

Käesolev dokument on vaid dokumenteerimisvahend ja institutsioonid ei vastuta selle sisu eest

► **B**

KOMISJONI OTSUS,

14. august 2002,

millega rakendatakse nõukogu direktiivi 96/23/EÜ analüüsimeetodite tulemuslikkuse ja tulemuste tõlgendamise osas

(teatavaks tehtud numbri K(2002) 3044 all)

(EMPs kohaldatav tekst)

(2002/657/EÜ)

(EÜT L 221, 17.8.2002, lk 8)

Muudetud:

Euroopa Liidu Teataja

		nr	lehekülg	kuupäev
► <u>M1</u>	Komisjoni otsus 2003/181/EÜ, 13. märts 2003	L 71	17	15.3.2003
► <u>M2</u>	Komisjoni otsus 2004/25/EÜ, 22. detsember 2003	L 6	38	10.1.2004



KOMISJONI OTSUS,

14. august 2002,

millega rakendatakse nõukogu direktiivi 96/23/EÜ analüüsimeetodite tulemuslikkuse ja tulemuste tõlgendamise osas

(teatavaks tehtud numbri K(2002) 3044 all)

(EMPs kohaldatav tekst)

(2002/657/EÜ)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 29. aprilli 1996. aasta direktiivi 96/23/EÜ teatavate elusloomades ja loomsetes toodetes esinevate ainete ja ainejääkide seiremeetmete kohta ning direktiivide 85/358/EMÜ ja 86/469/EMÜ ning otsuste 89/187/EMÜ ja 91/664/EMÜ kehtetuks tunnistamise kohta,⁽¹⁾ eriti selle artikli 15 lõike 1 teist lõiku,

ning arvestades järgmist:

- (1) Jääkide esinemine loomsetes saadustes on tervisekaitse probleem.
- (2) Komisjoni 23. veebruari 1998. aasta otsusega 98/179/EÜ (millega kehtestatakse teatavate elusloomades ja loomsetes toodetes esinevate ainete ja ainejääkide seire üksikasjalikud ametliku proovide võtmise eeskirjad)⁽²⁾ nähakse ette, et proove analüüsivad üksnes laborid, mille on ametlikuks jääkide kontrollimiseks heaks kiitnud pädev riigiasutus.
- (3) On vaja tagada ametlikuks jääkide kontrollimiseks heaks kiidetud laborite saadud analüüsitulemuste kvaliteet ja võrreldavus. Selle saavutamiseks tuleks kasutada kvaliteedi tagamise süsteeme ja eelkõige kohaldada tavapärase korra ja tulemuslikkuse kriteeriumide kohaselt valideeritud meetodeid ning tagada seostatus ühissandardite või ühiselt kokkulepitud standarditega.
- (4) Nõukogu 29. oktoobri 1993. aasta direktiivis 93/99/EMÜ (toiduainete ametlikku kontrolli käsitlevate lisameetmete kohta)⁽³⁾ nõutakse, et alates 2002. aasta jaanuarist peavad ametlikud kontrollilaborid olema akrediteeritud vastavalt ISO standardile 17025(1). Vastavalt otsusele 98/179/EÜ peavad heakskiidetud laboratooriumid osalema rahvusvaheliselt tunnustatud välise kvaliteedi kontrolli-, hindamis- ja akrediteerimiskavas. Peale selle peavad heakskiidetud laboratooriumid tõestama oma pädevust, osaledes korrapäraselt ja edukalt vastavates riiklike või ühenduse tugilaborite poolt tunnustatud või korraldatud tasemekatsete kavades.
- (5) Koordineerituse tõhustamiseks tegutseb direktiivi 96/23/EÜ alusel ühenduse tugilaborite, riigi tugilaborite ja riigi kontrollilaborite võrk.
- (6) Alates direktiivi 96/23/EÜ vastuvõtmisest analüütilise keemia vallas tehtud edusammudest tulenevalt on tavapärastel meetoditel ja standardmeetoditel põhinev käsitus asendatud kriteeriumidel põhineva lähenemisviisiga, mille puhul kehtestatakse tulemuslikkuse kriteeriumid ning sõelumis- ja kinnitusmeetodite valideerimise kord.
- (7) Direktiivi 96/23/EÜ ühtlustatud rakendamiseks on vaja kindlaks määrata ametlike kontrollilaborite katsetulemuste tõlgendamise ühiskriteeriumid.

⁽¹⁾ EÜT L 125, 23.5.1996, lk 10.

⁽²⁾ EÜT L 65, 5.3.1998, lk 31.

⁽³⁾ EÜT L 290, 24.11.1993, lk 14.

▼B

- (8) Direktiivi 96/23/EÜ ühtlustatud rakendamiseks on vaja ette näha analüüsimeetodi nõutava tulemuslikkuse miinimummäära (MRPL) järkjärguline kehtestamine selliste ainete puhul, mille kohta ei ole piirnõrmi kehtestatud, eelkõige nende ainete puhul, mille kasutamine ei ole lubatud või on ühenduses keelatud.
- (9) Komisjoni 26. septembri 1990. aasta otsus 90/515/EMÜ (milles sätestatakse raskemetallide ja arseeni jääkide kindlakstegemise standardmeetodid), ⁽¹⁾ komisjoni 14. mai 1993. aasta otsus 93/256/EMÜ (milles sätestatakse hormonaalse või türeostaatilise toimega ainete jääkide avastamise meetodid) ⁽²⁾ ja komisjoni 15. aprilli 1993. aasta otsus 93/257/EMÜ (milles sätestatakse standardmeetodid ja riigi tugilaborite loetelu jääkainete kindlakstegemiseks), ⁽³⁾ viimati muudetud otsusega 98/536/EÜ ⁽⁴⁾ on teaduse ja tehnika arengu arvessevõtmiseks uuesti läbi vaadatud ja leitud, et nende reguleerimisala ja sätted on aegunud, ning seepärast tuleks kõnealused otsused käesoleva otsusega kehtetuks tunnistada.
- (10) Ametlike proovide analüüsimeetodite kohandamiseks käesolevale direktiiviga tuleks sätestada üleminekuaeg.
- (11) Käesoleva otsusega ettenähtud meetmed on kooskõlas alalise toiduahela ja loomatervishoiu komitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA OTSUSE:

Artikkel 1

Sisu ja reguleerimisala

Käesoleva otsusega nähakse ette direktiivi 96/23/EÜ artikli 15 lõike 5 teise lause kohaselt võetavate ametlike proovide analüüsimeetodite kasutamise eeskirjad ning sätestatakse ametlikes kontrollilaborites saadud proovide analüüsitulemuste tõlgendamise ühised kriteeriumid.

Käesolevat otsust ei kohaldata ainete suhtes, mille kohta on muude ühenduse õigusaktidega sätestatud täpsemad eeskirjad.

Artikkel 2

Mõisted

Käesolevas otsuses kohaldatakse direktiivi 96/23/EÜ ja käesoleva otsuse ►**M1** I lisa ◀ sätestatud mõisteid.

Artikkel 3

Analüüsimeetodid

Liikmesriigid tagavad, et direktiivi 96/23/EÜ kohaselt võetud ametlikke proove analüüsitakse meetoditega, mis:

- a) on dokumenteeritud katsejuhistes, eelistatult vastavalt standardile ISO 78-2 (6);
- b) vastavad käesoleva otsuse ►**M1** I lisa ◀ 2. osale;
- c) on ►**M1** I lisa ◀ 3. osas kirjeldatud korras heaks kiidetud;
- d) vastavad artikli 4 kohaselt kehtestatavatele asjakohastele nõutavatele tulemuslikkuse miinimummääradele (MRPL).

⁽¹⁾ EÜT L 286, 18.10.1990, lk 33.

⁽²⁾ EÜT L 118, 14.5.1993, lk 64.

⁽³⁾ EÜT L 118, 14.5.1993, lk 75.

⁽⁴⁾ EÜT L 251, 11.9.1998, lk 39.

▼M2*Artikkel 4*

Liikmesriigid tagavad, et järgmiste ainete avastamiseks kasutatavad analüüsimeetodid vastavad II lisa sätestatud nõutavatele tulemuslikkuse miinimummääradele (MRPL), vastavalt kõnealuses lisa osutatud tabelitele:

- a) kloramfenikool
- b) nitrofuraani metaboliidid
- c) medroksüprogesteroon
- d) malahhiitroheline.

▼B*Artikkel 5***Kvaliteedikontroll**

Liikmesriigid tagavad direktiivi 96/23/EÜ kohaselt võetud proovide analüüsitulemuste kvaliteedi, eelkõige jälgides katsete ja/või kalibreerimise tulemusi vastavalt ISO standardi 17025(1) peatükile 5.9.

*Artikkel 6***Tulemuste tõlgendamine**

1. Analüüsitulemust käsitletakse nõuetele mittevastavana juhul, kui kinnitusmeetodi otsustamispiir analüüdi puhul ületatakse.
2. Kui aine puhul on piirnorm kehtestatud, on otsustamispiiriks kontsentratsioon, millest ülalpool saab statistilise kindlusega 1 α otsustada, et piirnorm on tõepoolest ületatud.
3. Kui aine puhul piirnormi kehtestatud ei ole, on otsustamispiiriks madalaim kontsentratsioon, mille juures saab statistilise kindlusega 1 α kinnitada, et konkreetne analüüt on olemas.
4. Direktiivi 96/23/EÜ I lisa A rühmas loetletud ainete puhul on α viga 1 % või väiksem. Kõigi muude ainete puhul on α viga 5 % või väiksem.

*Artikkel 7***Kehtetuks tunnistamine**

Otsused 90/515/EMÜ, 93/256/EMÜ ja 93/257/EMÜ tunnistatakse kehtetuks.

*Artikkel 8***Üleminekusätted**

Direktiivi 96/23/EÜ I lisa A rühmas loetletud ainete ametlike proovide analüüsimeetodeid, mis vastavad otsustes 90/515/EMÜ, 93/256/EMÜ ja 93/257/EMÜ sätestatud kriteeriumidele, võib kasutada kuni kaks aastat pärast käesoleva otsuse jõustumist. Meetodid, mida kohaldatakse direktiivi 96/23/EÜ I lisa B rühmas loetletud ainete suhtes, peavad vastama käesolevale otsusele hiljemalt viis aastat pärast käesoleva otsuse kohaldamiskuupäeva.

*Artikkel 9***Kohaldamiskuupäev**

Käesolevat otsust kohaldatakse alates 1. septembrist 2002.

▼B

Artikkel 10

Adressaadid

Käesolev otsus on adresseeritud liikmesriikidele.



I LISA

ANALÜÜSIMETODITE TULEMUSLIKKUSE KRITEERIUMID, MUUD NÕUDED JA MENETLUSED

1. MÕISTED

- 1.1. Mõõtetäpsus: katse tulemuse ja tunnustatud võrdlus/referentsväärtuste kokkulangevus. (2) See määratakse kindlaks tõesuse ja kordustäpsuse kindlaksmääramisel.
- 1.2. Alfa(α)-viga: tõenäosus, et uuritav proov on vastav, isegi kui on saadud mittevastav mõõtmistulemus (valepositiivne otsus).
- 1.3. Analüüt: aine, mis tuleb avastada, kindlaks teha ja/või kvantifitseerida, ning selle analüüsi käigus tekkivad derivaadid.
- 1.4. Beeta(β)-viga: tõenäosus, et uuritav proov on tegelikult mittevastav, isegi kui on saadud vastav mõõtmistulemus (valenegatiivne otsus).
- 1.5. Süstemaatiline viga: eeldatava katsetulemuse ja tunnustatud võrdlus/referentsväärtuse erinevus.(2)
- 1.6. Kaliibrimisstandard: mõõtevahend, mis kajastab asjaomase aine kogust viisil, mis seob selle väärtuse võrdlusbaasiga.
- 1.7. Sertifitseeritud etalonaine (SE): aine, mis sisaldab kindla hulga analüüti.
- 1.8. Täiendav (Ko-) kromatograafia: meetod, mille puhul ekstrakt jagatakse enne kromatograafilist käiku (kromatograafilisi astmeid) kaheks. Üks osa kromatografeeritakse kui selline. Teine osa segatakse mõõdetava standardanalüüdiga. Seejärel tehakse kromatograafiline analüüs ka sellele segule. Lisatud standardanalüüdi kogus peab olema ligikaudu sama suur kui ekstraktis eeldatavalt sisalduv analüüdikogus. See meetod on ette nähtud analüüdi identifitseeritavuse parandamiseks kromatograafiliste meetoditega, eriti kui ei saa kasutada sobivat sisestandardit.
- 1.9. Ühisuuring: ühe ja sama proovi analüüsimine sama meetodiga, et teha kindlaks meetodi tulemuslikkuse näitajad. Uuring hõlmab juhuslikku mõõteviga ja laboratooriumi süstemaatilist viga.
- 1.10. Kinnitav meetod: meetod, mis annab täielikku või täiendavat teavet, mis võimaldab aine ühest määramist ja vajaduse korral vajalikul tasemel kvantifitseerimist.
- 1.11. Määramispiir ($CC\alpha$): piir, mille juures või millest ülalpool võib veatõenäosusega α otsustada, et proov on mittevastav.
- 1.12. Avastamisvõime ($CC\beta$): väikseim ainesisaldus, mille võib proovis avastada, kindlaks teha ja/või kvantifitseerida veatõenäosusega β . Selliste ainete puhul, mille kohta ei ole piirnormati kehtestatud, on avastamisvõime madalaim kontsentratsioon, mis võimaldab meetodiga avastada tegelikult saastunud proove statistilise kindlusega 1 β . Selliste ainete puhul, mille kohta piirnorm on kehtestatud, on avastamisvõime kontsentratsioon, mis võimaldab meetodiga avastada piirnormati ulatuses kontsentratsioone statistilise kindlusega 1 β .
- 1.13. Rikastatud proov: proov, millele on lisatud kindel hulk määratavat analüüti.
- 1.14. Laboritevaheline uuring (võrdlus): ühe ja sama prooviga tehtavate katsete korraldamine, läbiviimine ja hindamine varem kindlaksmääratud tingimustel kahe või enama laboratooriumi poolt katse tulemuslikkuse kindlaksmääramiseks. Sõltuvalt uuringu

▼B

eesmärgist võib selle liigitada kas ühisuuringuks või tasemekatseks.

- 1.15. Sisestandard (IS): aine, mis ei sisaldu proovis ja mille füüsikaliskemilised omadused on võimalikult sarnased määratavale analüüdile ning mida lisatakse igasse proovi ja igasse kaliibrimisstandardisse.
- 1.16. Laboriproov: laboratooriumisse saatmiseks ettevalmistatud ja kontrollimiseks või analüüsimiseks ettenähtud proov.
- 1.17. Vajalik tase: proovis sisalduva aine või analüüdi kontsentratsioon, mis määraks kindlaks proovi vastavuse õigusaktidele.
- 1.18. Nõutav tulemuslikkuse miinimummäär (NTMM)(MRPL): väikseim analüüdi sisaldus proovis, mida tuleb vähemalt avastada ja kinnitada. Kõnealune määr on ette nähtud meetodite analüütilise tulemuslikkuse ühtlustamiseks selliste ainete puhul, mille kohta ei ole piinormi kehtestatud.
- 1.19. Tulemuslikkuse näitaja: funktsionaalne omadus, mille saab omistada analüüsimeetodile. Selleks võib olla näiteks spetsiifilisus, mõõtetäpsus, tõesus, kordustäpsus, korratavus, reprodutseeritavus, saagis, avastamisvõime ja ebaühtlus.
- 1.20. Tulemuslikkuse kriteeriumid: tulemuslikkuse näitaja nõuded, mille alusel saab otsustada, et analüüsimeetod on eesmärgikohane ja annab usaldusväärseid tulemusi.
- 1.21. Piinorm: jääkide ülempiiri, maksimumkogus või muu piinorm ainetele, mis on kehtestatud muudes ühenduse õigusaktides.
- 1.22. Kordustäpsus: ettenähtud (varem kindlaksmääratud) tingimustes saadud sõltumatute katsete tulemuste vaheline kokkulangevus. Täpsusmõõtu väljendatakse tavaliselt ebatäpsusena ning arvutakse katsetulemuse standardhälvena. Väiksem kordustäpsus määratakse suurema standardhälvena (2).
- 1.23. Tasemekatse: ühe ja sama proovi analüüsimine laboratooriumide endi valitud meetoditega, tingimusel, et kõnealuseid meetodeid kasutatakse rutiinselt. Uuring tuleb teostada vastavalt ISO juhiste 43-1 (3) ja 43-2 (4) ning seda võib kasutada meetodite reprodutseeritavuse hindamiseks.
- 1.24. Kvalitatiivne meetod: analüüsimeetod, millega määratletakse aine selle keemiliste, bioloogiliste või füüsikaliste omaduste põhjal.
- 1.25. Kvantitatiivne meetod: analüüsimeetod, aine hulga või massiosa määramiseks, mida saab väljendada sobivate ühikutega arvvärtustena.
- 1.26. Reaktiivi foon: täielik analüüs ilma proovita või kasutades vastava lahusti võrdväärset kogust.
- 1.27. Saagis: protsent aine tegelikust kontsentratsioonist, mis on analüüsi käigus taastuv. See määratakse sertifitseeritud etalonaine puudumisel kindlaks valideerimise käigus.
- 1.28. Etalonaine: seadmete kaliibrimiseks või mõõtemetodi kontrollimiseks kasutatav aine, mille üks või mitu omadust on kinnitatud valideeritud meetodiga.
- 1.29. Korratavus: kordustäpsus korratavuse tingimustes (2).
- 1.30. Korratavuse tingimused: tingimused, mille puhul sõltumatud katsetulemused saadakse sama meetodiga, identse katsematerjaliga, samas laboratooriumis, sama operaatori ja samade seadmetega.
- 1.31. Reprodutseeritavus: kordustäpsus reprodutseeritavuse tingimustes (2) (4).

▼B

- 1.32. Reprodutseeritavuse tingimused: tingimused, mille puhul katsetulemused saadakse sama meetodiga, identse katsematerjaliga, eri laboratooriumides, eri operaatorite ja erinevate seadmetega (2) (4).
- 1.33. Ebaühtlus: analüüsimeetodi tundlikkus muudatustele katsetingimustes, mida võib väljendada proovimaterjali, analüütide, säilitus-tingimuste, (välis)keskkonna ja/või proovi ettevalmistamistingimuste loeteluna, milles meetodit võib kohaldada esitataval kujul võiväheoluliste muudatustega. Kõigi katsetingimuste puhul, mis tegelikkuses võivad muutuda (nt reaktiivide stabiilsus, proovi koostis, pH, temperatuur) tuleb märkida kõik analüüsitulemusi mõjutavad muutused.
- 1.34. Proovi foon: analüüdita proovist võetud katsekoguse täielik analüüs.
- 1.35. Sõelumismeetod: meetod, mida kasutatakse aine või aineklasside olemasolu kindlakstegemiseks vajalikul tasemel. Need on suure läbilaskevõimega meetodid ja neid kasutatakse suure arvu proovide potentsiaalselt mittevastavate tulemuste väljasõelumiseks. Need meetodid on spetsiifiliselt kavandatud valenegatiivsete tulemuste vältimiseks.
- 1.36. Laborisisene uuring (laborisisene valideerimine): analüütiline uuring, mille teeb üks laboratoorium, kasutades ühte meetodit kas sama või erinevate katsematerjalide analüüsimiseks erinevates tingimustes küllaldaselt pika aja vältel.
- 1.37. Spetsiifilisus: meetodi võime eristada mõõdetavat analüüti teistest ainetest. See omadus tuleneb eelkõige kirjeldatud mõõtemetodist, aga võib erineda vastavalt ühendi või põhiaine klassile.
- 1.38. Standardlisandi meetod: menetlus, mille puhul uuritav proov jagatakse kaheks (või enamaks) katsekoguseks. Ühte kogust analüüsitakse sellisena, nagu see on, ja teistele katsekogustele lisatakse enne analüüsi kindlad standardanalüüdi kogused. Lisatava standardanalüüdi kogus peab olema proovis sisalduva analüüdi kogusest hinnanguliselt kaks kuni viis korda suurem. Kõnealune menetlus on ette nähtud proovis sisalduva analüüdi koguse määramiseks, võttes arvesse analüüsimeetodi saagist.
- 1.39. Standardanalüüt: teadaoleva ja kinnitatud sisalduse ja puhtusastmega analüüt, mida kasutatakse analüüsis võrdlusanalüüdina.
- 1.40. Aine: teatava või kindla keemilise koostisega aine ja selle metaboliidid.
- 1.41. Katsekogus: uuritavast proovist võetud ainekogus, mille kohta katse või vaatlus tehakse.
- 1.42. Uuritav proov: laboriproovist valmistatud proov, millest võetakse katsekogused.
- 1.43. Tõesus: suurte katsetulemuste seeriade põhjal saadud keskmise väärtuse ja tunnustatud referentsväärtuse kokkulangevus. Tõesust väljendatakse tavaliselt süstemaatilise veana (2).
- 1.44. Ühikud: ISO standardis 31 (20) ja direktiivis 71/354/EÜ (19) kirjeldatud ühikud.
- 1.45. Valideerimine: erinõuete konkreetsete tingimuste täitmise kinnitamine kontrollimisel ja selle kohta tõendite esitamine (1).
- 1.46. Laborisisene reprodutseeritavus: kordustäpsus, mis on saadud ühes ja samas laboratooriumis ettenähtud (eelmääratletud) tingimustes (mis on seotud näiteks meetodi, katsematerjali, operaatorite, keskkonnaga) põhjendatud suhteliselt pikkade ajavahemike jooksul.

▼B**2. ANALÜÜSIMEETODITE TULEMUSLIKKUSE KRITEERIUMID JA MUUD NÕUDED**

Allpool kirjeldamata analüüsimeetodeid või meetodite kombinatsioone võib kasutada üksnes sõelumise või kinnitamise eesmärgil juhul, kui suudetakse tõestada kõnealuste meetodite vastavust käesolevas otsuses sätestatud asjakohaste nõuetega.

2.1. ÜLDNÕUDED**2.1.1. Proovide käitlemine**

Proovid võetakse ja neid käideldakse ja töödeldakse sellisel viisil, et aine avastamisvõimalus oleks maksimaalne. Proovi käitlemine peab välistama analüütide juhusliku saastumise või kao võimalused.

2.1.2. Katsete tegemine**2.1.2.1. Saagis**

Proovide analüüsimise käigus määratakse iga proovipartii saagis, kasutades saagise kindlaksmääratud paranduskoefitsienti. Kindlaksmääratud paranduskoefitsienti kasutatakse juhtudel, kui saagis jääb piirnормi piiresse. Kui proovis sisalduva analüüdi konkreetset saagisetegurit ei kohaldata, kasutatakse proovis sisalduva analüüdi kvantitatiivseks kindlaksmääramiseks standardli-sandi meetodit (vt 3.5) või sisestandardit, vastasel korral kasutatakse konkreetse partii jaoks saadud saagise paranduskoefitsienti.

2.1.2.2. Spetsiifilisus

Meetodiga peab saama katsetingimustes eristada analüüti ja muid aineid. Esitada tuleb hinnang selle kohta, mil määral kõnealune eristamine on võimalik. Kirjeldatud mõõtmismeetodi kasutamisel tuleb iga eeldatava aine häirituse kõrvaldamiseks rakendada strateegiaid, näiteks homolooge, analooge, asjaomase jäägi ainevahe-tusprodukte. Ülioluline on võimalikest maatriksi osadest tuleneva häirituse uurimine.

2.2. SÕELUMISMEETODID

Vastavalt direktiivile 96/23/EÜ kasutatakse sõelumiseks üksnes selliseid analüüsimeetodeid, mille valideerimist saab dokumentaalselt tõestada ja mille vajalikul tasemel valenegatiivne vastus on $< 5\%$ (β -viga). Oletatav mittevastav tulemus tuleb kinnitada kinnitava meetodiga.

2.3. ORGAANILISTE JÄÄKIDE JA SAASTEAINETE KINNITAVAD MEETODID

Orgaaniliste jääkide või saasteainete kinnitavad meetodid annavad teavet analüüdi keemilise struktuuri kohta. Järelikult meetodid, mis põhinevad üksnes kromatograafilisel analüüsil ja mille puhul ei kasutata spektromeetrilist avastamist ei sobi kasutamiseks kinnitavate meetoditena. Kui üksikmeetod pole siiski piisavalt spetsiifiline, saavutatakse soovitatav spetsiifilisus menetlustega, mis koosnevad puhastamisest, kromatograa-filis(t)est lahutamist(t)est ja spektromeetrilise avastamise sobivatest kombinatsioonidest.

Orgaaniliste jääkide või saasteainete osutatud ainerühmade määramiseks sobivad järgmised meetodid või meetodite kombinatsioonid:

Tabel 1**Orgaaniliste jääkide või saasteainete sobivad kinnitavad meetodid**

Mõõtemetod	Ained 1. lisa 96/23/EÜ	Piirangud
massispektromeetrilise avastami-sega VK või GK	Rühmad A ja B	Ainult siis, kui eelneb kas on-line või off-line kromatograafiline lahutamine. Ainult siis, kui kasutatakse täieliku skaneerimise meetodeid või kui meetodite puhul, mis ei regis-treeri täielikku massispektrit, kasutatakse vähe-malt kolme (rühm B) või nelja (rühm A) identi-fitseerimispunkti.

▼B

Mõõtemetod	Ained 1. lisa 96/23/EÜ	Piirangud
IP-spektromeetrilise avastamisega VK või GK	Rühmad A ja B	Täidetud peavad olema IP-spektromeetria neeldumise erinõuded.
täieliku skaneerimisega VK DRD	Rühm B	Täidetud peavad olema UV-spektromeetria neeldumise erinõuded.
fluorestsents VK	Rühm B	Ainult loomulikult fluorestseeruvate ja kas transformatsiooni või derivatsiooni käigus loomuliku fluorestsentsi omandavate molekulide jaoks
2-D TLC – täieliku skaneerimisega UV/VIS piirides	Rühm B	Kahedimensionaalne HPTLC ja täiendav (ko-)kromatograafia on kohustuslikud.
elektronhaardega GK määramine	Rühm B	Ainult kaht erineva polaarsusega taset kasutades.
Immunogramm VK	Rühm B	Ainult vähemalt kaht eri kromatograafilist süsteemi või teist sõltumatut avastamismeetodit kasutades.
VK-UV/VIS (üks lainepikkus)	Rühm B	Ainult vähemalt kaht eri kromatograafilist süsteemi või teist sõltumatut avastamismeetodit kasutades.

2.3.1. Tulemuslikkuse ühiskriteeriumid ja -nõuded

Kinnitavad meetodid annavad teavet analüüdi keemilise struktuuri kohta. Kui rohkem kui üks ühend annab sama vastuse, ei suuda meetod neid ühendeid eristada. Meetodeid, mis põhinevad üksnes kromatograafilisel analüüsil ja mille puhul ei kasutata spektromeetrilist avastamist, ei sobi kinnitavate meetoditena kasutada.

Kui meetodis kasutatakse sobivat sisestandardit, lisatakse see katsekogusele ekstraheerimise alguses. Sõltuvalt kättesaadavusest kasutatakse kas analüüdi stabiilse isotoobiga märgistatud vorme, mis sobivad eelkõige mass-spektromeetriliseks avastamiseks, või ühendeid, mis on analüüdiga struktuurselt seotud.

Kui sobivat sisestandardit kasutada ei saa, kinnitatakse analüüdi identifitseerimine täiendava kromatograafiaga. Sel juhul saadakse ainult üks piik, mille suurenenud kõrgus (või pindala) vastab lisatud analüüdi kogusele. Gaaskromatograafia (GK) või vedelik-kromatograafia (VK) kasutamisel peab piigi laius (poolel piigi kõrgusel) selle keskosas olema vahemikus 90-110 % piigi aluslaiusest ning peetumisaegad võivad erineda 5 % ulatuses. Õhukese kihi kromatograafia (ÖKK) meetodite puhul muutub intensiivsemaks üksnes analüüdi poolt tekitatud laik; uut laiku ei teki ja visuaalne välimus ei muutu.

Etalonainet või rikastatud proovi, mis sisaldab teadaolevaid analüüdikoguseid kas piirnõrmile või (otsustamis)määramispiirile (mittevastav kontrollproov) vastaval või ligilähedasel määral, samuti kontrollaineid ja reaktiivfoone tuleks eelistatult rakendada kogu menetluse vältel üheaegselt iga analüüsitava proovipartiiga. Ekstraktide analüüsiseadmesse sisestamise järjekord on järgmine: reaktiivifoon, vastav kontrollproov, kinnitav(ad) proov(id), seejärel jälle vastav kontrollproov ja lõpuks mittevastav kontrollproov. Selle järjekorra muutmist tuleb põhjendada.

2.3.2. Kvantitatiivsete analüüsimeetodite tulemuslikkuse lisakriteeriumid ja muud nõuded

2.3.2.1. Kvantitatiivsete meetodite tõhusus

Sertifitseeritud etalonaine korduval analüüsimisel on katseliselt määratud, saagisega parandatud keskmise massiosa hálbe ulatus sertifitseeritud väärtusest järgmine:



Tabel 2

Kvantitatiivsete meetodite minimaalne tõesus

Massiosa	Ulatus
$\leq 1 \mu\text{g/kg}$	50 % + 20 %
$> 1 \mu\text{g/kg}$ 10 $\mu\text{g/kg}$	30 % + 10 %
$\geq 10 \mu\text{g/kg}$	20 % + 10 %

Sellise sertifitseeritud etalonaine puudumise korral tunnistatakse vastuvõetavaks mõõtmiste tõesuse hindamine (tühja) põhiainesse lisatud kindlate analüüdikoguste saagiste järgi. Keskmise saagisega parandatud andmed on vastuvõetavad üksnes siis, kui need jäävad tabelis 2 esitatud vahemikesse.

2.3.2.2. Kvantitatiivsete meetodite kordustäpsus

Etalonaine või rikastatud proovi korduval analüüsimisel reprodutseeritavuse tingimustes ei tohi laboritevaheline variatsioonikoefitsient (CV) ületada Horwitzi võrrandi järgi arvutatud väärtust. Võrrand on:

$$CV = 2^{(1-0,5\log C)}$$

kus C on massiosa, mida väljendatakse 10 astendajana (nt 1 mg/g = 10^{-3}). Näited on esitatud tabelis 3.

Tabel 3

Kvantitatiivsete meetodite reprodutseeritavuse variatsioonikordajate näited analüüdi (erinevates) massiosade vahemikes

Massiosa	Reprodutseeritavuse variatsioonikordaja (%)
1 $\mu\text{g/kg}$	(*)
10 $\mu\text{g/kg}$	(*)
100 $\mu\text{g/kg}$	23
1 000 $\mu\text{g/kg}$ (1 mg/kg)	16

(*) 100 $\mu\text{g/kg}$ väiksemate massiosade puhul annab Horwitzi võrrandi kohaldamine mitteaktsepteeritavalt kõrgeid väärtusi. Seepärast peavad alla 100 $\mu\text{g/kg}$ kontsentratsioonide puhul variatsioonikordajad olema võimalikult väikesed.

Korratavuse tingimustes tehtavate analüüside puhul on laborisisene variatsioonikordaja harilikult $\frac{1}{2}$ kuni $\frac{2}{3}$ eespool esitatud väärtustest. Laborisisese reprodutseeritavuse tingimustes tehtavate analüüside laborisisene variatsioonikordaja peab olema väiksem kui reprodutseeritavuse variatsioonikordaja.

Kindlaksmääratud piirnormiga ainete puhul peab meetodi laborisisene reprodutseeritavus kontsentratsioonil $0,5 \times$ piirnorm olema väiksem kui vastav reprodutseeritavuse variatsioonikoefitsient.

2.3.3. Mass-spektromeetrilise avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded

Mass-spektromeetrilised meetodid sobivad kinnitavateks meetoditeks üksnes pärast *on-line* või *off-line* kromatograafilist lahutamist.

2.3.3.1. Kromatograafiline lahutamine

Gaaskromatograafia mass-spektromeetria menetlemiseks peab gaaskromatograafiliseks lahutamiseks kasutama kapillaarkolonne. Vedelikkromatograafia mass-spektromeetria menetlemiseks peab kromatograafiline lahutamine toimuma sobivas vedelikkromatograafilises kolonnis. Igal juhul vastab analüüdi minimaalselt aktsepteeritav peetumisaeg kahekordsele kolonni tühimahule

▼B

vastavale peetumisaajale. Katsekoguses oleva analüüdi peetumisaeg (või suhteline peetumisaeg) peaks kokku langema analüüdi kalibreerimisstandardi peetumisaegade vahemikuga. Peetumisaegade aken/vahemik peaks olema samaulatuslik kromatograafilise süsteemi lahutusvõimega. Analüüdi kromatograafilise peetumisaaja ja sisestandardi suhe, st analüüdi suhteline peetumisaeg, peab vastama kalibreerimislahuse omale lubatava hälbele $\pm 0,5 \%$ gaaskromatograafias ja $\pm 2,5 \%$ vedelikkromatograafias.

2.3.3.2. Mass-spektromeetriline avastamine

Mass-spektromeetriline avastamine viiakse läbi, kasutades selliseid MS-metodeid nagu täieliku massispektri (täielik skaneerimine) või ionide valikkontrolli (IVK) analüüsid, samuti selliseid MS-MSⁿ meetodeid nagu reaktsioonide valikkontroll (RVK), või teisi sobivaid MS või MS-MSⁿ meetodeid, kombineeritult kohaste ionisatsiooniviisidega. Kõrglahutuvusega mass-spektromeetrias (KLMS) peab masside koguulatuse iseloomulik eristusvõime 10 % orus olema suurem kui 10 000.

Täielik skaneerimine: Kui mass-spektromeetriline avastamine sooritatakse kogu spektri analüüsil (täielikul skaneerimisel), siis kõigi määratud diagnostiliste ionide (molekulaarsed ionid, molekulaarsete ionide iseloomulikud liitumissaadused, iseloomulikud fragmentioonid ja isotoopioonid mille suhteline intensiivsus kalibreerimisstandardi võrdlusspektris on üle 10 %, olema-solu on kohustuslik.

IVK: Kui mass-spektromeetriline avastamine sooritatakse fragmentograafiliselt, peaks molekulaarne ioon eelistatult olema üks valitud diagnostilistest ionidest (molekulaarsed ionid, molekulaarse iooni iseloomulikud liitumissaadused, iseloomulikud ionide ja kõigi nende isotoopide fragmendid). Valitud diagnostilised ionid peavad eranditult pärinema molekuli ühest ja samast osast. Iga diagnostilise iooni signaali/müra suhe peab olema 3:1.

Täielik skaneerimine ja IVK: Avastatud ionide suhtelised intensiivsused, mida väljendatakse kõige intensiivsema iooni või siirde intensiivsuse protsendina, peavad vastama võrreldavates kontsentratsioonides ja samadel tingimustel kas kaliiberlahustest või tembitud proovidest määratud kalibreerimisstandardi suhtelistele intensiivsustele järgmiste lubatavate hälvetega.

Tabel 4

Suhteliste iooni intensiivsuste maksimaalselt lubatud hälbed mass-spektromeetriliste meetodite jaoks

Suhteline intensiivsus (% põhipiigist)	EL-GK-MS (suhteline)	KI-GC-MS, GK-MSn VK-MS, VK-MSn (suhteline)
> 50 %	$\pm 10 \%$	$\pm 20 \%$
> 20 % 50 %	$\pm 15 \%$	$\pm 25 \%$
> 10 % 20 %	$\pm 20 \%$	$\pm 30 \%$
$\leq 10 \%$	$\pm 50 \%$	$\pm 50 \%$

Massispektrite tulemuste tõlgendamine: diagnostiliste ionide ja/või eellas-/järglasioonpaaride suhtelised intensiivsused tuleb identifitseerida võrreldes spektreid või integreerides üksikute massi jälgede signaale. Iga taustaparanduse kasutamine kohaldatakse ühtlaselt kogu partiile (vt 2.3.1, punkt 4) ja näidatakse selgelt ära.

Täielik skaneerimine/täisspekter: koguspektri salvestamiseks lihtmass-spektromeetrias peavad esinema vähemalt neli iooni ja olema suhteliste intensiivsustega 10 % põhipiigist. Molekulaarne ioon tuleb kaasata, kui ta esineb referents-spektris suhtelise intensiivsusega 10 %. Vähemalt neli iooni peavad olema suhteliste iooni

▼B

intensiivsuste maksimaalselt lubatud hälvete piires (tabel 5). Kasutatakse otsingut arvuti andmebaasidest. Sel juhul tuleks uuritavate proovide mass-spektri tulemuste ja kaliibrimislahuse võrdlusel ületada kriitiline kokkulangevusfaktor. See faktor määratakse valideerimise käigus iga analüüdi jaoks spektri alusel, mille jaoks täidetakse allpool kirjeldatud kriteeriumid. Kontrollitakse proovi põhiaine ja detektori poolt põhjustatud muutusi spektris.

IVK: Kui massiosad mõõdetakse muul viisil kui kogu spektri analüüsil, tuleb tulemuste tõlgendamisel kasutada identifitseerimispunktide süsteemi. Direktiivi 96/23/EÜ I lisa rühmas A loetletud ainete kinnitamiseks on vaja vähemalt 4 identifitseerimispunkti. Direktiivi 96/23/EÜ I lisa rühmas B loetletud ainete kinnitamiseks on vaja vähemalt 3 identifitseerimispunkti. Allpool esitatud tabel näitab identifitseerimispunktide arvu, mida iga mass-spektromeetiline meetod võib leida. Selleks aga, et sobivaid kinnitamiseks vajalikke identifitseerimispunkte ja identifitseerimispunktide summat leida, tuleb:

- määrata vähemalt ühe iooni (tegevus)ulatus; ja
- kõik asjaspepuutuvad mõõdetavate ionide (tegevus)ulatused peavad ülalpoolkirjeldatud kriteeriumile vastama; ning
- vähima identifitseerimiseks vajalike punktide saamiseks võib kombineerida maksimaalselt kolme erinevat eraldusmeetodit.

Tabel 5

Massiosade klasside (tegevus)ulatuste ja leitud identifitseerimispunktide vaheline suhe

MS-meetod	Leitud identifitseerimispunktid iooni kohta
Madallahutusmass-spektromeetria (ML)	1,0
Eellasiooniga ML-MS ⁿ	1,0
Üleminekuvormidega ML-MS ⁿ	1,5
KLMS	2,0
Eellasiooniga KL-MS ⁿ	2,0
Üleminekuvormidega KL- MS ⁿ	2,5

Joonealused märkused:

- Iga iooni loetakse vaid üks kord.
- Elektronlööki-ionisatsiooni kasutavat GK-MS-i soovitatakse kui keemilise ionisatsiooni GK-MS erinevat meetodit.
- Erinevaid analüüte kasutatakse identifitseerimispunktide arvu suurendamiseks vaid siis, kui derivatiseerimisreaktsioonide kemism on erinev.
- Kui analüüsimisel kasutatakse üht järgmistest meetoditest: KSVK koos täisspektriga dioodreadetektori spektrofotomeetriaga (DRD); KSVK koos fluorestsents-avastamisega; KSVK koos immunogrammiga; kahedimensionaalne ÖKK koos spektromeetrilise avastamisega, siis võib direktiivi 96/23/EÜ I lisa rühma A ainete jaoks kaasata maksimaalselt ühe identifitseerimispunkti, kui neile meetoditele vastavad kriteeriumid on täidetud.
- Üleminekuvormid sisaldavad nii esimese kui teise astme tütarprodukte.

Tabel 6

Näited meetodite ja nende kombinatsioonide poolt leitud identifitseerimispunktide arvu kohta (n = täisarv)

Meetod(id)	Ioonide arv	Identifitseerimispunktid
GK-MS (EI või KI)	N	n
GK-MS (EI ja KI)	2 (EI) + 2 (KI)	4
2 derivaadiga GK-MS (EI or KI)	2 (derivaat A) + 2 (derivaat B)	4
VK-MS	N	n
GK-MS-MS	1 eellasprodukt ja 2 tütarprodukti	4

▼B

Meetod(id)	Ioonide arv	Identifitseerimispunktid
VK-MS-MS	1 eellasprodukt ja 2 tütarprodukti	4
GK-MS-MS	2 eellasprodukti, igaüks 1 tütarproduktiga	5
VK-MS-MS	2 eellasprodukti, igaüks 1 tütarproduktiga	5
VK-MS-MS-MS	1 eellas- ja 1 tütarprodukt ning 2 järgmise astme tütarprodukti	5,5
KLMS	N	2 n
GK-MS ja VK-MS	2 + 2	4
GK-MS ja KLMS	2 + 1	4

2.3.4. Kromatograafia ja infrapuna(se) spektri avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded

Nõuetekohased piigid: nõuetekohased piigid on standardanalüüdi suurim neeldumine infrapuna spektris, ja need vastavad järgmistele nõuetele.

2.3.4.1. Infrapuna(ne) avastamine

Neeldumismaksimum: lainepikkuste vahemik 4 000-500 cm^{-1} .

Neeldumisintensiivsus: see ei tohi olla väiksem kui kas:

- eri molaarne neeldumine, mis piigi põhijoone suhtes on 40; või
- suhteline neeldumine, mis moodustab 12,5 % kõige intensiivsema piigi neeldumisest vahemikus 4 000-500 cm^{-1}

kui mõlemad on mõõdetud nullneeldumise suhtes, ning moodustavad 5 % kõige intensiivsema piigi neeldumisest vahemikus 4 000-500 cm^{-1} , kui mõlemad on mõõdetud piigi põhijoone suhtes.

Märkus:

Kuigi teoreetiliselt võib eelistada punkti a kohaselt määratud piike, on praktikas neid lihtsam määrata vastavalt punktile b.

Määratakse piikide arv analüüdi infrapuna spektris, mille sagedus vastab standardanalüüdi kaliiberspektri nõuetekohasele piigile piirides $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

2.3.4.2. Infrapuna spektri tulemuste tõlgendamine

Neeldumine peab esinema analüüdi spektri kõikides osades, mis vastavad standardanalüüdi võrdlusspektris olevale nõuetekohasele piigile. Standardanalüüdi infrapuna spektris peab olema vähemalt kuus nõuetekohast piiki. Kui nõuetekohaseid piike on vähem kui kuus, ei saa kõnealust spektrit kasutada võrdlusspektrina. Tulemus, st analüüdi infrapuna spektris leitud nõuetekohaste piikide protsent, peab olema vähemalt 50. Kui nõuetekohasele piigile ei ole täpset vastet, peab analüüdi spektri vastav osa olema vastavuses sobiva piigiga. Menetlust kohaldatakse ainult neeldumiskiikide suhtes, mis asuvad proovi spektris, mille intensiivsus vastab vähemalt kolmekordsele tippudevahelisele mürale.

2.3.5. Vedelikkromatograafia ja teiste avastamismeetodite analüüdi avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded

2.3.5.1. Kromatograafiline lahutamine

Kui antud eesmärgiks sobiv materjal on kättesaadav, tuleks kasutada sisestandardit. See on eelistatult analüüdile lähedase peetumisaajaga sarnane standard. Analüüt peaks elueeruma peetumisaaja jooksul, mis on tüüpiline vastavale standardanalüüdile samadel katsetingimustel. Analüüdi vähim lubatav peetumisaeg peab olema kaks korda suurem kui kolonni tühimahule vastav peetu-

▼B

misaeg. Analüüdi peetumisaja ja sisestandardi suhe, st analüüdi suhteline peetumisaeg, peaks olema sama kui standardanalüüdi peetumisaeg sobiva põhiaine puhul, st jääma $\pm 2,5$ % piiridesse.

2.3.5.2. Täieliku skaneerimisega UV/VIS avastamine

Täidetud peavad olema vedelik-kromatograafia tulemuslikkuse kriteeriumid.

Analüüdi spektri suurim neeldumine peaks olema samadel lainepikkustel kui standardanalüüdi puhul analüüsiseadme lahutusvõime piires. Diiodirea määramisel on see tavaliselt ± 2 nm. Analüüdi spekter üle 220 nm ei või neis osades, kus kahe spektri suhteline neeldumine on ≥ 10 %, nähtavalt erineda standardanalüüdi omast. See kriteerium kehtib, kui esiteks esinevad samad maksimumid ja teiseks ükski kahe spektri punkt ei erine standardanalüüdist rohkem kui 10 %. Juhul kui kasutatakse otsinguid ja kokkulangevusi andmebaasidest, tuleb uuritavate proovide ja standardanalüüdi spektraalandmete võrdlusel ületada kriitiline kokkulangevusfaktor. See faktor tuleb valideerimise käigus spektri alusel määrata igale analüüdile, jälgides et ülalpoolkirjeldatud kriteeriumid oleksid täidetud. Kontrollida tuleb proovi põhiaine ja detektori poolt põhjustatud muutusi spektris.

2.3.5.3. Fluorimeetrilise avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid

VK-meetodite tulemuslikkuse kriteeriumid peavad olema täidetud.

See kehtib loomulikult fluorestseeruvate ja kas transformatsiooni või derivatsiooni käigus fluorestsentsi omandavate molekulide kohta. Kiirguslainepikkuste ja ergastuslainepikkuste valimine kombineeritult kromatograafiliste tingimustega tuleks teha viisil, mis minimeeriks häirivaid komponente fooniproovi ekstraktis.

Kromatogrammi piigi lähim maksimum peaks olema eraldatud analüüdi piigist vähemalt ühe piigi täislaiuse võrra analüüdi piigi 10 % maksimumkõrguse juures.

2.3.5.4 VK-immunogrammiga analüüdi avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid

VK-immunogramm pole iseseisvalt kinnitava meetodina kasutatav.

Tuleb täita VK-meetoditele vastavad kriteeriumid.

Varem määratletud kvaliteedikontrolli parameetrid, näiteks mitespetsiifiline seondumine, kontrollproovide suhteline seondumine ja tausta neeldumisväärtus peavad olema analüüsi valideerimise käigus saadud piirides.

Immunogrammi peab konstrueerima vähemalt viiest osast.

Iga osa peab olema väiksem kui pool piigilaiust.

Suurima analüüdisisaldusega osa peab olema sama kahtlustatavas proovis, mittevastavas kontrollis ja standardis.

2.3.5.5. Analüüdi avastamine, kasutades VK-d koos ühe lainepikkusega UV/VIS-ga

VK koos UV/VIS (ühel lainepikkusel) avastamisega pole iseseisvaks kasutamiseks sobiv kinnitav meetod.

Kromatogrammi piigi lähim maksimum peaks olema eraldatud analüüdi piigist vähemalt ühe piigi täislaiuse võrra analüüdi piigi 10 % maksimumkõrguse juures.

2.3.6. Kahedimensionaalne ÖKK koos täieliku skaneerimisega UV/VIS spektromeetrilise avastamise tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded analüüdi avastamiseks

Kahedimensionaalne (KLÖKK) (HPTLC) ja ko-kromatograafia on kohustuslikud.

▼B

Analüüdi ja standardi RF-väärtuste kokkulangevus peab olema $\pm 5\%$ piires.

Analüüdi ja standardanalüüdi visuaalne välimus peaksid olema eristamatud.

Sama värvi laikude jaoks peavad lähima laigu ja analüüdilaigu tsenterid olema eraldatud vähemalt poole laikude diameetrite summaga.

Analüüdi ja standardi spektrid ei tohi visuaalselt erineda, nagu on kirjeldatud täieliku skaneerimisega UV/VIS avastamise juures.

Juhul kui kasutatakse otsinguid ja kokkulangevusi andmebaasidest, tuleb uuritavate proovide ja standardanalüüdi spektraalandmete võrdlusele ületada kriitiline kokkulangevusfaktor. See faktor tuleb valideerimise käigus spektri alusel määrata igale analüüdile, jälgides, et eespool kirjeldatud kriteeriumid oleks täidetud. Kontrollida tuleb proovi põhiaine ja detektori poolt põhjustatud muutusi spektris.

2.3.7. GK- ja elektonihaardega avastamise (EHA)(ECD) kombineerimise tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded analüüdi avastamiseks

Kui antud eesmärgiks sobiv materjal on kättesaadav, tuleks kasutada sisestandardit. See võiks eelistatult olla analüüdile sarnane aine, talle lähedase peetumisaega. Analüüt peaks elueeruma peetumisajaga, mis on tüüpiline vastavale standardanalüüdile samadel katsetingimustel. Analüüdi vähim lubatav peetumisaeg peab olema kaks korda suurem kui kolonni tühimahule vastav peetumisaeg. Analüüdi ja sisestandardi peetumisaegade suhe, st analüüdi suhteline peetumisaeg, peaks olema sama kui standardanalüüdi peetumisaeg sobiva põhiaine puhul, st jääma $\pm 0,5\%$ piiridesse. Kromatogrammi piigi lähim maksimum peaks olema eraldatud analüüdi piigist vähemalt ühe piigi täislaiuse võrra analüüdi piigi 10 % maksimumkõrguse juures. Lisateabe saamiseks võib kasutada ko-(täiendavat)kromatograafiat.

2.4 KINNITAVAD MEETODID ELEMENTIDE ANALÜÜSIKS

Keemiliste elementide kinnitavad analüüsid põhinevad selgel identifitseerimisel ja nii õigel kui ka täpsel kvantifitseerimisel keemilistele elementidele unikaalsete füüsikalise-keemiliste omaduste põhjal (nt elementide iseloomulik kiirus- ja neeldumislainepikkus, aatommass) vajalikul tasemel.

Keemiliste elementide identifitseerimiseks on sobivad järgmised meetodid või meetodite kombinatsioonid:

Tabel 7

Keemiliste elementidele sobivad kinnitavad meetodid

Meetod	Mõõdetud parameeter
Diferentsiaal-inversioonvoltamperomeetria	elektriline signaal
Aatomabsorptsioonspektrometria	
Leek	neeldumise lainepikkus
Hüdriidide genereerimine	neeldumise lainepikkus
Külm aur	neeldumise lainepikkus
Elektrotermiline atomiseerimine (grafiitahi)	neeldumise lainepikkus
Aatomemissioonspektrometria	
Induktiivsidestunud plasma	kiirguse lainepikkus
Mass-spektrometria	
Induktiivsidestunud plasma	massi-laengu suhe

▼B**2.4.1. Kinnitavate meetodite üldised tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded**

Etalonainet või rikastatud proovi, mis sisaldab kindlaid analüüdikoguseid kas piirnормile või määramispiirile (mittevastav kontrollproov) vastaval või ligilähedasel määral, samuti kontrollaineid ja reaktiivifoone tuleks eelistatult rakendada kogu menetluse vältel üheaegselt iga analüüsitava proovipartiiga. Ekstraktide analüüsiseadmesse soovitatav sisestamise järjekord on järgmine: reaktiivifoon, vastav kontrollproov, kinnitav proov, vastav kontrollproov ja lõpuks mittevastav kontrollproov. Selle järjekorra muutmist tuleb põhjendada.

Üldiselt vajab enamik analüüsimeetodeid enne analüüdi määramist lahuse saamiseks orgaanilise põhiaiaine täielikku lagundamist. See saavutatakse mikrolainemineralsatsiooni menetlust kasutades, mis vähendab asjaomase analüüdi kadu ja/või saastumisohtu. Kasutada tuleks desinfitseeritud/(üli)puhtaid hea kvaliteediga teflonanumaid. Kui kasutatakse teisi märg- või kuivlaagerdusmeetodeid, peaks potentsiaalse kao või saastumise ilmingud olema dokumentaalselt välistatavad. Analüüsiseadmesse sisestamiseks võib alternatiivina laagerdamisele valida eraldamise menetlusi (nt ekstraheerimine), mis kindlatel tingimustel eraldavad analüüdid põhiaainest ja/või kontsentreerivad neid.

Kaliibrimisel, olgu ta väline või põhinegu standardi lisamise meetodil, ei tohiks väljuda analüüsi jaoks kehtestatud töövahemikust. Välist kaliibrimist kasutades on obligatoorne valmistada standardanalüüt proovilahuse koostisele võimalikult sarnases lahuses. Eri analüüsi tingimustes kasutatakse vajadusel taustaparandust.

2.4.2. Kvantitatiivsete analüüsimeetodite täiendavad tulemuslikkuse kriteeriumid ja muud nõuded**2.4.2.1. Kvantitatiivsete meetodite tõesus**

Sertifitseeritud etalonaine elementide kordusanalüüside puhul võib eksperimentaalselt määratud keskvärtuse hälve olla $\pm 10\%$ sertifitseeritud väärtusest. Selliste SE-de puudumisel tunnistatakse vastuvõetavaks mõõtmiste tõesuse hindamine tundmatusse proovi lisatud kindla elemendi hulga saagise järgi. Tähelepanuvääriv on asjaolu, et lisatud element, erinevalt analüüdist, ei ole maatriksiga keemiliselt seotud ja et seetõttu võrreldes SE-ga on sel viisil saadud tulemused vähem valiidid. Saagise tulemused on aktsepteeritavad, kui erinevus sihtväärtusest jääb $\pm 10\%$ piiresse.

2.4.2.2. Kvantitatiivsete meetodite kordustäpsus

Laborisese reprodutseeritavuse tingimustes tehtud proovi kordusanalüüsid ei tohi ületada laboritevahelise keskvärtuse variatsioonikordaja (CV) järgmisi väärtusi:

Tabel 8

Kvantitatiivsete meetodite elementide massiosade variatsioonikordajate vahemikud

Massiosa	Variatsioonikordaja (%)
$\geq 10 \mu\text{g/kg}$ 100 $\mu\text{g/kg}$	20
$> 100 \mu\text{g/kg}$ 1 000 $\mu\text{g/kg}$	15
$\geq 1\,000 \mu\text{g/kg}$	10

2.4.3. Diferentsiaal-inversioonvoltamperomeetria kriteeriumid

Väga oluline on orgaanilise aine täielik lagunemine proovides enne määramist diferentsiaal-inversioonvoltamperomeetriaga. Voltamperogrammil ei tohiks olla nähtavaid signaale orgaaniliste

▼B

ainete olemasolu kohta. Anorgaanilised maatriksi koostisosad võivad mõjutada piikide kõrgust diferentsiaal-inversioonvoltamperomeetrias. Seepärast tuleb teha kvantifitseerimine standardli-sandi meetodil. Proovilahuse tüüpilisi voltamperogrammi näiteid tuleb koos meetodiga lisada.

2.4.4. Aatomabsorptsioonspektromeetria erinõuded

See meetod on põhiliselt üheelemendiline ja vajab seetõttu katse-seadistuse optimeerimist konkreetse kvantifitseeritava elemendi suhtes. Tulemusi kontrollitakse võimalusel kvalitatiivselt ja kvan-titatiivselt alternatiivsetel absorptsioonijoontel (kahe joone valik oleks ideaalne). Kaliibrimisstandardid valmistatakse võimalikult proovimõõtmislahusele sarnases põhiaine lahuses (nt happe kont-sentratsioon või modifikaatori koostis). Taustaväärtuste vähenda-miseks peavad kõik reaktiivid olema kõrgeima kättesaadava puhtusastmega. Sõltuvalt proovi aurustamis- ja/või pihustamisvii-sist saab eristada eri tüüpe AAS-e.

2.4.4.1. Leek-aatomabsorptsioonspektromeetria erinõuded

Seade tuleks optimeerida iga elemendi tarvis. Eriti tuleks kont-rollida gaasi koostist ja voolukiirust. Valguse taustneeldumise häirete vältimiseks kasutatakse toiteallika pidevat korrektsiooni. Tundmatute matriitside korral kontrollitakse taustaparanduse vaja-dust.

2.4.4.2. Grafiitahju-aatomabsorptsioonspektromeetria erinõuded

Laboratoorne saastumine mõjutab tihti kordustäpsust grafiitahjus ultraväikeste kogustega töötamisel. Seetõttu tuleks kasutada kõrge puhtusastmega reaktiive, deioniseeritud vett ja inertset plastikut proovide ja standardite käitlemiseks. Iga elemendi jaoks optimee-ritakse seadistus. Eriliselt kontrollitakse eeltötluse ja atomiseeri-mise tingimusi (temperatuur, aeg) ja maatriksi modifikatsioone.

Töö isothermilistes atomiseerimistingimustes (nt Lvovi platvormile integreeritud ülekandega kuumutatav grafiittoru) (8) vähendab analüüdi atomiseerimisse puutuvat maatriksi mõju. Kombinee-rides maatriksi modifitseerimist ja Zeemani taustaparandust (9) lubatakse vee standardlahuste kaliibrimiskõveral põhinevat kvan-tifitseerimist.

2.4.5. Hüdriidide generatsiooni aatomabsorptsioonspektromeetria erinõuded

Arseeni, vismutit, germaaniumi, pliid, antimoni, seleeni, tina ja telluuriumi sisaldavad orgaanilised ühendid võivad olla väga stabiilsed ja vajavad elementide kogusisalduse õige tulemuse saamiseks oksüdatiivset lagundamist. Seetõttu soovitatakse mikrolainelagundamist või kõrgsurvetuhastust tugevates oksüda-tiivsetes tingimustes. Väga oluline on elementide täielik ja korratav muundumine vastavateks hüdriidideks.

Arseenihüdriidi generatsioon soolhappe lahuses NaBH_4 osalusel sõltub arseeni oksüdatsiooniastmest (As III: moodustub kiiresti, As V: nõuab pikemat moodustumisaega). Vähendamaks voogsi-sestusmeetodil As V määramisel tundlikkuse kadu, mis on põhjustatud selle süsteemi lühikesest reaktsioonijast, tuleks As V pärast oksüdatiivset lagundamist redutseerida As III-ks. Selleks otstarbeks sobivad kaaliumjodiid/askorbiinhape või tsüsteiin. Tühiproovid, kaliiberlahused ja proovilahused tuleb töödelda samal viisil. Ilma täpsuskaota saab mõlemat arseeni vormi määrata perioodilises süsteemis. As V hüdriidi viivitunud gene-ratsiooni tõttu tuleb kaliibrimisel kasutada piigi pindala integree-rimist. Aparatuuri seaded tuleb optimeerida. Eriti tähtis on kont-rollida gaasi voolu, mis viib hüdriidi atomisaatorisse.

2.4.6. Külmauru aatomabsorptsioonspektromeetria erinõuded

Külmauru kasutatakse ainult elavhõbeda puhul. Elementaarelav-hõbeda aurustumis- ja adsorptsioonikadude tõttu tuleks kogu

▼B

analüüsi vältel olla väga tähepanelik. Vältida tuleks reaktiivide ja väliskeskkonna poolset saastumist.

Elavhõbeda kogusisalduse õigeks määramiseks vajatakse elavhõbedat sisaldavate orgaaniliste ühendite oksüdatiivset lagundamist. Lagundamiseks kasutatakse mikrolainetöötusega või kõrgsurvetuhastamisega suletud süsteeme. Erilist tähelepanu vajavad elavhõbedaga kontaktis olnud seadmed.

Kasulik on töötada voolusisestusmeetodil. Madalamatel määramispiiridel soovitatakse elementaarse elavhõbeda adsorptsiooni määrata kuld-/plaatinaadsorbendil ja termilisel lagundamisel. Vältima peaks mõõtmist häirivat adsorbendi või rakuseina niiskumist.

2.4.7. Induktiivsidestunud plasma aatomiemissioonspektromeetria (ISP-AES) erinõuded

Induktiivsidestunud plasma aatomiemissioonspektromeetria (10) on mitmeelementne meetod, mille abil saab üheaegselt mõõta erinevaid elemente. Orgaaniliste maatriksite lagundamiseks tuleks enne ISP-AES kasutamist proovid lagundada. Kasutada tuleks mikrolainetöötusega või kõrgsurvetuhastamisega suletud süsteeme. Aparaaadi kaliibrimine ja elemendi või lainepikkuse valik on olulise tähtsusega mõtestatud ISP-AES analüüsil. Spektromeetria kaliibrimiseks lineaarsete kaliiberkõverate jaoks on tavaliselt vaja mõõta ainult neli kaliiberlahust, sest kontsentratsioonide vahemikus, mis erinevad neli kuni kuus suurusjärku, on ISP-AES kaliiberkõverad üldjuhul lineaarsed. ISP-AES süsteemis peaks kaliibreerimise läbi viima multi-elementse standardiga, lahuses, mis sisaldaks mõõtetalahusega samas kontsentratsioonis hapet. Lineaarse kõvera saamiseks kontrollitakse elemendi kontsentratsioone.

Lainepikkuste valik analüütide kiirguste mõõtmiseks vastab määratavate elementide kontsentratsioonidele. Kui analüüdi kontsentratsioon langeb kiirgusjoone mõõtepiirkonnast välja, tuleb kasutada teist kiirgusjoont. Kõigepealt valitakse kõige tundlikum kiirgusjoon (mitte interfereeruv), siis vähem tundlik joon. Töötades määramispiiril või selle läheduses, on kõige tundlikum joon tavaliselt parim valik. Spektraalsed ja taustainterferentsid põhjustavad peamisi raskusi ISP-AES-is. Võimalikud interferentsid (häired) on näiteks lihtne ja tõusu-langusega taustanihe, otsene spektri kattumine ja keerukas taustanihe. Igal sellisel interferentsil on omad põhjused ja abinõud selle vältimiseks. Sõltuvalt maatriksist rakendatakse kasutatavate parameetrite interferentsi korrektsioone ja optimeerimist. Mõnd interferentsi saab vältida maatriksi lahjendamisega või adaptatsiooniga. Iga katsepartiiga koos analüüsitavad kindlas hulgas analüüti sisaldavad etalonaine ja rikastatud proov, aga ka foonproov töödeldakse samuti kui katseproovid. Triivi määramiseks kontrollitakse näiteks iga 10 proovi järel standardit. Kõik reaktiivid ja plasmagaas peaksid olema kõrgeima võimaliku puhtusastmega.

2.4.8. Induktiivsidestunud plasma mass-spektromeetria (ISP-MS) erinõuded (11)

Keskmise aatommassiga raskemetallide, nagu krooni, vase ja nikli määramine on mõjutatud teistest isobaarsetest ja mitmeaatomilistest ioonidest. Seda saab vältida lahutusvõimsusega, mis on vähemalt 7 000 -8 000. Mass-spektromeetriaat komplitseerivad triiv, maatriksefektid ja molekulaarne ioonide interferents ($m/z < 80$). Seadme triivi ja maatriksefektide vältimiseks kaetakse määratavate elementide masside vahemik mitmete sisestandarditega.

Enne ISP-MS mõõtmist on vaja orgaanilised ühendid täielikult lagundada. Nagu ka AAS puhul, peaks lenduvad elemendid, näiteks joodi, pärast suletud anumates lagundamist, üle viima stabiilsesse oksüdeerunud olekusse. Kõige tugevamaid interferentse põhjustavad molekulaarse iooni kombinatsioonid argooniga (plasma gaas), vesinikuga, süsinikuga, lämmastikuga ja hapnikuga (lahustuvad happed, plasmagaasi lisandid ja atmosfääri gaaside kaasa-

▼B

mine) ja proovi maatriksiga. Interferentside vältimiseks on vajalik täielik laagerdus, tausta mõõtmine, sobivate analüütiliste masside valik, millega mõnikord kaasnevad madalam saagis (puudulik määramispiir) ja lahustuvad happed, näiteks lämmastikhape.

Elementide määramiseks tuleb välistada interferentsid, valides spetsiifilisi analüütilisi masse, kaasa arvatud sobivaid isotoopide suhteid. Iga mõõtmise juures kasutatakse sisestandardeid kontrollimaks aparatuuri Fano-koefitsiente.

3. VALIDEERIMINE

Valideerimine peab näitama analüüsimeetodi kasutatavuse kriteeriumi vastavust asjaomase tulemuslikkuse näitajaga.

Erinevate eesmärkide kontrollimiseks on eri tüüpi meetodid. Järgmine tabel piiritleb tulemuslikkuse näitaja ja kontrollitava meetodi tüübi.

Tabel 9

Analüüsimeetodite klassifitseerimine määratavate tulemuslikkuse näitajate järgi

		Otsustamis-/määramispiir CC β	Otsustamis-/määramispiir CC α	Tõesus/saagis	Kordustäpsus	Selektiivsus/spetsiifilisus	Kasutatavus/ebaühtlus/stabiilsus
Kvalitatiivsed meetodid	S	+	–	–	–	+	+
	C	+	+	–	–	+	+
Kvantitatiivsed meetodid	S	+	–	–	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = sõelumismeetodid; K = kinnitavad meetodid; + = määramine on kohustuslik.

3.1. VALIDEERIMISEMENETLUS

See peatükk sisaldab näiteid ja/või viiteid analüüsimeetodite valideerimismenetlustest. Tulemuslikkuse näitajate vastavust analüüsimeetodite tulemuslikkuse kriteeriumidele saab ka teisiti näidata, kui on tagatud informatsiooni sama tase ja kvaliteet.

Valideerimist saab teha, organiseerides *Codex Alimentarium*'i, ISO või IUPAC-i (12) järgi laboritevahelise uuringu või alternatiivsete meetodite jaoks üksiklabori uuringu või laborisise valideerimise (13) (14). See osa pöörab tähelepanu ühtsele laboriuuringule (või laborisisele valideerimisele) kasutades modulaarset lähenemist. Selline lähenemine koosneb:

1. valideerimise mudelist sõltumatute üldiste tulemuslikkuse näitajate süsteemist, ja
2. spetsiifilisest mudelist sõltuvatest menetlustest, nagu on kirjeldatud tabelis 10.

Tabel 10

Mudelist sõltumatud ja sõltuvad tulemuslikkuse näitajad

Valideerimine		
Mudelist sõltumatud tulemuslikkuse parameetrid	Mudelist sõltuvad tulemuslikkuse parameetrid	
Üldised tulemuslikkuse näitajad (3.1.1)	Tavavalideerimine (3.1.2)	Laborisene valideerimine (3.1.3)
Spetsiifilisus	Saagis	Saagis
Tõesus	Korratavus	Korratavus
Ebaühtlus: väiksed muutused	Laborisese reprodutseeritavusega	Laborisese reprodutseeritavusega



Valideerimine		
Mudelist sõltumatud tulemuslikkuse parameetrid	Mudelist sõltuvad tulemuslikkuse parameetrid	
Üldised tulemuslikkuse näitajad (3.1.1)	Tavavalideerimine (3.1.2)	Laborisisene valideerimine (3.1.3)
Stabiilsus	Reprodutseeritavus (Otsustamis)määramispiir ($CC\alpha$) Avastamisvõime ($CC\beta$) Kaliibrimiskõverad Ebaühtlus: suured muutused	Reprodutseeritavus (Otsustamis)määramispiir ($CC\alpha$) Avastamisvõime ($CC\beta$) Kaliibrimiskõver Ebaühtlus

3.1.1. Mudelist sõltumatud tulemuslikkuse näitajad

Valitud valideerimisviisist olenemata tuleb määrata järgmised tulemuslikkuse näitajad. Töömahu vähendamiseks võib hoolikalt ettevalmistatud ja statistiliselt korrektset lähenemist kasutada eri parameetrite määramiseks, kombineeritult tehtud katsetega.

3.1.1.1. Spetsiifilisus

Analüüsimetodite jaoks on oluline analüüdi ja temaga lähedaste ainete (isomeerid, metaboliidid, lagunemisproduktid, endogeensed ained, maatriksi komponendid jne) eristusvõime. Interferentsi tuleks kontrollida kahel viisil.

Seetõttu tuleks välja valida potentsiaalselt interfereeruvad ained ja analüüsida vastavad tühiproovid võimalike häirete suhtes ning interferentsi efekti hindamiseks:

- valida rida keemiliselt lähedasi ühendeid (metaboliite, derivaate jne) või teisi aineid, mille olemasoluga tuleks arvestada asjaomast ainet sisaldavas proovis,
- analüüsida sobiv arv tüüpilisi tühiproove ($n = 20$) ja kontrollida põhianalüüdi eeldatavas elueerumisvahemikus igat häirivat mõju (signaalid, piigid, ionide jäägid),
- lisaks sellele tuleks vastavad tühiproovid rikastada analüüdi avastamist ja/või kvantifitseerimist eeldatavalt häirivate ainete kindlate kontsentratsioonidega,
- pärast analüüsimist uurida, kas:
 - häirijate kohalolek võiks viia vale tulemiseni,
 - põhianalüüdi avastamine on ühe või mitme häirija kohalolust takistatud, või
 - mõju kvantifitseerimisele on märkimisväärne.

3.1.1.2. Tõesus (keskmise tulemuse lähedusaste etaloni väärtusele)

Selles lõigus kirjeldatakse tõesuse (ühe mõõtetäpsuse komponendi) määramist. Mõõtetäpsust saab hinnata ainult sertifitseeritud etalonainet (SE) kasutades. SE-d kasutatakse kus iganes võimalik. Seda menetlust kirjeldab üksikasjalikult ISO 5725-4 (5). Näide on toodud allpool:

- analüüsida vastavalt meetodi juhendile SE kuut paralleelset proovi,
- määrata analüüdi kontsentratsioon kõigis paralleelproovides,
- arvutada nende kontsentratsioonide keskvärtus, standardviga ja variatsioonikoefitsendid (%),
- arvutada mõõtetäpsus, jagades määratud kontsentratsioonide keskvärtuse sertifitseeritud väärtusega (kontsentratsioonina mõõdetud) ja korrutada protsendina väljendamiseks 100-ga.

Mõõtetäpsus (%) = saagisega parandatud kontsentratsiooni määratud keskvärtus $\times$ 100/standardvärtus.

▼B

Kui pole võimalik kasutada sertifitseeritud etalonainet, tuleks mõõtetäpsuse asemel määrata saagis, nagu on kirjeldatud edaspidi punktis 4.1.2.1.

3.1.1.3. *Rakendatavus/ebaühtlus: väikesed muutused*

Sellistel uuringutel kasutatakse labori väikseimate võimalike variatsioonide ja nende tähtsuse etteantud juhiseid.

Eeluuringud tuleks teha, valides mõõtmistulemusi mõjutavaid proovi eeltöötluste, puhastamise ja analüüsi tegureid. Sellisteks teguriteks võivad olla nii analüüsija, reaktiivide, lahustite, standardite ja proovi ekstraktide päritolu ja vanus, kuumutusküürus, temperatuur, pH-väärtus kui ka palju teisi laboris esinevaid mõjureid. Neid tegureid tuleks modifitseerida laboritevaheliste hälvetega piires.

— Avasta võimalikud tulemusi mõjutavad tegurid.

— Muuda veidi igat tegurit.

— Teha Youdeni (15) (16) meetodil põhinev ebaühtluskatse. (Selles punktis võib kasutada ka teisi kinnitavaid meetodeid. Ent Youdeni meetod vähendab aja- ja jõukulu.) Youdeni meetod põhineb murdfaktoriaalsel katseplaanil. Eri mõjurite vahelisi interaktsioone ei saa määrata.

— Kui leitakse mõõtmistulemusi märkimisväärselt mõjutav tegur, tuleks teha edasised katsed selgitamiseks selle teguri vastuvõetavad piirid.

— Märkimisväärselt mõõtmistulemusi mõjutavad tegurid tuleks meetodi protokollis selgelt ära näidata.

Põhiidee on mitte ühe, vaid mitmete muutujate jälgimine ajas. Näiteks tähistagu A, B, C, D, E, F, G seitsme erineva tulemusi mõjutada võiva muutuja nominaalväärtusi juhul, kui nende nominaalväärtusi on veidi muudetud. Olgu nende asendusväärtused tähistatud vastavalt väikeste tähtedega a, b, c, d, e, f ja g. See osutab 2⁷-le või 128 võimalikule kombinatsioonile.

Kaheksast sellisest kombinatsioonist on võimalik valida alamhulk, kus väikesed ja suured tähed on tasakaalus (tabel 11). Valitud tegurite (A–G) kombinatsioonist tuleks teha kaheksa määramist. Määramistulemused on esitatud tabelis 11 kui S–Z.

Tabel 11**Ebaühtlusuuringute (väikesed muutused) katseskeem**

Teguri väärtus F	Määratud kombinatsioonide arv							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
mõõdetud tulemus R	S	T	U	V	W	X	Y	Z

Arvutamiseks vaata ebaühtlusuuringute näiteid punktis 3.3.

3.1.1.4. *Stabiilsus*

On näidatud, et analüüsitulemuste märkimisväärsed hälbed võib põhjustada analüüdi ja maatriksi koostisosade vähene stabiilsus

▼B

proovi säilitamisel või analüüsimisel. Peale selle tuleks kontrollida kaliibrimisstandardi lahuse stabiilsust. Tavaliselt on hästi teada analüüdi stabiilsus erinevatel säilitamistingimustel. Säilitamistingimuste järelevalve on osa labori akrediteerimissüsteemist. Kui see pole teada, määratakse stabiilsus vastavalt allpool toodud näidetele.

Analüüdi stabiilsus lahuses:

- Valmistada värsked analüüdi põhilahused ja lahjendada vastavalt katsejuhiste saamiseks iga valitud kontsentratsiooni (nõutava tulemuslikkuse miinimummäär ligiduses ainete jaoks, millele ei ole lubatud piirnormati kehtestatud, või teiste ainete jaoks piirnormati läheduses) jaoks vajaliku hulga alikvooti (nt 40). Valmistada nii mõlemad analüüdilahused kasutamiseks rikastamisel ja lõplikus analüüsilahuses kui ka kõik muud huvipakkuvad lahused (nt tuletatud standardid).
- Mõõta analüüdihulk värskelt valmistatud lahuses vastavalt katsejuhiste.
- Jagada vajalikud mahud sobilikesse anumatesse, märgistada ja säilitada vastavalt skeemile:

Tabel 12

Analüüdilahuse stabiilsuse määramisskeem

	–20 °C	+4 °C	+20 °C
Tume	10 alikvooti	10 alikvooti	10 alikvooti
Hele			10 alikvooti

- Valida võib kas ühe-, kahe- kolme- ja neljanädalase või vajadusel pikema säilitusaja, nt kuni esimese avastamise ja/või kvantifitseerimise mõõdetava degradatsiooniilminguni.
- Analüüdi/analüütide kontsentratsiooni(de) arvutamiseks igas alikvoodis tuleks värskelt valmistatud analüüdilahuse defineerida 100 %ks.

$$\text{Analüüdi jääk (\%)} = C_i \times 100 / C_{\text{värске}}$$

C_i = kontsentratsioon ajahetkel

$C_{\text{värске}}$ = värskeltvalmistatud lahuse kontsentratsioon

Analüüdi stabiilsus maatriksis

- Igal võimalikul juhul tuleks kasutada loomulikult teel nakatunud proove. Kui loomulikult teel nakatunud materjali pole, tuleks kasutada analüüdiga rikastatud maatriksit.
- Kui loomulikult teel nakatunud materjal on olemas, tuleks määrata nakatunud aine kontsentratsioon, kuni ta on veel värске. Järgnevad aine alikvoodid võiks võtta ja määrata ühe, kahe, nelja ja 20 nädala pärast. Kude tuleks säilitada vähemalt –20 °C juures või vajadusel madalamal temperatuuril.
- Kui loomulikult teel nakatunud materjali pole, tuleks võtta mõni puhas materjal ja see homogeniseerida. Jagada see viieks alikvoodiks. Rikastada iga alikvooti eelistatult väikeses hulgas vees valmistatud analüüdiga. Analüüsida üks osa kohe. Säilitada ülejäänud osad vähemalt –20 °C juures või vajadusel madalamal temperatuuril ja analüüsida ühe, kahe, nelja ja 20 nädala pärast.

3.1.1.5. Kaliibrimiskõverad

Kui kaliibrimiskõveraid kasutatakse kvantifitseerimisel:

- tuleks kaliibrimiskõvera tegemiseks kasutada vähemalt viit kontsentratsiooni (sisaldab nulli),

▼B

- peaks kaliibrimiskõvera kontsentratsioonidevahemik olema põhjendatud,
- peaks kaliibrimiskõvera matemaatiline valem ja andmete kõverale paigutamise kvaliteet sellega olema kirjeldatud,
- peaks kaliibrimiskõvera parameetrite lubatavad piirid olema kirjeldatud.

Kui standardlahust on vaja seeriaviisiliselt kaliibrida, tuleks näidata seeriast seeriasse muutuvate kaliibrimiskõvera parameetrite lubatud piirid.

3.1.2. Tavalised valideerimismenetlused

Parameetrite arvutamine kooskõlas tavameetoditega nõuab mitmete üksikkatsete tegemist. Iga suurema muutuse jaoks tuleb määrata mõõtmissuurus (vaata rakendatavuse/ebaühtluse alt eestpoolt). Kui enne on välistatud võimalikud interferentsid, võib mitme analüüdi koostääramismeetodite puhul üheaegselt määrata mitut analüüti. Mitmeid mõõtmissuursi võib määrata samal viisil. Seetõttu soovitatakse töömahu vähendamiseks kombineerida nii palju katseid kui võimalik (nt korratavust ja laborisest reprodutseeritavust spetsiifilisusega, tühiproovide analüüsi määramispiiri kindlakstegemise ja spetsiifilisusega).

3.1.2.1. Saagis

Kui sertifitseeritud etalonainet pole, tuleks saagist määrata katsetes, kus kasutatakse rikastatud puhast maatriksit, näiteks järgmise skeemi kohaselt:

- valida 18 puhta maatriksi alikvooti ja rikastada kuus igast alikvoodist kas 1-, 1,5- ja 2-kordse nõutava tulemuslikkuse miinimummääraga või 0,5-, 1- ja 1,5-kordse lubatud piirnorgiga,
- analüüsida proovid ja arvutada kontsentratsioon igas proovis,
- arvutada iga proovi saagis, kasutades allpool olevat valemit,
- arvutada saagise keskvärtus ja variatsioonikoefitsient iga taseme jaoks,
- saagise % = $100 \times \text{mõõdetud sisaldus/rikastustase}$.

See saagise määramise tavameetod on üks osa punktis 3.5 kirjeldatud standardi lisamise meetodist, kui

- proov loetakse tühiprooviks,
- loetakse samaks kahe katsekoguse taastusvõime ⁽¹⁾ ja saagis ⁽²⁾,
- katseproovide kaalutised ja katsekoguste ekstraktide mahud on samad,
- teisele (tembitud) katsekogusele on lisatud kaliibrimisstandardi hulk x_{ADD} ($x_{ADD} = \rho_A \cdot V_A$),
- x_1 on tühiproovi ja x_2 teise (tembitud) katsekoguse mõõdetud väärtus,
- siis, saagise % = $100 (x_2 - x_1)/x_{ADD}$.

Kui üks neist eespool kirjeldatud tingimustest ei ole täidetud, tuleb kohaldada täielikku standardi lisamise meetodi saagise määramismenetlust, nagu on kirjeldatud punktis 3.5.

⁽¹⁾ Saagis: see analüüdi osakaal proovis, mis esineb lõppekstraktis.

⁽²⁾ Taastamisvõime (siin): see proovile lisatud analüüdi osakaal, mis esineb lõppekstraktis. Kogu ülejäänud dokumendis eeldatakse, et saagis ja taastamine on võrdsed ja seetõttu kasutatakse ainult terminit "saagis".

▼B3.1.2.2. *Korratavus*

- Samadel maatriksitel valmistatakse mitmeid analüüdiga rikastatud proove saamaks 1-, 1,5- ja 2-kordse nõutava tulemuslikkuse miinimummääraga või 0,5-, 1- ja 1,5-kordse lubatud piinormiga samaväärseid kontsentratsioone.
- Igal tasemel analüüsitakse vähemalt kuut paralleeli.
- Proov analüüsitakse.
- Iga proovi jaoks arvutatakse kontsentratsioon.
- Leitakse rikastatud proovide kontsentratsioonide keskvärtus, standardviga ja variatsioonikoeffitsiendid (%).
- Neid samme korratakse vähemalt kahel teisel juhul.
- Kõigi rikastatud proovide jaoks arvutatakse kontsentratsioonide keskvärtus ja variatsioonikoeffitsient.

3.1.2.3. *Laborisene reprodutseeritavus*

- Kindlaksmääratud katsematerjalist (samadel või erinevatel maatriksitel) valmistatakse mitmeid analüüdiga rikastatud proove saamaks 1-, 1,5- ja 2-kordse nõutava tulemuslikkuse miinimummääraga või 0,5-, 1- ja 1,5-kordse lubatud piinormiga samaväärseid kontsentratsioone.
- Igal tasemel analüüsitakse vähemalt kuut paralleeli.
- Neid samme korratakse vähemalt kahel teisel juhul erinevate operaatorite poolt ja erinevates keskkonnatingimustes, nt kasutades erinevaid reaktiivide, lahustite jne partiisid, erinevaid temperatuure, seadmeid jne.
- Proov analüüsitakse.
- Arvutatakse iga proovi kontsentratsioon.
- Arvutatakse kõigi rikastatud proovide kontsentratsioonide keskvärtus ja variatsioonikoeffitsient (%des).

3.1.2.4. *Reprodutseeritavus*

Reprodutseeritavuse kinnitamiseks peaksid laborid vastavalt ISO 5725-2 (5) osalema ühisuuringutes.

3.1.2.5. *Määramispiir (CC_a)*

Määramispiir tuleb kindlaks teha vastavalt avastamisnõuetele või avastamis- ja kvantifitseerimisnõuetele nagu on määratletud 2. osas "Analüüsimeetodite tulemuslikkuse kriteeriumid ja teised nõuded".

Ainete jaoks, millele pole lubatud piinorme kehtestatud, tuleks määratlada CC_a:

- kas vastavalt ISO 11843 (17) (siin viidatud kui põhioleku muutuja kriitilisele väärtusele) kaliibrimiskõvera menetlusele. Sel juhul kasutatakse puhta materjali rikastamist võrdsete hüpsetega nõutava tulemuslikkuse miinimummääral ja üle selle oleva ainehulgaga. Proov analüüsitakse. Pärast avastamist joonistatakse signaali ja lisatud kontsentratsiooni sõltuvuse graafik. Määramispiiriks on kontsentratsioon, mis vastab y-telglõigule liidetud 2,33 kordsele laborisisesele telglõigu korratavuse standardveale. See on kohaldatav ainult kvantitatiivsete meetodite jaoks ($\alpha = 1\%$),
- või analüüsides vähemalt 20 puhast ainet maatriksi kohta, et arvutada signaali müra suhe analüüdi eeldatavas ajaaknas. Kolmekordset signaali müra suhet võib kasutada kui määramispiiri. See on kohaldatav kvantitatiivsete ja kvalitatiivsete meetodite jaoks.

▼B

Ainetele, mille jaoks lubatud piimormid on kehtestatud, tuleks määratleda CC α :

- kas vastavalt ISO 11843 (17) (siin viidatud kui põhioleku muutuja kriitilisele väärtusele) kaliibrimiskõvera menetlusele. Sel juhul kasutatakse puhta aine rikastamist võrdsete hüpetega lubatud piinormi ümber. Proov analüüsitakse. Pärast avastamist joonistatakse signaali ja lisatud kontsentratsiooni sõltuvuse graafik. Määramispiiriks ($\alpha = 5\%$) on kontsentratsioon, mis vastab lubatud piinormile liidetud 1,64-kordsele laborisisesele korratavusele,
- või analüüsides vähemalt 20 rikastatud puhast ainet maatriksi kohta, kus analüüdi hulk on lubatud piinormi juures. Määramispiiriks ($\alpha = 5\%$) on kontsentratsioon, mis vastab lubatud piinormile liidetud 1,64-kordsele vastavale laborisisesele standardveale.

Vaata ka artiklit 5 ja punkti 3.2.

3.1.2.6. Avastamisvõime (CC β)

Avastamisvõime määratakse vastavalt sõelumise, avastamise või avastamise ja kvantifitseerimise järgi Commande ZA sans blanc avant! – FI 2004/06/001(vaata 2. osa).

Ainetele, mille jaoks pole lubatud piimorme kehtestatud, tuleks määratleda CC β :

- vastavalt ISO 11843 (17) (siin viidatud kui põhioleku muutuja väikseimale määratud väärtusele) kaliibrimiskõvera menetlusele. Sel juhul kasutatakse puhta materjali rikastamist võrdsete hüpetega nõutava tulemuslikkuse miinimummääral ja alla selle olevate ainehulkadega. Proov analüüsitakse. Pärast identifitseerimist joonistatakse signaali ja lisatud kontsentratsiooni sõltuvuse graafik. Avastamisvõime ($\beta = 5\%$) on kontsentratsioon, mis vastab määramispiirile liidetud 1,64-kordse laborisisese korratavuse määratud keskvaertuse standardveale,
- analüüsides vähemalt 20 määramispiiril oleva analüüdi kontsentratsiooniga rikastatud puhast materjali maatriksi kohta. Proovid analüüsitakse ja analüüdid identifitseeritakse. Avastamisvõime ($\beta = 5\%$) on kontsentratsioon, mis vastab määramispiirile liidetud 1,64-kordse laborisisese korratavuse määratud sisalduse standardveale,
- kui kvantitatiivsed tulemused pole kättesaadavad, määratakse avastamisvõime, uurides rikastatud puhast materjali määramispiiril ja sellest allpool. Sel juhul on kontsentratsioonide tase $\leq 5\%$ valenegatiivsete tulemuste puhul võrdne meetodi avastamisvõimega. Seetõttu tehakse vähemalt ühel kontsentratsioonitasemel vähemalt 20 katse korral usaldusväärse määramise kinnitus.

Ainetele, mille jaoks lubatud piimormid on kehtestatud, tuleks määratleda CC β :

- kas vastavalt ISO 11843 (17) (siin viidatud kui põhioleku muutuja väikseimale määratavale väärtusele) kaliibrimiskõvera menetlusele. Sel juhul kasutatakse iseloomulikku puhast materjali, mida on rikastatud lubatud piinormi ümber analüüdi kontsentratsioonide võrdsete hüpetega. Proovid analüüsitakse ja analüüd(id) identifitseeritakse. Arvutatakse mõõdetud sisalduse keskvaertuse standardviga määramispiiril. Avastamisvõime ($\beta = 5\%$) on kontsentratsioon, mis vastab määramispiiri väärtusele liidetud 1,64-kordse laborisisese korratavuse standardveale,
- või analüüsides vähemalt 20 puhast materjali maatriksi kohta, mida on rikastatud analüüdiga/analüütidega kontsentratsiooni (de)ga määramispiiril. Avastamisvõime ($\beta = 5\%$) on väärtus

▼B

määramispiiril, millele on liidetud 1,64-kordne vastav standardviga.

Vaata ka punkti 3.2.

3.1.2.7. Ebahütlus (suured muutused)

Analüüsimeetodeid tuleks katsetada erinevatel katsetingimustel, mis sisaldaksid näiteks erinevaid vorme, erinevaid maatrikseid või erinevaid proovivõtmise tingimusi. Leitud muutused peaksid olema suured. Nende muutuste tähtsust hinnatakse näiteks kasutades Youdeni meetodit (15) (16). Iga tulemuslikkuse näitaja määratakse kõikide meetodi tulemuslikkust märkimisväärselt mõjutavate oluliste muutuste jaoks.

3.1.3. Valideerimine vastavalt alternatiivsetele mudelitele

Alternatiivseid valideerimismenetlusi kasutades kehtestatakse aluseks olev mudel ja strateegia koos vastavate eeltingimuste, oletuste ja eeskirjadega valideerimisprotokollis või vähemalt viidatakse nende kättesaadavusele. Järgmises näites antakse alternatiivse meetodi ülevaade. Kasutades näiteks laborisisest valideerimismudelit, määratakse tulemuslikkuse näitajad viisil, mis lubaks oluliste muutuste valideerimist samas valideerimismenetluses. See nõuab valideerimise katseplaani kavandamist.

3.1.3.1. Katseplaan

Katseplaan kavandatakse sõltuvalt uuritavate erinevate liikide ja tegurite arvust. Siitpeale on valideerimise esimeseks sammuks laboris tulevikus analüüsitavate proovide üldkogumi arvessevõtmine, et välja valida kõige tähtsamad liigid ja need tegurid, mis mõjutaksid mõõtmistulemusi kõige enam. Hiljem valitakse otstarbele kohandatud viisil vastav vajalikul tasemel olev kontsentratsioonidevahemik.

Näide:

- analüüsimeetodit valideerides saab üheaegselt uurida mitmeid analüüte,
- identifitseeritakse kaks peamise teguri variatsiooni (A ja B). Peamised tegurid moodustavad tegurite kombineerimistasemete alused. Need peamised tegurid võivad sisaldada liikide või maatriksi tegureid. Selles näites varieeritakse peamist tegurit kahel tasemel, st arvestatakse kaht erinevat liiki (A ja B). Üldiselt on peamisi tegureid võimalik varieerida rohkem kui kahel tasemel, mis aga suurendaks tehtavate analüüside arvu,
- valitud tegureid varieeritakse kahel tasemel (näidatud kui + või -).

Tabel 13

Valideerimismenetluse jaoks oluliste tegurite näited

Loomade sugu	(tegur 1)
Tõug	(tegur 2)
Transpordi tingimused	(tegur 3)
Säilitamistingimused	(tegur 4)
Proovide värskus	(tegur 5)
Nuumamistingimused	(tegur 6)
Erinevate kogemustega operaatorid	(tegur 7).



Tabel 14

Eespool oleva näite võimalik katseplaan

Liik	Tegur 1	Tegur 2	Tegur 3	Tegur 4	Tegur 5	Tegur 6	Tegur 7	Proovi nr
A	+	+	+	+	-	+	-	1
A	+	+	-	-	+	-	-	2
A	+	-	+	-	-	-	+	3
A	+	-	-	+	+	+	+	4
A	-	+	+	-	+	+	+	5
A	-	+	-	+	-	-	+	6
A	-	-	+	+	+	-	-	7
A	-	-	-	-	-	+	-	8
B	+	+	+	+	+	-	+	9
B	+	+	-	-	-	+	+	10
B	+	-	+	-	+	+	-	11
B	+	-	-	+	-	-	-	12
B	-	+	+	-	-	-	-	13
B	-	+	-	+	+	+	-	14
B	-	-	+	+	-	+	+	15
B	-	-	-	-	+	-	+	16

Kuna iga proovi (iga kombinatsioon teguri tasemel) tuleb tempida nelja erineva vajalikul tasemel kontsentratsiooniga ja iga taseme jaoks tuleb analüüsida üks tühiproov, tuleks kogu valideerimise käigus teha $5 \times 16 = 80$ analüüsi.

Nendest 80 mõõtmistulemusest on võimalik teha arvutusi (13) (14).

Saagis

- korratavus kontsentratsiooni taseme jaoks (s_{ir}),
- laborisene korratavus kontsentratsiooni taseme jaoks (s_{ir}),
- määramispiir ($CC\alpha$),
- avastamisvõime ($CC\beta$),
- võimsuskõver (β -vea sõltuvus kontsentratsioonist (vaata 3.1.3.2)),
- oluliste ja väikeste muutuste ebaühtlus määratakse vastavalt punktidele 3.1.1.3,
- 16 proovi vastavad kaliibrimiskõverad,
- üks üldine kaliibrimiskõver,
- üldise kaliibrimiskõvera eeldatav intervall,
- maatriksist tingitud hälbed (s_{mat}),
- katsest tingitud hälbed (s_{run}),
- üksiktegurite mõju mõõtmistulemustele.

Need tulemuslikkuse näitajad võimaldavad meetodi tulemuslikkuse laiahaardelist hindamist siis, kui lisaks üksiktegurite mõjule uuritakse ka nendevahelisi vastavaid kombinatsioone. Selle katseplani alusel võib otsustada, millised valitud teguritest võib üldiselt kaliibrikõveralt välja jätta teiste tegurite standardveast oluliselt erineva hälbumise tõttu.

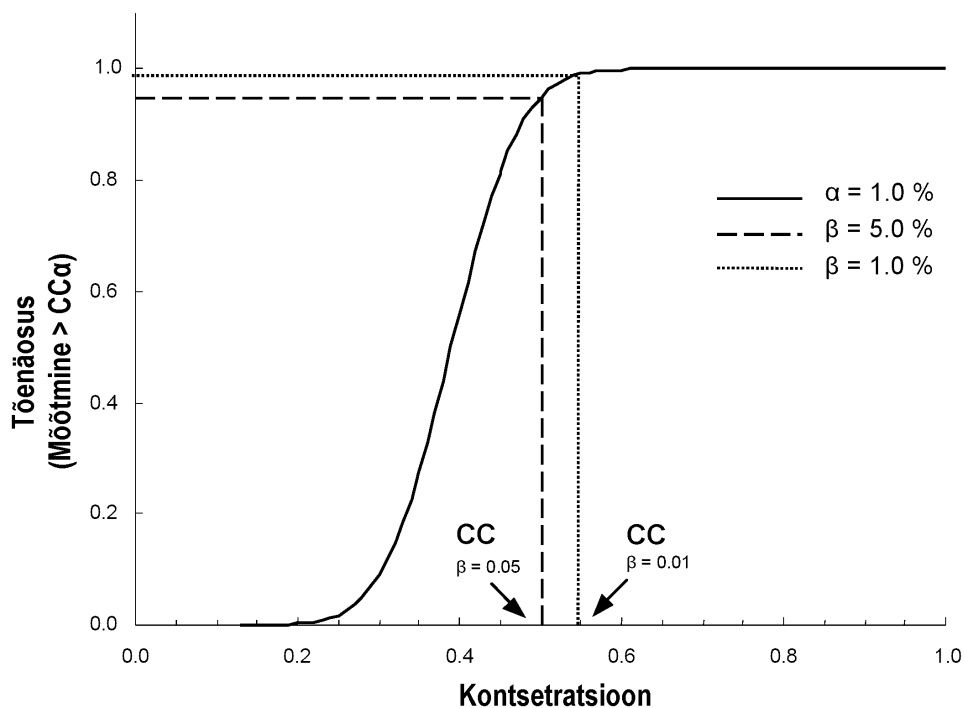
▼B

3.1.3.2. Võimsuskõver

Võimsuskõver annab informatsiooni meetodi avastamisvõime kohta valitud kontsentratsioonide vahemikus. See viitab uurimis-meetodi kohaldamisel β -veale. Võimsuskõver võimaldab meetodi vastavate kategooriate (sõelumine, kinnitamine) või vormide (kvalitatiivne või kvantitatiivne) kindlate β -vigade (nt 5 %) jaoks arvutada avastamisvõimet.

Joonis 1

Võimsuskõver



Joonisel 1 on graafiliselt näidatud analüüsimeetodi avastamisvõime ($CC\beta$). Selle konkreetse meetodi puhul on $0,50 \mu\text{g/kg}$ kontsentratsiooni puhul valenegatiivse otsuse tegemise oht 5 %. $0,55 \mu\text{g/kg}$ kontsentratsiooni puhul valenegatiivse otsuse tegemise oht väheneb 1 %ni.

3.1.3.3. Reprodutseeritavus

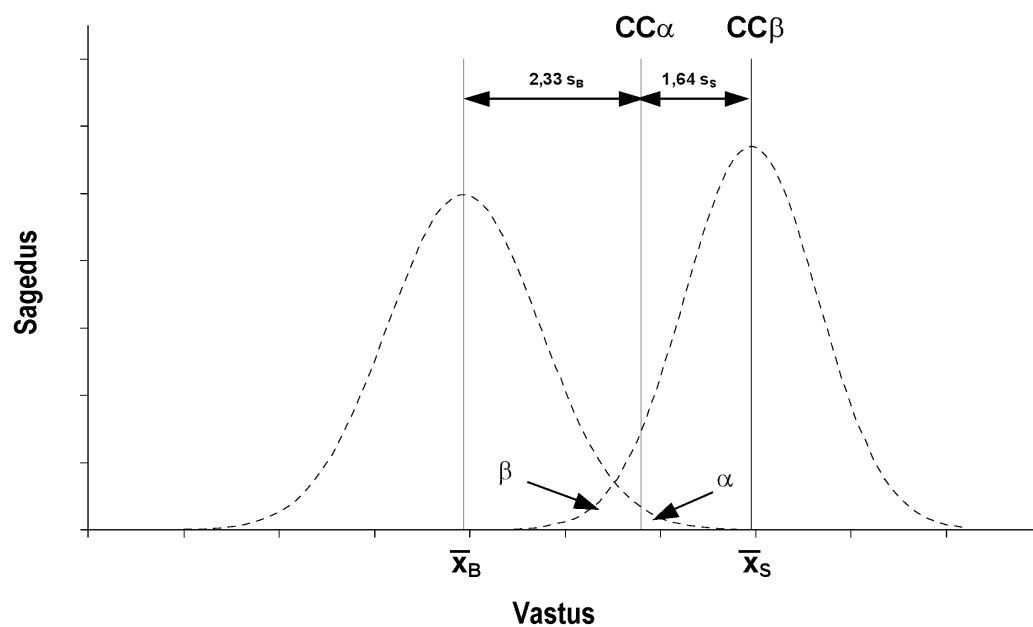
Meetodi reprodutseeritavuse määramine üksikute laboriuuringute kontseptsiooni kasutades (laborisisene valideerimine) nõuab vastavalt ISO juhiste 43-1 (3) ja 43-2 (4) korduvaid tasemekatseid. Laboritel võimaldatakse ise valida oma rutiinselt kasutusel olevaid meetodeid. Labori standardviga kasutatakse meetodi reprodutseeritavuse hindamiseks.

▼ B

3.2. ERINEVATE ANALÜÜSI PIIRVÄÄRTUSTE GRAAFILINE ESITLUS

Joonis 2

Ained, mille jaoks lubatud piirnorme pole kindlaks tehtud

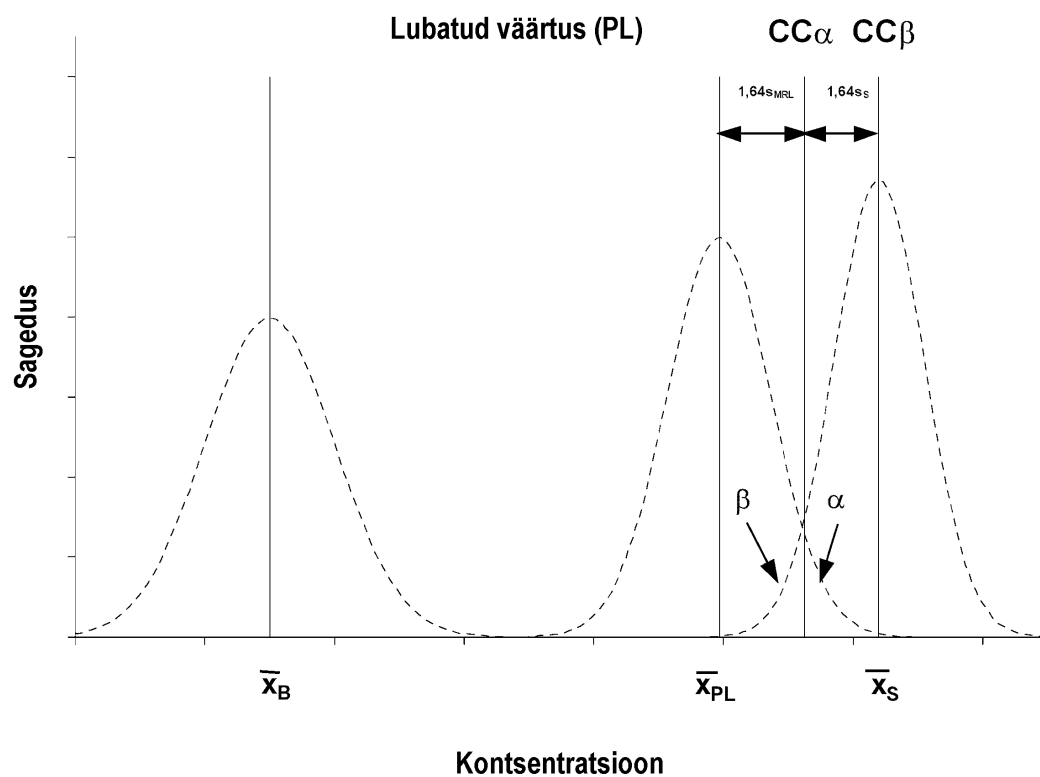


$\bar{x}_S$	saastunud proovi keskmine mõõteväärtus
s_B	tühiproovi standardviga (määratud laborisese reprodutseeritavuse tingimustes)
s_S	saastunud proovi standardviga (määratud laborisese reprodutseeritavuse tingimustes)
α	valepositiivsete tulemuste osahulk
β	valenegatiivsete tulemuste osahulk
CCα	vastus etteantud α-veale ja 50 % β-veale
CCβ	vastus väga väikesele α-veale ja β-veale

▼ B

Joonis 3

Kindlaksmääratud piirväärtustega ained



$\bar{x}_B$	tühiproovi keskmine kontsentratsioon
$\bar{x}_{PL}$	lubatud analüüti piirkontsentratsioonil sisaldava proovi keskmine kontsentratsioon
$\bar{x}_S$	saastunud proovi keskmine kontsentratsioon
s_{PL}	lubatud analüüti piirkontsentratsioonil sisaldava proovi standardviga (määratud laborisisesel reprodutseeritavuse tingimustes)
s_B	tühiproovi standardviga (määratud laborisisesel reprodutseeritavuse tingimustes)
s_S	saastunud proovi standardviga (määratud laborisisesel reprodutseeritavuse tingimustes)
α	valepositiivsete vastuste osahulk
β	valenegatiivsete vastuste osahulk
CC _α	vastus etteantud α-veale ja 50 % β-veale
CC _β	vastus väga väiksele α-veale ja β-veale

▼B

3.3. VÄIKESTE MUUTUSTEGA EBAÜHTLUSE MÄÄRAMISE ARVUTUSNÄIDE
YOUDENI MEETODIT KASUTADES (16)

Keskmiste võrdlemine (A)

$A_A = \Sigma(A_i)/4$	Võrreldakse suurte tähtedega tähistatud keskmisi (AA–AG) vastavate väikeste tähtedega tähistatutega (Aa–Ag). Kui tegur on mõjutatud, on erinevus tunduvalt suurem kui teiste tegurite erinevused.
$A_B = \Sigma(B_i)/4$	
$A_C = \Sigma(C_i)/4$	
$A_D = \Sigma(D_i)/4$	Mittetundlikud meetodid ei tohiks olla mõjutatud laboritevahelistest erisustest.
$A_E = \Sigma(E_i)/4$	Suurte erisuste puudumisel on kõige realistlikum mõõta seitsme erinevuse juhuslikku viga.
$A_F = \Sigma(F_i)/4$	
$A_G = \Sigma(G_i)/4$	
$A_a = \Sigma(a_i)/4$	
$A_b = \Sigma(b_i)/4$	
$A_c = \Sigma(c_i)/4$	
$A_d = \Sigma(d_i)/4$	
$A_e = \Sigma(e_i)/4$	
$A_f = \Sigma(f_i)/4$	
$A_g = \Sigma(g_i)/4$	

Erisused (Di)

Erinevuste ruudud (Di²)

$D_a = A - a = \Sigma(A_i) - \Sigma(a_i)$	$D_a^2 =$ Väärtus a
$D_b = B - b = \Sigma(B_i) - \Sigma(b_i)$	$D_b^2 =$ Väärtus b
$D_c = C - c = \Sigma(C_i) - \Sigma(c_i)$	$D_c^2 =$ Väärtus c
$D_d = D - d = \Sigma(D_i) - \Sigma(d_i)$	$D_d^2 =$ Väärtus d
$D_e = E - e = \Sigma(E_i) - \Sigma(e_i)$	$D_e^2 =$ Väärtus e
$D_f = F - f = \Sigma(F_i) - \Sigma(f_i)$	$D_f^2 =$ Väärtus f
$D_g = G - g = \Sigma(G_i) - \Sigma(g_i)$	$D_g^2 =$ Väärtus g

Erinevuste standardviga D_i (S_{Di}):

$$S_{Di} = \sqrt{2 \cdot \Sigma(D_i^2) / 7}$$

Kui S_{Di} on oluliselt suurem kui laborisese reprodutseeritavuse tingimustes kasutatud meetodi standardviga (vaata eespoolt), on ette teada, et tegurid üheskoos mõjutavad tulemust, isegi kui iga tegur eraldi võetuna ei avalda tulemusele mõju ja valitud modifikatsioonid ei ole küllaldaselt tugevad.

3.4. LABORISESE VALIDEERIMISMENETLUSE ARVUTUSNÄITED

Laborise valideerimisprotokolli näited ja arvutused on kirjeldatud alternatiivsete mudelite järgi kalibreerimise all (3.1.3) (13) (14).

3.5. STANDARDLISANDI MEETODI NÄITED

Katseproov analüüdisisaldusega T jagatakse kahte katsekogusesse 1 ja 2 vastavate kaalutistega m_1 ja m_2 . Katsekogust 2 tembitakse analüüdikontsentratsiooniga ρ_A mahus V_A . Pärast meetodi ekstraheerimis- ja puhastamisetappe saadakse kaks katsekoguste ekstrakti mahtudega V_1 ja V_2 . Analüüdi saagis on eeldatavalt rc. Mõlemad ekstraktid analüüsitakse mõõtemetodi tundlikkusega b ja nad annavad analüüsitulemuseks vastavalt x_1 ja x_2 .

Kui eeldada, et rc ja b on töötlemata ja tembitud proovides samad, siis sisaldust T saab arvutada juhul kui:

$$T = x_1 \cdot V_1 \cdot \rho_A \cdot V_A / (x_2 \cdot V_2 \cdot m_1 - V_1 \cdot m_2)$$

Meetod võimaldab saagise rc määramist. Siis, lisaks ülalpool kirjeldatud analüüsile osa katsekoguse 1 (mahuga V_3) ekstraktist tembitakse kindla analüüdi hulga $\rho_B \cdot V_B$ ja analüüsitakse. Analüüsi vastuseks on x_3 ja saagiseks on:

$$rc = x_2 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot \rho_B \cdot V_B / [x_3 \cdot V_1 \cdot V_3 (T \cdot m_2 + \rho_A \cdot V_A) - x_2 \cdot V_2 \cdot T \cdot m_1 (V_3 - V_B)]$$

▼B

Peale selle on võimalik arvutada tundlikkus b kui:

$$b = x_1 \cdot V_1 / rc \cdot T \cdot m_1$$

Kõik kasutamise tingimused ja üksikasjad on kirjeldatud (18).

4. KASUTATUD LÜHENDID

<i>AAS</i>	aatomabsorptsioonspektrometria
<i>AES</i>	aatomemissioonspektrometria
<i>AOAC-I</i> <i>TIONAL</i>	Association of Official Analytical Chemists INTERNATIONAL
<i>B</i>	seotud osa (immunoanalüüsid)
<i>KI</i>	keemiline ionisatsioon
<i>SE</i>	ertifitseeritud etalonaine
<i>CV</i>	variatsioonikoefitsient
<i>2 D</i>	kahedimensionaalne
<i>DRD</i>	diodirea määramine
<i>DIVA</i>	diferentsiaal-inversioonvoltamperomeetria
<i>EHM</i>	elektronihaardega määramine
<i>EI</i>	elektronlöögi ionisatsioon
<i>GK</i>	gaasikromatograafia
<i>KSVK</i>	kõrgefektiivne vedelikkromatograafia (HPLC)
<i>KSÕKK</i>	kõrgefektiivne õhekihikromatograafia (HPTLC)
<i>KLMS</i>	kõrglahutusmass-spektrometria
<i>ISP-AES</i>	induktiivsidestunud plasma aatomiemissioonspektrometria
<i>ISP-MS</i>	induktiivsidestunud plasma mass-spektrometria
<i>IP</i>	infrapuna(ne)
<i>ISO</i>	Rahvusvaheline Standardiorganisatsioon
<i>VK</i>	vedelikkromatograafia
<i>ML(MS)</i>	madallahutusmass-spektrometria
<i>NTMM</i>	nõutav tulemuslikkuse miinimummäär
<i>MS</i>	mass-spektrometria
<i>m/z</i>	massi-laengu suhe
<i>SF</i>	suhteline liikumine lahusti frondini (ÕKK)
<i>LSSV</i>	labori suhteline standardviga
<i>IVK</i>	ioonide valikkontroll
<i>ÕKK</i>	õhukese kihi kromatograafia
<i>UV</i>	ultravioletvalgus
<i>VIS</i>	nähtav valgus

5. VIITED

- (1) ISO 17025: 1999 General requirement for the competence of calibration and testing laboratories.
- (2) ISO 3534-1: 1993 Statistical Methods for quality control – Vol. 1 vocabulary and symbols.

▼B

- (3) ISO Guide 43-1: 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons – Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes.
- (4) ISO Guide 43-2: 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons – Part 2: Selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies.
- (5) ISO 5725: 1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1: General principles and definitions; ISO 5725-2 Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method; Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method.
- (6) ISO 78-2: 1999 Chemistry - Layouts for standards – Part 2: Methods of chemical analysis.
- (7) W. G de Ruig and J. M. Weseman “A new approach to confirmation by infrared spectrometry” *J. Chemometrics* 4 (1990) 61-77.
- (8) Vt ka: May, T. W., Brumbaugh, W. G., 1982, Matrix modifier and L'vov platform for elimination of matrix interferences in the analysis of fish tissues for lead by graphite furnace atomic absorption spectrometry: *Analytical Chemistry* 54(7): 1032-1037 (90353).
- (9) Applications of Zeeman Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry in the Chemical Laboratory and in Toxicology, C. Minoia, S. Caroli (Eds.), Pergamon Press (Oxford), 1992, pp. xxvi + 675.
- (10) Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry, A. Montaser, D. W. Golightly (Eds.), VCH Publishers, Inc. (New York), 1992.
- (11) Plasma Source Mass Spectrometry Developments and Applications, G. Holland, S. D. Tanner (Eds.), The Royal Society of Chemistry, 1997, p. 329.
- (12) IUPAC (1995), Protocol for the design, conduct and interpretation of method-performance studies, *Pure & Applied Chem*, 67, 331.
- (13) Jülicher, B., Gowik, P. and Uhlig, S. (1998) Assessment of detection methods in trace analysis by means of a statistically based in-house validation concept. *Analyst*, 120, 173.
- (14) Gowik, P., Jülicher, B. and Uhlig, S. (1998) Multi-residue method for non-steroidal anti-inflammatory drugs in plasma using high performance liquid chromatography-photodiode-array detection. Method description and comprehensive in-house validation. *J. Chromatogr.*, 716, 221.
- (15) OAC-I Peer Verified Methods, Policies and Procedures, 1993, AOAC International, 2200 Wilson Blvd., Suite 400, Arlington, Virginia 22201-3301, USA.
- (16) W. J. Youden; Steiner, E. H.; “Statistical Manual of the AOAC-Association of Official Analytical Chemists”, AOAC-I, Washington DC: 1975, p. 35 ff.
- (17) ISO 11843: 1997 Capability of detection – Part 1: Terms and definitions, Part 2: Methodology in the linear calibration case Part 2: Methodology in the linear calibration case.
- (18) R. W. Stephany & L. A. van Ginkel: “Yield or recovery: a world of difference”. *Proceedings Eight Euro Food Chem*, Vienna, Austria September 18-20 (1995) Federation of European Chemical Societies, Event 206. ISBN 3-900554-17X, page 2 to 9.

▼B

- (19) Directive 71/354/EEC of 18 October 1971 on the approximation of the laws of the Member States relating to units of measurement, OJ L 243, 29.10.1971, p. 29).
- (20) ISO 31-0: 1992 Quantities and units – Part 0: General principles

▼ **M1***II LISA***Nõutav tulemuslikkuse miinimummäär**

Aine ja/või metaboliit	Põhiained	MRPL
Kloramfenikool	Liha Munad Piim Uriin Põllumajandustooted Mesi	0,3 µg/kg
Medroksüprogesteron-atsetaat	Sea neerurasv	1 µg/kg
Nitrofuraani metaboliidid — furazolidoon — furaltadoon — nitrofurantoiin — nitrofurasoon	Linnuliha Põllumajandustooted	1 µg/kg kõigi puhul
Malahhiitroheline ja leukomalahhiitroheline summa	Akvakultuuritoodete liha	2 µg/kg

▼ **M2**