispieldaten: Cu und Pb mittels ICP-OES



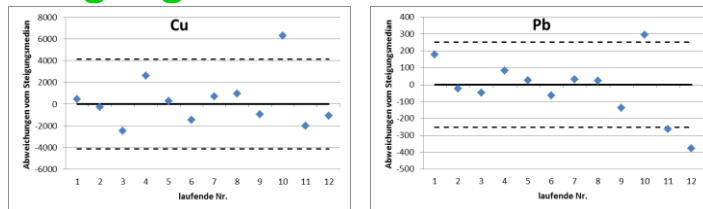
Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Linearitätstest über Punkt-zu-Punkt-Steigung - II

- Aus den Datenpaaren von je 2 aufeinanderfolgenden Messpunkten abschnittsweise die Steigungen  $b_i$  berechnen
- Diese sollten im Falle eines linearen Arbeitsbereichs um den Median streuen
- Ein nichtlinearer Bereich am Anfang oder am Ende fällt durch systematisch zunehmende oder fallende Abweichungen vom Median der Steigungen  $b_m$  auf
- Die Abweichungen der Steigungen zum Median werden graphisch dargestellt

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Linearitätstest über Punkt-zu-Punkt-Steigung - III



akzeptierte Toleranz: 10%

Pb: die höchsten beiden Kalibrierpunkte sind nicht mehr im linearen Bereich

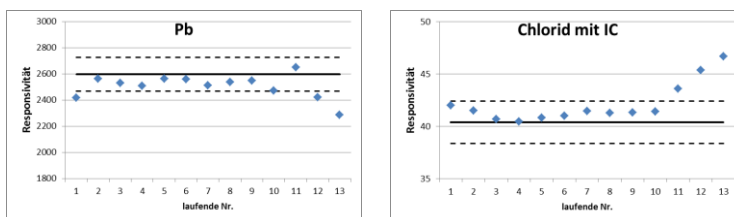
Cu: im gesamten Bereich linear

- Wird zusätzlich ein Toleranzbereich mit begrenzenden Linien ober- und unterhalb der Nulllinie aufgetragen, so kann der als linear akzeptierte Messbereich auf einfache Weise abgeschätzt werden
- Der Toleranzbereich wird entsprechend den Genauigkeitsanforderungen an die Analytik festgelegt
- Der lineare Arbeitsbereich endet (bzw. beginnt) an jenem Messpunkt, der noch im akzeptierten Streubereich um die Nulllinie liegt bzw. ab dem ein systematischer Trend erkannt wird

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Linearitätstest über empirischen Krümmungstest

- Hier wird für jeden Kalibrierpunkt die Steigung bezogen auf den Nullpunkt ermittelt (Responsivität)
- es wird die Abweichung zum Koeffizient b aus der Kalibrierfunktion zweiten Grades bestimmt ( $y = cx^2 + bx + a$ ). Diese darf maximal 5% betragen



Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



## Beschriebene Kalibrierstrategien - I

- **Kalibrierung des Messverfahrens mit externem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate der Analyten**
  - Matrixfreie Kalibrierlösung
  - Abszisse: Gehaltswerte
  - Ordinate: Anzeigewerte
  - Gehaltswert der Probe wird ungeachtet der Matrix der Probe aus dem Anzeigewert der Probe und der Kalibrierfunktion bestimmt
  - Matrixeinfluss oder verfahrensbedingte Einflüsse werden über die Wiederfindungsrate aufgestockter realer oder synthetischer Proben korrigiert, sofern notwendig
- für Analyseverfahren, bei denen aufgrund von Erfahrungen aus Normungsverfahren oder laborinternen Validierungen bekannt ist, dass die Wiederfindungsraten weitgehend konstant sind

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



## Beschriebene Kalibrierstrategien - II

- **Kalibrierung des Messverfahrens mit internem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate des internen Standards**
  - Matrixfreie Kalibrierlösung mit internem Standard
  - Abszisse: Quotient des Gehalts des Analyten in der Kalibrierlösung durch den Gehalt des internen Standards in der Kalibrierlösung
  - Ordinate: Quotient des zugehörigen Anzeigewerts der Standardsubstanz durch den Anzeigewert des internen Standards
  - Gehaltswert der Probe wird ermittelt aus dem Quotienten der Anzeigewerte des Analyten und des internen Standards und der Kalibrierfunktion
  - Durch das Zusetzen des internen Standards zur Probe vor der Probenaufarbeitung werden Matrixeinflüsse korrigiert
- für Analyseverfahren, bei denen die Matrices bei der Probenvorbereitung verschiedener Proben in nicht zu vernachlässigendem und unvorhersehbarem Maße die Messergebnisse beeinflussen

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51





## Beschriebene Kalibrierstrategien - III

- **Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit externem Standard**
  - synthetische Proben oder analytfreie reale Proben werden mit Analyt zur Herstellung von Kalibrierproben aufgestockt und dem gesamten Verfahren unterzogen
  - Abszisse: Gehaltswerte
  - Ordinate: Anzeigewerte
  - Gehaltswert der Probe wird ungeachtet der Matrix der Probe aus dem Anzeigewert der Probe und der Kalibrierfunktion bestimmt
  - Matrixeinfluss wird über Wiederfindungsrate aufgestockter Proben korrigiert
- für Analyseverfahren, bei denen aufgrund von Erfahrungen aus Normungsverfahren oder laborinternen Validierungen bekannt ist, dass matrixbedingte Störungen vorhanden sind, diese sich jedoch in Betrag und Richtung in der Regel gleichartig auf die Anzeigewerte auswirken

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



## Beschriebene Kalibrierstrategien - IV

- **Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit internem Standard**
  - synthetische Proben oder analytfreie reale Proben werden mit Analyt und internem Standard zur Herstellung von Kalibrierproben aufgestockt und dem gesamten Verfahren unterzogen
  - Abszisse: Quotient des Gehalts des Analyten in der Kalibrierprobe durch den Gehalt des internen Standards in der Kalibrierprobe
  - Ordinate: Quotient des zugehörigen Anzeigewerts der Standardsubstanz durch den Anzeigewert des internen Standards
  - Durch das Zusetzen des internen Standards zur Probe vor der Probenaufarbeitung werden Matrixeinflüsse korrigiert
- für Analyseverfahren, bei denen die Matrices bei der Probenvorbereitung verschiedener Proben in nicht zu vernachlässigendem und unvorhersehbarem Maße die Messergebnisse beeinflussen. Analyseverfahren, bei denen der Analyt bei der Probenvorbereitung in eine andere Form überführt wird, die nicht als Standardsubstanz verfügbar ist

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Beschriebene Kalibrierstrategien - V

- **Kalibrierung nach dem Verfahren der Standardaddition**
  - Die Probe selbst wird zur Herstellung der Kalibrierproben durch Aufstocken mit Analyt verwendet
  - Abszisse: Gehaltswert des durch Aufstockung zugesetzten Analytgehalts;
  - Ordinate: zugehörige Anzeigewerte
  - Gehaltswert der Probe wird durch Division des Anzeigewerts der unaufgestockten Probe durch die Steigung der Kalibrierfunktion ermittelt
- für Analyseverfahren, von denen bekannt ist, dass jede Matrix signifikant und in unvorhersagbarer Weise den Anzeigewert beeinflusst

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Strategien zur Prüfung der Gültigkeit der Kalibrierung

- Muss arbeitstäglich erfolgen
- Der notwendige Umfang der Prüfung ist von vielen Faktoren abhängig und muss vom Anwender festgelegt werden
- Mögliche Strategien
  - Überprüfung mit einer Kontrolllösung/-probe
    - Für Kalibrierstrategie I und II: unabhängige Kontrolllösung, z.B. aus zertifiziertem Standard
    - Für Kalibrierstrategie III und IV: Matrix-ZRM oder stabile reale Probe aus Laborvergleichsuntersuchungen
    - Dokumentation über Regelkarte
  - Prüfung der Steigung der Kalibriergeraden
    - mit zwei Kontrolllösungen/-proben
    - Prüfung der Steigung zwischen diesen beiden Punkten

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51





## Informative Anhänge

- Anhang A - Anpassungstest nach Mandel, Verfahrensstandardabweichung, Verfahrensvariationskoeffizient und Vertrauensbereich
- Anhang B - Beispiele Linearitätstest
- Anhang C - Prüfung des linearen Arbeitsbereichs mithilfe des empirischen Krümmungstests
- Anhang D - Gewichtete Regression – Wichtung  $1/x$

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



## Excel-Arbeitsblätter

- werden für die Berechnungen nach dieser Norm erstellt und der Öffentlichkeit zugänglich gemacht

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Fehler in der Norm

- die zunächst erstellten Excel-Arbeitsblätter waren fehlerhaft
- daher sind die Zahlenwerte und Diagramme im Anhang B fehlerbehaftet
- Obwohl die Norm erst im September 2015 erschienen ist, wird sie daher in Kürze neu veröffentlicht
- Dann kommt sie auch in die DEV

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

## Zusammenfassung

- Die neue Norm ist wesentlich mehr praxisorientiert
- Auf den Wegfall der Forderungen nach Varianzenhomogenität und Äquidistanz haben viele Analytiker sicher schon lange gehofft
- Viele Entscheidungen (z.B. Toleranz für die Linearitätsprüfung) liegen nun in Anwenderhand und können flexibler gehandhabt werden
- Wenn Verfahrenskenndaten ermittelt werden sollen, kann dies dennoch mit den im informativen Anhang aufgeführten Verfahren getan werden

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51



Universität Stuttgart

# HERZLICHEN DANK FÜR IHRE AUFMERKSAMKEIT

Koch, M.: Die neue DIN 38402 – A51

