

32002D0657

L 221/8

DZIENNIK URZĘDOWY WSPÓLNOT EUROPEJSKICH

17.8.2002

DECYZJA KOMISJI

z dnia 14 sierpnia 2002 r.

wykonująca dyrektywę Rady 96/23/WE dotyczącą wyników metod analitycznych i ich interpretacji

(notyfikowana jako dokument nr C(2002) 3044)

(Tekst mający znaczenie dla EOG)

(2002/657/WE)

KOMISJA WSPÓLNOT EUROPEJSKICH,

uwzględniając Traktat ustanawiający Wspólnotę Europejską,

uwzględniając dyrektywę Rady 96/23/WE z dnia 29 kwietnia 1996 r. w sprawie środków monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach zwierzęcych oraz uchylającą dyrektywy 85/358/EWG i 86/469/EWG oraz decyzje 89/187/EWG i 91/664/EWG ⁽¹⁾, w szczególności art. 15 ust. 1 akapit drugi,

a także mając na uwadze, co następuje:

- (1) Obecność pozostałości w produktach pochodzenia zwierzęcego jest przedmiotem obaw o zdrowie publiczne.
- (2) Decyzja Komisji 98/179/WE z dnia 23 lutego 1998 r. ustanawiająca szczegółowe zasady urzędowego pobierania próbek do celów monitorowania niektórych substancji i ich pozostałości u żywych zwierząt i w produktach pochodzenia zwierzęcego ⁽²⁾ przewiduje, że analiza próbek ma być przeprowadzana wyłącznie przez laboratoria zatwierdzone do urzędowej kontroli pozostałości przez właściwy organ krajowy.
- (3) Istnieje konieczność zapewnienia jakości i porównywalności wyników analiz uzyskiwanych przez laboratoria zatwierdzone do urzędowej kontroli pozostałości. Należy to osiągnąć poprzez stosowanie systemów zapewniania jakości, w szczególności poprzez stosowanie metod zatwierdzonych zgodnie z powszechnie obowiązującymi procedurami i kryteriami wydajności oraz poprzez zapewnienie jasnego powiązania z powszechnie obowiązującymi lub wspólnie uzgodnionymi normami.
- (4) Dyrektywa Rady 93/99/EWG z dnia 29 października 1993 r. w sprawie dodatkowych środków urzędowej kontroli środków spożywczych oraz decyzja 98/179/WE ⁽³⁾

wymaga, aby laboratoria urzędowej kontroli były od stycznia 2002 r. akredytowane zgodnie z ISO 17025 (1). Na podstawie decyzji 98/179/WE, od zatwierdzonych laboratoriów wymagane jest uczestnictwo w uznanym na forum międzynarodowym, zewnętrznym systemie oceny kontroli jakości i akredytacji. Ponadto zatwierdzone laboratoria muszą dowieść swoich kompetencji poprzez regularne i skuteczne uczestnictwo w odpowiednich programach kontroli biegłości uznanych lub zorganizowanych przez krajowe lub wspólnotowe laboratoria referencyjne.

- (5) Sieć wspólnotowych laboratoriów referencyjnych, krajowych laboratoriów referencyjnych i krajowych laboratoriów kontrolnych działa na mocy dyrektywy 96/23/WE w celu wzmocnienia koordynacji.
- (6) W wyniku postępu, jaki dokonał się w chemii analitycznej od czasu przyjęcia dyrektywy 96/23/WE koncepcja metod rutynowych i metod referencyjnych została zastąpiona podejściem opartym o kryteria, w ramach którego ustala się kryteria wydajności i procedury zatwierdzenia metod przesiewowych oraz potwierdzających.
- (7) Istnieje potrzeba ustalenia wspólnych kryteriów interpretacji wyników badań wykonywanych przez urzędowe laboratoria kontrolne w celu zapewnienia zharmonizowanego wykonania dyrektywy 96/23/WE.
- (8) Istnieje potrzeba stopniowego ustanowienia minimalnych wymaganych wartości granicznych wydajności (MRPL) metod analitycznych dla substancji, dla których nie ustanowiono dopuszczalnej wartości granicznej, w szczególności dla tych substancji, których użycie nie jest dozwolone lub jest szczególnie zabronione we Wspólnocie, w celu zapewnienia zharmonizowanego wykonania dyrektywy 96/23/WE.

⁽¹⁾ Dz.U. L 125 z 23.5.1996, str. 10.⁽²⁾ Dz.U. L 65 z 5.3.1998, str. 31.⁽³⁾ Dz.U. L 290 z 24.11.1993, str. 14.

- (9) Decyzja Komisji 90/515/EWG z dnia 26 września 1990 r. ustanawiająca referencyjne metody wykrywania pozostałości metali ciężkich i arsenu ⁽¹⁾, decyzja Komisji 93/256/EWG z dnia 14 maja 1993 r. ustanawiająca metody stosowane do wykrywania pozostałości substancji o działaniu hormonalnym lub tyreostatycznym ⁽²⁾ oraz decyzja Komisji 93/257/EWG z dnia 15 kwietnia 1993 r. ustanawiająca metody referencyjne i wykaz krajowych laboratoriów referencyjnych do wykrywania pozostałości ⁽³⁾, ostatnio zmieniona decyzją 98/536/WE ⁽⁴⁾, zostały uprzednio poddane analizie w celu uwzględnienia rozwoju wiedzy naukowo-technicznej, ich zakres i przepisy zostały uznane za przestarzałe i w związku z tym powinny zostać uchylone niniejszą decyzją.
- (10) W celu umożliwienia dostosowania metod analitycznych urzędowych próbek do przepisów niniejszej decyzji, należy ustanowić okres przejściowy.
- (11) Środki przewidziane w niniejszej decyzji są zgodne z opinią Stałego Komitetu ds. Łańcucha Pokarmowego i Zdrowia Zwierząt,

PRZYJMUJE NINIEJSZĄ DECYZJĘ:

Artykuł 1

Przedmiot i zakres

Niniejsza decyzja ustanawia zasady dla metod analitycznych stosowanych w badaniu urzędowych próbek pobranych zgodnie z art. 15 ust. 1 zdanie drugie dyrektywy 96/23/WE oraz określa wspólne kryteria dla interpretacji wyników urzędowych laboratoriów kontrolnych dla takich próbek.

Niniejsza decyzja nie ma zastosowania do substancji, dla których w innym prawodawstwie wspólnotowym ustanowiono bardziej szczegółowe zasady.

Artykuł 2

Definicje

Do celów niniejszej decyzji stosuje się definicje podane w dyrektywie 96/23/WE i w Załączniku do niniejszej decyzji.

Artykuł 3

Metody analityczne

Państwa Członkowskie zapewniają, aby urzędowe próbki pobrane na mocy dyrektywy 96/23/WE były przedmiotem analizy przy zastosowaniu metod, które:

- są udokumentowane w instrukcjach badawczych, najlepiej zgodnie z ISO 78-2 (6);
- są zgodne z częścią 2 Załącznika do niniejszej decyzji;
- zostały zatwierdzone zgodnie z procedurą opisaną w Załączniku część 3;
- odpowiadają minimalnym wymaganiom wartościom granicznym wydajności (MRPL) ustanowionym zgodnie z art. 4.

⁽¹⁾ Dz.U. L 286 z 18.10.1990, str. 33.

⁽²⁾ Dz.U. L 118 z 14.5.1993, str. 64.

⁽³⁾ Dz.U. L 118 z 14.5.1993, str. 75.

⁽⁴⁾ Dz.U. L 251 z 11.9.1998, str. 39.

Artykuł 4

Minimalne wymagane wartości graniczne wydajności

Niniejsza decyzja zostanie przejrzana w celu stopniowego ustanowienia minimalnych wymaganych wartości granicznych wydajności (MRPL) metod analitycznych stosowanych w odniesieniu do substancji, dla których nie ustanowiono dopuszczalnych wartości granicznych.

Artykuł 5

Kontrola jakości

Państwa Członkowskie zapewnią jakość wyników analizy próbek pobranych na podstawie dyrektywy 96/23/WE, w szczególności poprzez monitorowanie badań i/lub wyników kalibracji zgodnie z rozdziałem 5.9 ISO 17025 (1).

Artykuł 6

Interpretacja wyników

1. Wynik analizy uznaje się za niezgodny, jeżeli przekroczona jest decyzyjna wartość graniczna metody potwierdzającej dla analitu.

2. Jeżeli dla danej substancji została ustanowiona dopuszczalna wartość graniczna, decyzyjną wartością graniczną jest stężenie, powyżej którego można stwierdzić ze statystyczną pewnością 1- α , że dopuszczalna wartość graniczna została naruszone.

3. Jeżeli dla danej substancji nie ustanowiono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej, decyzyjną wartością graniczną jest najniższy poziom stężenia, przy którym daną metodą można stwierdzić ze statystyczną pewnością 1- α obecność określonego analitu.

4. W odniesieniu do substancji wymienionych w grupie A załącznika I do dyrektywy 96/23/WE, błąd α wynosi 1 % lub poniżej. W odniesieniu do wszystkich pozostałych substancji, błąd α wynosi 5 % lub poniżej.

Artykuł 7

Uchylenie

Niniejszym decyzje 90/515/EWG, 93/256/EWG i 93/257/EWG tracą moc.

Artykuł 8

Przepisy przejściowe

Metody analityczne urzędowych próbek substancji wymienionych w grupie A załącznika I do dyrektywy 96/23/WE, które spełniają kryteria określone w decyzjach 90/515/EWG, 93/256/EWG i 93/257/EWG, można stosować przez okres do dwóch lat po wejściu w życie niniejszej decyzji. Metody obecnie stosowane w odniesieniu do substancji wymienionych w grupie B załącznika I do dyrektywy 96/23/WE będą zgodne z niniejszą decyzją najpóźniej pięć lat po terminie stosowania niniejszej decyzji.

*Artykuł 9***Termin stosowania**

Niniejszą decyzję stosuje się od dnia 1 września 2002 r.

*Artykuł 10***Adresaci**

Niniejsza decyzja skierowana jest do Państw Członkowskich.

Sporządzono w Brukseli, dnia 14 sierpnia 2002 r.

W imieniu Komisji

David BYRNE

Członek Komisji

ZAŁĄCZNIK

KRYTERIA WYDAJNOŚCI, INNE WYMOGI I PROCEDURY DLA METOD ANALITYCZNYCH

1. DEFINICJE

- 1.1. Dokładność oznacza bliskość zgodności między wynikami badania a przyjętą wartością odniesienia (2). Ustala się ją poprzez określenie poprawności i precyzji.
- 1.2. Błąd alpha (α) oznacza prawdopodobieństwo, że badana próbka jest zgodna, pomimo iż otrzymano niezgodny pomiar (mylnie niezgodny wynik).
- 1.3. Analit oznacza substancje, jakie mają zostać wykryte, zidentyfikowane i/lub określone ilościowo oraz ich pochodne powstające w czasie analizy.
- 1.4. Błąd beta (β) oznacza prawdopodobieństwo, że badana próbka jest rzeczywiście niezgodna, chociaż otrzymano zgodny pomiar (mylnie zgodny wynik).
- 1.5. Niepoprawność wskazań oznacza różnicę między oczekiwaniem wyniku badania a przyjętą wartością odniesienia (2).
- 1.6. Wzorzec kalibracji oznacza urządzenie do pomiarów, które przedstawia ilość danej substancji ukazując powiązanie jej wartości z podstawą odniesienia.
- 1.7. Certyfikowany materiał odniesienia (CRM) oznacza materiał, któremu przypisano określoną zawartość analitu.
- 1.8. Chromatografia równoległa oznacza procedurę, w ramach której przed etapem (etapami) chromatografii ekstrakt dzielony jest na dwie części. Część pierwsza jest poddawana badaniu chromatograficznemu bez zmian. Część drugą miesza się ze standardowym analitem, który ma zostać zmierzony. Następnie mieszanekę tę poddaje się badaniu chromatograficznemu. Ilość dodanego, standardowego analitu musi być podobna do szacunkowej ilości analitu w ekstrakcie. Metoda ta ma na celu poprawę identyfikacji analitu w przypadku użycia metod chromatograficznych, w szczególności jeżeli nie można wykorzystać żadnego, odpowiedniego wzorca wewnętrznego.
- 1.9. Badanie kolaboracyjne oznacza poddanie analizie tej samej próbki tą samą metodą w celu ustalenia cech wydajności metody. Badanie obejmuje błąd losowy pomiaru i laboratoryjną niepoprawność wskazań.
- 1.10. Metoda potwierdzająca oznacza metodę, która daje pełną lub uzupełniającą informację umożliwiającą jednoznaczną identyfikację substancji w razie potrzeby określenie ilościowe przy poziomie udziału.
- 1.11. Decyzyjna wartość graniczna (CCa) oznacza wartość graniczną, na poziomie której i powyżej której można wnioskować z prawdopodobieństwem błędu α , że próbka jest niezgodna.
- 1.12. Zdolność wykrywania (CC β) oznacza najmniejszą zawartość substancji, jaką można wykryć, zidentyfikować i/lub określić ilościowo w próbce z prawdopodobieństwem błędu β . W przypadku substancji, dla których nie ustanowiono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej, zdolność wykrywania to najmniejsze stężenie, przy którym metoda jest w stanie wykryć rzeczywiście zanieczyszczone próbki ze statystyczną pewnością 1- β . W przypadku substancji posiadających ustanowioną dopuszczalną wartość graniczną, zdolność wykrywania to stężenie, przy którym metoda jest w stanie wykryć dopuszczalną wartość graniczną stężeń ze statystyczną pewnością 1- β .
- 1.13. Wzmocniony materiał próbki oznacza próbkę wzbogaconą znaną ilością analitu, jaki ma zostać wykryty.
- 1.14. Badanie międzylaboratoryjne (porównanie) oznacza organizację, wykonanie i ocenę badań z wykorzystaniem tej samej próbki przez dwa lub więcej laboratoriów zgodnie z uprzednio ustalonymi warunkami w celu określenia wydajności badania. W zależności od celu, badanie można zakwalifikować jako badanie kolaboracyjne lub badanie biegłości.
- 1.15. Wzorzec wewnętrzny (IS) oznacza substancję, której nie zawiera próbka, o właściwościach fizyko-chemicznych jak najbardziej podobnych do właściwości analitu, który ma być zidentyfikowany i którą dodaje się do każdej próbki oraz do każdego wzorca kalibracji.
- 1.16. Próbka laboratoryjna oznacza próbkę przygotowaną do przesłania do laboratorium i przeznaczoną do kontroli lub badania.
- 1.17. Poziom udziału oznacza stężenie substancji lub analitu w próbce, które jest istotne dla ustalenia jej zgodności z przepisami prawa.
- 1.18. Minimalna wymagana wartość graniczna wydajności (MRPL) oznacza minimalną zawartość analitu w próbce, która co najmniej ma być wykryta i potwierdzona. Ma to na celu zharmonizowanie wydajności analitycznej metod dla substancji, w stosunku do których nie ustanowiono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej.

- 1.19. Cecha wydajności oznacza cechę funkcjonalną, którą można przypisać metodzie analitycznej. Może to być, na przykład, specyficzność, dokładność, poprawność, precyzja, powtarzalność, odtwarzalność, odzysk, zdolność wykrywania i odporność.
- 1.20. Kryteria wydajności oznaczają wymogi dla cechy wydajności, na podstawie których można osądzić, czy metoda analityczna nadaje się do celu i daje rzetelne wyniki.
- 1.21. Dopuszczalna wartość graniczna oznacza maksymalny limit pozostałości, najwyższy poziom lub inną maksymalną granicę tolerancji dla substancji ustanowionych w innym prawodawstwie wspólnotowym.
- 1.22. Precyzja oznacza bliskość zgodności między wynikami niezależnych badań uzyskanych w ustalonych (uprzednio określonych) warunkach. Pomiar precyzji wyraża się zazwyczaj w kategoriach niedokładności i oblicza jako odchylenie standardowe wyniku badania. Im mniejsza precyzja, tym większe odchylenie standardowe (2).
- 1.23. Badanie biegłości oznacza analizowanie tej samej próbki, zezwalając laboratoriom na wybranie własnej metody, pod warunkiem, że metody te stosowane są w warunkach rutynowych. Badanie musi być wykonane zgodnie z wytyczną ISO 43-1 (3) i 43-2 (4) i może być wykorzystane do oceny odtwarzalności metod.
- 1.24. Metoda jakościowa oznacza metodę analityczną, która identyfikuje substancję na podstawie jej właściwości chemicznych, biologicznych lub fizycznych.
- 1.25. Metoda ilościowa oznacza metodę analityczną, która określa ilość lub ułamek masy substancji w taki sposób, aby można ją było wyrazić jako wartość liczbową w odpowiednich jednostkach.
- 1.26. Próba zerowa odczynnikowa oznacza kompletną procedurę zastosowaną bez badanej części lub przy wykorzystaniu równoważnej ilości odpowiedniego rozpuszczalnika zamiast badanej części.
- 1.27. Odzysk oznacza procent rzeczywistego stężenia substancji odzyskanej w czasie procedury analitycznej. Ustala się go podczas zatwierdzania, jeżeli nie jest dostępny żaden certyfikowany materiał odniesienia.
- 1.28. Materiał odniesienia oznacza materiał, którego jedna lub kilka właściwości zostało potwierdzonych za pomocą zatwierdzonej metody, aby można go wykorzystać do kalibracji aparatury lub sprawdzenia metody pomiaru.
- 1.29. Powtarzalność oznacza precyzję w warunkach powtarzalności (2).
- 1.30. Warunki powtarzalności oznaczają warunki, w jakich uzyskano wyniki niezależnych badań prowadzonych tą samą metodą na identycznym badanym materiale, w tym samym laboratorium, przez te same podmioty, z użyciem tego samego sprzętu (2).
- 1.31. Odtwarzalność oznacza precyzję w warunkach odtwarzalności (2)(4).
- 1.32. Warunki odtwarzalności oznaczają warunki, w jakich uzyskano wyniki badań prowadzonych tą samą metodą na identycznym badanym materiale, w różnych laboratoriach, przez różne podmioty, z użyciem różnego sprzętu (2) (4).
- 1.33. Odporność oznacza podatność metody analitycznej na zmiany w warunkach doświadczalnych, którą można wyrazić jako wykaz materiałów próbnych, analitów, warunków składowania, warunków środowiska i/lub warunków przygotowywania próbek, w jakich metodę można stosować w postaci niezmiennionej lub z określonymi niewielkimi zmianami. Dla wszystkich warunków doświadczalnych, które w praktyce mogłyby ulegać zmianom (np. stabilność odczynników, skład próbki, pH, temperatura), należy wskazać wszystkie odchylenia, które mogłyby mieć wpływ na wynik analizy.
- 1.34. Próba zerowa próbki oznacza kompletną procedurę analityczną zastosowaną do badanej części pobranej z próbki, w której nie ma analitu.
- 1.35. Metoda przesiewowa oznacza metody stosowane do wykrycia obecności substancji lub klasy substancji na poziomie udziału. Metodami tymi można przebadать dużą ilość próbek i są one wykorzystywane do przesiania dużych ilości próbek w celu wykrycia potencjalnie niezgodnych wyników. Szczególnie mają na celu uniknięcie fałszywie zgodnych wyników.
- 1.36. Badanie w pojedynczym laboratorium (zatwierdzenie wewnętrzne) oznacza badanie analityczne prowadzone przez jedno laboratorium, przy użyciu jednej metody do przeanalizowania tych samych lub różnych materiałów badawczych, w różnych warunkach przy uzasadnionych, długich odstępach czasu.
- 1.37. Specyficzność oznacza zdolność metody do odróżnienia badanego analitu od innych substancji. Ta cecha jest głównie funkcją opisaną techniki pomiaru, ale może wahać się w zależności od klasy związku lub matrycy.

- 1.38. Dodatek wzorca oznacza procedurę, w której badaną próbkę dzieli się na dwie (lub więcej) badane części. Jedną część analizuje się bez zmian, a do pozostałych badanych części przed analizą dodaje się znane ilości standardowego analitu. Ilość dodanego standardowego analitu musi być dwa do pięciu razy większa od szacowanej ilości analitu w próbce. Ta procedura ma na celu ustalenie zawartości analitu w próbce, uwzględniając odzysk procedury analitycznej.
- 1.39. Standardowy analit oznacza analit o znanej i certyfikowanej zawartości i czystości, używany jako odniesienie w analizie.
- 1.40. Substancja oznacza materiał o szczególnej lub określonej strukturze chemicznej i jego metabolity.
- 1.41. Badana część oznacza ilość materiału pobranego z próbki, na którym prowadzone jest badanie lub obserwacja.
- 1.42. Badana próbka oznacza próbkę sporządzoną z próbki laboratoryjnej, z której pobrana zostanie badana część.
- 1.43. Poprawność oznacza bliskość zgodności między przeciętną wartością uzyskaną z dużej serii wyników badań i przyjętą wartością odniesienia. Poprawność wyraża się zazwyczaj jako niepoprawność wskazań (2).
- 1.44. Jednostki oznaczają te jednostki, które opisane są w ISO 31 (20) i dyrektywie 71/354/WE (19).
- 1.45. Zatwierdzenie oznacza potwierdzenie poprzez badanie oraz przedstawienie efektywnych dowodów na to, że spełnione są szczególne wymagania określonego, planowanego wykorzystania (1).
- 1.46. Wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność oznacza precyzję uzyskaną w tym samym laboratorium w ustalonych (uprzednio określonych) warunkach (dotyczących np. metody, materiałów badawczych, podmiotów, środowiska) w uzasadnionych, długich odstępach czasu.

2. KRYTERIA WYDAJNOŚCI I INNE WYMOGI DLA METOD ANALITYCZNYCH

Metody analityczne lub kombinacje metod inne niż te, które zostały opisane poniżej można wykorzystać wyłącznie w celu prowadzenia badań przesiewowych lub potwierdzających, jeżeli można dowiedzieć, że spełniają one odpowiednie wymagania ustanowione w niniejszej decyzji.

2.1. WYMOGI OGÓLNE

2.1.1. Obchodzenie się z próbkami

Próbki należy pozyskiwać, obchodzić się z nimi i przetwarzać, aby zaistniała najwyższa szansa wykrycia substancji. Procedury obchodzenia się z próbkami zapobiegają możliwości przypadkowego zanieczyszczenia lub utraty analitów.

2.1.2. Przeprowadzanie badań

2.1.2.1. Odzysk

W czasie analizy próbek ustala się odzysk dla każdej partii próbek, w przypadku stosowania stałego współczynnika poprawkowego odzysku. Jeżeli odzysk mieści się w granicach, można zastosować stały współczynnik poprawkowy. W innym przypadku należy stosować współczynnik poprawkowy uzyskany dla określonej partii, chyba że należy zastosować specjalny współczynnik odzysku analitu w próbce, w którym to przypadku należy zastosować procedurę dodatku wzorca (patrz ppkt 3.5) lub należy zastosować wzorzec wewnętrzny w celu ilościowego oznaczenia zawartości analitu w próbce.

2.1.2.2. Specyfika

Metoda jest w stanie odróżnić analit od innych substancji w warunkach doświadczalnych. Należy przedstawić szacunek, w jakim zakresie jest to możliwe. Należy stosować strategie przewyższania wszelkich możliwych do przewidzenia zakłóceń z substancjami w przypadku użycia opisanej techniki pomiaru, np. należy stosować homologię, analogię, produkty metaboliczne pozostałości będące przedmiotem zainteresowania. Istotne znaczenie ma zbadanie zakłócenia, które może pochodzić ze składników matrycy.

2.2. METODY PRZESIEWOWE

Zgodnie z dyrektywą 96/23/WE, do celów badań przesiewowych stosuje się tylko te techniki analityczne, co do których można wykazać w udokumentowany, możliwy do przesłедzenia sposób, że są zatwierdzone i posiadają mylny czynnik zgodności < 5 % (błąd β) na poziomie udziału. W przypadku podejrzenia wyniku niezgodnego, wynik należy potwierdzić metodą potwierdzającą.

2.3. METODY POTWIERDZAJĄCE DLA POZOSTAŁOŚCI I ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH

Metody potwierdzające dla pozostałości lub zanieczyszczeń organicznych przekazują informacje na temat struktury chemicznej analitu. W rezultacie, metody oparte wyłącznie na analizie chromatograficznej bez zastosowania wykrywania spektrometrycznego nie są same w sobie odpowiednie jako metody potwierdzające. Jednakże jeżeli pojedynczej technice brakuje wystarczającej specyfiki, pożądaną specyfikę osiąga się stosowaniem procedur analitycznych składających się z odpowiednich kombinacji czyszczenia, rozdzielania metodą chromatograficzną i wykrywania spektrometrycznego.

Następujące metody i kombinacje metod uznaje się za odpowiednie do identyfikacji pozostałości lub zanieczyszczeń organicznych dla wskazanych grup substancji:

Tabela 1

Odpowiednie metody potwierdzające dla pozostałości lub zanieczyszczeń organicznych

Technika pomiaru	Substancje z załącznik 196/23/WE	Ograniczenia
LC lub GC z wykrywaniem metodą spektrometrii masowej	Grupy A i B	Tylko po rozdzieleniu chromatograficznym on-line lub off-line Tylko w przypadku użycia technik pełnego skanu lub przy użyciu co najmniej 3 (grupa B) lub 4 (grupa A) punktów identyfikacji dla technik, które nie rejestrują pełnego widma
LC or GC z wykrywaniem spektrometrycznym IR	Grupy A i B	Muszą być spełnione szczególne wymagania dla absorpcji w spektrometrii IR
LC-M-skan DAD	Grupa B:	Muszą być spełnione szczególne wymagania dla absorpcji w spektrometrii ultrafioletu
LC-fluorescencja	Grupa B:	Tylko dla cząsteczek, które wykazują naturalną fluorescencję oraz cząsteczek wykazujących fluorescencję albo po transformacji, albo po derywatyzacji
2-D TLC – pełny skan UV/VIS	Grupa B:	Dwuwymiarowa HPTLC i chromatografia równoległa są obowiązkowe
GC-wykrywanie wychwytywania elektronów	Grupa B:	Tylko w przypadku użycia dwóch kolumn o odmiennej polaryzacji
LC-immunogram	Grupa B:	Tylko w przypadku użycia co najmniej dwóch niezależnych systemów chromatograficznych lub drugiej, niezależnej metody wykrywania.
LC-UV/VIS (pojedyncza długość fali)	Grupa B:	Tylko w przypadku użycia co najmniej dwóch niezależnych systemów chromatograficznych lub drugiej, niezależnej metody wykrywania.

2.3.1. Powszechne kryteria i wymagania wydajności

Metody potwierdzające przekazują informacje na temat struktury chemicznej analitu. W przypadku gdy więcej niż jeden związek daje tę samą odpowiedź, wówczas metoda nie może rozróżnić tych dwóch związków. Metody oparte wyłącznie na analizie chromatograficznej bez wykrywania spektrometrycznego nie są same w sobie odpowiednie do wykorzystania jako metody potwierdzające.

Przy wykorzystaniu w metodzie, odpowiedni wzorzec wewnętrzny dodaje się do badanej części na początku procedury ekstrakcji. W zależności od dostępności, stosuje się albo trwałe, izotopowo oznaczone postaci analitu, które w szczególności są odpowiednie do wykrywania metodą spektrometrii masowej lub związki, które pod względem budowy są podobne do analitu.

Jeżeli nie można wykorzystać żadnego, odpowiedniego wzorca wewnętrznego, identyfikację analitu potwierdza się chromatografią równoległą. W tym przypadku uzyskuje się tylko jeden pik, przy czym pełna wysokość pików (lub powierzchnia) oznacza ilość dodanego analitu. W przypadku chromatografii gazowej (GC) lub chromatografii cieczowej (LC), szerokość pików przy połowie maksymalnej wysokości kształtuje się w zakresie 90–110 % pierwotnej szerokości, a czasy retencji są identyczne z tolerancją 5 %. W przypadku metod chromatografii cienkowarstwowej (TLC), należy wzmocnić tylko plamkę odnoszącą się przypuszczalnie do analitu; nie pojawi się nowa plamka, a wygląd wizualny nie zmieni się.

Materiał odniesienia lub materiał wzmocniony, zawierający znane ilości analitu, na poziomie lub blisko dopuszczalnej wartości granicznej lub decyzyjnej wartości granicznej (niezgodna próbka kontrolna), jak również zgodne materiały kontrolne i odczynniki do prób zerowych powinny być równocześnie poddane całej procedurze razem z każdą partią badanych próbek, poddawanych analizie. Kolejność wstrzykiwania ekstraktów do aparatury analitycznej jest następująca: odczynnik do próby zerowej, zgodna próbka kontrolna, próbka lub próbki do potwierdzenia, ponownie zgodna próbka kontrolna i na koniec niezgodna próbka kontrolna. Każdą zmianę tej kolejności należy uzasadnić.

2.3.2. Dodatkowe kryteria wydajności i inne wymogi dla ilościowych metod analizy

2.3.2.1. Poprawność metod ilościowych

W przypadku powtórnych analiz certyfikowanego materiału odniesienia, orientacyjne zakresy odchylenia doświadczalnie ustalonego średniego ułamka masy po uwzględnieniu odzysku od wartości certyfikowanej wynoszą:

Tabela 2

Minimalna poprawność metod ilościowych

Ułamek masy	Zakres
$\leq 1 \text{ } \mu\text{g/kg}$	- 50 % do + 2 %
$> 1 \text{ } \mu\text{g/kg}$ do $10 \text{ } \mu\text{g/kg}$	- 30 % do + 10 %
$\geq 10 \text{ } \mu\text{g/kg}$	- 20 % do + 10 %

Jeżeli niedostępne są takie CRM, dopuszcza się ocenę poprawności pomiaru poprzez odzysk dodatków znanej ilości analitu lub analitów do matrycy zerowej. Dane, po uwzględnieniu średniego odzysku, są akceptowalne wyłącznie wtedy, kiedy mieszczą się w zakresach pokazanych w tabeli 2.

2.3.2.2. Precyzja metod ilościowych

Międzylaboratoryjny współczynnik zmienności (CV) dla powtórnej analizy materiału odniesienia lub materiału wzmocnionego, w warunkach odtwarzalności, nie przekracza poziomu obliczonego za pomocą równania Horwitza. Równanie jest następujące:

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

gdzie C to ułamek masy wyrażony jako potęga (wykładnik) 10 (np. $1 \text{ mg/g} = 10^{-3}$). Przykłady podane są w tabeli 3.

Tabela 3

Przykłady współczynników zmienności (CV) odtwarzalności dla metod ilościowych w zakresie ułamków masy analitu

Ułamek masy	CV odtwarzalności (%)
$1 \text{ } \mu\text{g/kg}$	(*)
$10 \text{ } \mu\text{g/kg}$	(*)
$100 \text{ } \mu\text{g/kg}$	23
$1000 \text{ } \mu\text{g/kg}$ (1 mg/kg)	16

(*) Dla ułamków masy mniejszych od $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ stosowanie równania Horwitza daje niemożliwe do zaakceptowania, wysokie wartości. W związku z tym współczynniki zmienności dla stężeń poniżej $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ są jak najniższe.

W przypadku analiz prowadzonych w warunkach powtarzalności, międzylaboratoryjny współczynnik zmienności będzie zazwyczaj mieścić się między połową a dwiema trzecimi powyższych wartości. W przypadku analiz przeprowadzanych w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności, wewnątrzlaboratoryjny współczynnik zmienności nie powinien być większy od współczynnika zmienności odtwarzalności.

W przypadku substancji o ustanowionej dopuszczalnej wartości granicznej, metoda osiąga wewnątrzlaboratoryjną odtwarzalność nie większą niż odpowiadający jej współczynnik zmienności odtwarzalności przy stężeniu $0,5 \times$ dopuszczalna wartość graniczna.

2.3.3. Kryteria wydajności i inne wymogi dla wykrywania metodą spektrometrii masowej

Metody spektrometrii masowej są odpowiednie jako metody potwierdzające wyłącznie po rozdzieleniu metodą chromatograficzną on-line lub off-line.

2.3.3.1. Rozdzielanie metodą chromatograficzną

W przypadku procedur GC-MS, rozdzielanie metodą chromatografii gazowej przeprowadza się przy użyciu kolumn kapilarnych. W przypadku procedur LC-MS, rozdzielanie metodą chromatograficzną przeprowadza się przy użyciu odpowiednich kolumn chromatografii cieczowej. W każdym przypadku, minimalny, dopuszczalny czas retencji dla badanego analitu wynosi dwukrotność czasu retencji odpowiadającego objętości próżni w kolumnie. Czas retencji (lub względny czas retencji) analitu w badanej części odpowiada czasowi retencji wzorca kalibracji w określonym oknie czasu retencji. Okno czasu retencji odpowiada rozdzielczości systemu chromatograficznego. Stosunek chromatograficznego czasu retencji analitu do czasu retencji wewnętrznego wzorca, tzn. względny czas retencji analitu odpowiada czasowi retencji roztworu kalibracyjnego z tolerancją $\pm 0,5\%$ dla GC i $\pm 2,5\%$ dla LC.

2.3.3.2. Wykrywanie metodą spektrometrii masowej

Wykrywanie metodą spektrometrii masowej prowadzi się poprzez zastosowanie technik MS, takich jak rejestracja pełnych widm masowych (pełne skany) lub selektywne monitorowanie jonów (SIM), jak również technik MS-MSⁿ, takich jak selektywne monitorowanie reakcji (SRM), albo innych odpowiednich technik MS lub MS-MSⁿ w powiązaniu z odpowiednimi sposobami jonizacji. W spektrometrii masowej wysokiej rozdzielczości (HRMS), rozdzielczość zazwyczaj wynosi ponad 10 000 dla całego zakresu masy przy 10 % dolinie pików.

Pełny skan: Gdy oznaczanie metodą spektrometrii masowej jest przeprowadzane poprzez rejestrowanie pełnych widm skanu, obowiązkowa jest obecność wszystkich mierzonych jonów diagnostycznych (jon cząsteczkowy, charakterystyczne addukty jonu cząsteczkowego, charakterystyczne jony fragmentacyjne i jony izotopowe) ze względny natężeniem ponad 10 % w widmie referencyjnym wzorca kalibracji.

SIM: Gdy oznaczanie spektrometryczne masy jest przeprowadzane poprzez fragmentografię, jon cząsteczkowy jest jednym z wybranych jonów diagnostycznych (jon cząsteczkowy, charakterystyczne addukty jonu cząsteczkowego, charakterystyczne jony fragmentacyjne i jony ich wszystkich izotopów). Wybrane jony diagnostyczne nie powinny wyłącznie pochodzić z tej samej części cząsteczki. Stosunek sygnał-szum dla każdego jonu diagnostycznego wynosi $\geq 3:1$.

Pełny skan i SIM: Względne natężenia wykrytych jonów, wyrażone jako procent natężenia najbardziej intensywnego jonu lub przemiany, odpowiada natężeniu dla wzorca kalibracji, albo z wzorcowych roztworów kalibracyjnych albo z wzbogaconych próbek, przy porównywalnych stężeniach, mierzonych w takich samych warunkach, w następujących granicach tolerancji:

Tabela 4

Maksymalne, dopuszczalne granice tolerancji dla względnych natężeń jonów przy wykorzystaniu technik spektrometrii masowej

Względne natężenie (% pików podstawowego)	EI-GC-MS (względne)	CI-GC-MS, GC-MSLC-MS, LC-MS(względne)
> 50 %	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
> 20 % do 50 %	$\pm 15\%$	$\pm 25\%$
> 10 % do 20 %	$\pm 20\%$	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$

Interpretacja danych widma masowego: Względne natężenia jonów diagnostycznych i/lub par jonów macierzystych/wynikowych należy zidentyfikować poprzez porównanie widm lub skalając sygnały śladów pojedynczej masy. W każdym przypadku, gdy stosuje się poprawkę na tło, należy to uczynić równomiernie w całej partii (patrz pkt 2.3.1 akapit czwarty) i wyraźnie oznaczyć.

Pełny skan: Przy rejestracji widm pełnego skanu w spektrometrii pojedynczej masy, obecne są najmniej cztery jony o względnym natężeniu $\geq 10\%$ pików podstawowego. Należy włączyć jon cząsteczkowy, jeżeli jest obecny w widmie referencyjnym o względnej intensywności $\geq 10\%$. Co najmniej cztery jony znajdują się w granicach maksymalnej, dopuszczalnej tolerancji dla względnych natężeń jonów (tabela 5). Można wykorzystać wspomagane komputerowo przeszukiwanie biblioteki. W tym przypadku porównanie danych widma masowego w badanych próbkach z danymi dotyczącymi roztworu kalibracyjnego musi przekroczyć wartość współczynnika dopasowania krytycznego. Współczynnik należy ustalić w czasie procesu zatwierdzenia dla każdego analitu na podstawie widm, dla których spełnione są opisane poniżej kryteria. Należy sprawdzić zmienność widm spowodowaną matrycą próbki oraz działanie detektora.

SIM: Kiedy mierzy się fragmenty masy przy wykorzystaniu technik innych niż pełny skan, do interpretacji danych należy zastosować system punktów identyfikacyjnych. Dla potwierdzenia substancji wymienionych w grupie A załącznika I do dyrektywy 96/23/WE, wymagane są najmniej 4 punkty identyfikacyjne. Dla potwierdzenia substancji wymienionych w grupie B załącznika I do dyrektywy 96/23/WE, wymagane są najmniej 3 punkty identyfikacyjne. Poniższa tabela pokazuje liczbę punktów identyfikacyjnych, jaką może uzyskać każda z podstawowych technik spektrometrii masowej. Jednakże w celu zakwalifikowania się do punktów identyfikacyjnych wymaganych do potwierdzenia i obliczenia sumy punktów identyfikacyjnych:

- a) należy zmierzyć co najmniej jedną proporcję jonów, oraz
- b) wszystkie, odpowiednie, zmierzone proporcje jonów muszą spełniać opisane powyżej kryteria, oraz
- c) można połączyć maksymalnie trzy różne techniki w celu osiągnięcia minimalnej liczby punktów identyfikacyjnych.

Tabela 5

Zależność między zakresem klas fragmentów masy i uzyskanymi punktami identyfikacyjnymi

Technika MS	Uzyskane punkty identyfikacyjne na jon
Spektrometria masowa niskiej rozdzielczości (LR)	1,0
Jon macierzysty LR-MS	1,0
Produkty przemiany LR-MS	1,5
HRMS	2,0
Jon macierzysty HR-MS	2,0
Produkty przemiany HR-MS	2,5

Przypisy:

- (1) Każdy jon można liczyć tylko raz.
- (2) GC-MS, wykorzystującą jonizację elektronową, uważa się za technikę odmienną od GC-MS wykorzystującej jonizację chemiczną.
- (3) Można użyć różnych analitów w celu zwiększenia liczby punktów identyfikacyjnych tylko wówczas gdy pochodne wykorzystują inną chemię reagowania.
- (4) Dla substancji w grupie A Załącznika 1 do dyrektywy 96/23/WE, jeżeli w procedurze analitycznej wykorzystuje się jedną z następujących technik: HPLC połączona z pełnoskanową spektrometrią z detekcją diodową (DAD); HPLC połączona z wykrywaniem fluorescencji; HPLC połączona z immunogramem; dwuwymiarowa TLC połączona z wykrywaniem spektrometrycznym; można dodać maksymalnie jeden punkt identyfikacyjny, o ile spełnione są odpowiednie kryteria dla tych technik.
- (5) Produkty przemiany obejmują produkty przemiany pierwszej i drugiej generacji.

Tabela 6

Przykłady liczby punktów identyfikacyjnych uzyskanych dla różnych technik i ich kombinacji (n = liczba całkowita)

Technika(-i)	Liczba jonów	Punkty identyfikacyjne
GC-MS (EI lub CI)	N	n
GC-MS (EI i CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
GC-MS (EI lub CI) 2 pochodne	2 (pochodna A) + 2 (pochodna B)	4
LC-MS	N	nn
GC-MS-MS	1 jon macierzysty i 2 produkty pierwszej generacji	4
LC-MS-MS	1 jon macierzysty i 2 produkty pierwszej generacji	4
GC-MS-MS	2 jony macierzyste, każdy z jednym produktem pierwszej generacji	5
LC-MS-MS	2 jony macierzyste, każdy z jednym produktem pierwszej generacji	5
LC-MS-MS-MS	1 jon macierzysty, 1 produkt pierwszej generacji i 2 produkty drugiej generacji	5,5
HRMS	N	2 n
GC-MS i LC-MS	2 + 2	4
GC-MS i HRMS	2 + 1	4

2.3.4. Kryteria wydajności i inne wymagania dla chromatografii połączonej z wykrywaniem podczerwieni

Piki właściwe: Piki właściwe to maksima absorpcji w widmie podczerwieni wzorca kalibracji spełniające następujące wymagania.

2.3.4.1. Wykrywanie podczerwieni

Maksimum absorpcji: Powinno się mieścić w zakresie liczby falowej 4000–500 cm^{-1} .

Natężenie absorpcji: Nie jest mniejsze niż:

- a) właściwa molarna absorpcja 40 w odniesieniu do linii podstawowej pików; albo
- b) absorpcja względna 12,5 % absorpcji pików o największym natężeniu w regionie 4000–500 cm^{-1}

gdy obie mierzone są względem absorpcji zerowej, oraz 5 % absorpcji pików o największym natężeniu w regionie 4000–500 cm^{-1} , gdy obie mierzone są względem swojej linii podstawowej pików.

Uwaga:

Chociaż z teoretycznego punktu widzenia preferowane mogą być piki właściwe zgodnie z a), te, które są zgodne z b), są łatwiejsze do ustalenia w praktyce.

Ustala się liczbę pików w widmie podczerwieni analitu, którego częstotliwości odpowiadają pikowi właściwemu w widmie wzorca kalibracji, z tolerancją $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

2.3.4.2. Interpretacja danych widma podczerwieni

Absorpcja występuje we wszystkich regionach widma analitu, które odpowiadają pikowi właściwemu w widmie referencyjnym wzorca kalibracji. W widmie podczerwieni wzorca kalibracyjnego potrzebne jest najmniej sześć pików właściwych. Jeżeli występuje mniej niż sześć pików właściwych (7), danego widma nie można wykorzystać jako widma referencyjnego. „Wynik”, tzn. procent pików właściwych znalezionych w widmie podczerwieni analitu, wynosi co najmniej 50. Jeżeli nie występuje dokładny odpowiednik pików właściwych, dany region widma analitu jest spójny z obecnością pików pasujących. Tę procedurę stosuje się tylko do pików absorpcji w widmie próbek o natężeniu co najmniej trzykrotnie większym od szumu między pikami.

2.3.5. Kryteria wydajności i inne wymagania dla oznaczania analitu z wykorzystaniem LC z innymi technikami wykrywania**2.3.5.1. Rozdzielanie metodą chromatograficzną**

Jeżeli dostępny jest odpowiedni materiał, używa się wzorca wewnętrznego. Powinien to być pokrewny wzorec, o czasie retencji bliskiej czasowi retencji analitu. Analit poddawany jest wymywaniu przez czas retencji typowy dla odpowiadającego mu wzorca kalibracji w tych samych warunkach doświadczalnych. Minimalny, możliwy do zaakceptowania czas retencji dla analitu wynosi dwukrotność czasu retencji odpowiadającego objętości próżni w kolumnie. Stosunek czasu retencji analitu do czasu retencji wzorca wewnętrznego, tzn. względny czas retencji analitu, jest taki sam, jak czas retencji wzorca kalibracji w odpowiedniej matrycy, z tolerancją $\pm 2,5 \%$.

2.3.5.2. Pełnoskanowe wykrywanie UV/VIS

Muszą być spełnione kryteria wydajności dla metod LC.

Maksima absorpcji w widmie analitu mają te same długości fal co wzorzec kalibracji z tolerancją uzależnioną od rozdzielczości systemu wykrywania. Detekcja diodowa mieści się zazwyczaj w granicach $\pm 2 \text{ nm}$. Widmo analitu powyżej 220 nm, dla tych części obu widm o absorpcji względnej $\geq 10 \%$, nie różni się widocznie od widma wzorca kalibracji. To kryterium jest spełnione, kiedy, po pierwsze, obecne są te same maksima i, po drugie, kiedy różnica między dwoma widmami w żadnym punkcie obserwacji nie przekracza 10 % absorpcji wzorca kalibracji. W przypadku użycia wspomagającego komputerowo przeszukiwania biblioteki i dopasowywania, porównanie danych widmowych w badanych próbkach do danych roztworu kalibracyjnego musi przekroczyć wartość współczynnika dopasowania krytycznego. Współczynnik należy ustalić w czasie procesu zatwierdzenia dla każdego analitu na podstawie widm, dla których spełnione są opisane powyżej kryteria. Należy sprawdzić zmienność widm spowodowaną matrycą próbek oraz działanie detektora.

2.3.5.3. Kryteria wydajności dla wykrywania fluorometrycznego

Muszą być spełnione kryteria wydajności dla metod LC.

Dotyczy to cząsteczek, które wykazują naturalną fluorescencję oraz cząsteczek wykazujących fluorescencję po przemianie lub derywatyzacji. Wyboru długości fal wzbudzenia i emisji w powiązaniu z warunkami chromatografii należy dokonać w taki sposób, aby zminimalizować występowanie zakłócających składników w zerowych ekstraktach próbek.

Najbliższe maksimum pików w chromatogramie oddziela się od wyznaczonego pików analitu o co najmniej jedną pełną szerokość pików przy 10 % maksymalnej wysokości pików analitu.

2.3.5.4. Kryteria wydajności dla oznaczenia analitu za pomocą immunogramu LC

Sam immunogram LC nie jest odpowiedni jako metoda potwierdzająca.

Muszą być spełnione odpowiednie kryteria dla metod LC.

Uprzednio określone parametry kontroli jakości, np. wiązanie niespecyficzne, wiązanie względne próbek kontrolnych, wartość absorbancji próbki zerowej, muszą mieścić się w granicach uzyskanych podczas zatwierdzenia analizy.

Immunogram musi być zbudowany z co najmniej pięciu frakcji.

Każda frakcja jest mniejsza niż połowa szerokości pików.

Frakcja o maksymalnej zawartości analitu musi być taka sama dla podejrzanej próbki, niezgodnej próbki kontrolnej i wzorca.

2.3.5.5. Oznaczenie analitu metodą LC z wykrywaniem UV/VIS (pojedyncza długość fali)

Sama metoda LC z wykrywaniem UV/VIS (pojedyncza długość fali) nie jest odpowiednia jako metoda potwierdzająca.

Najbliższe maksimum pików w chromatogramie oddziela się od wyznaczonego pików analitu o co najmniej jedną pełną szerokość pików przy 10 % maksymalnej wysokości pików analitu.

2.3.6. Kryteria wydajności i inne wymogi dla oznaczania analitu metodą 2-D TLC w powiązaniu z pełnoskanowym wykrywaniem spektrometrycznym UV/VIS

Obowiązkowa jest dwuwymiarowa HPTLC i chromatografia równoległa.

Wartości RF dla analitu powinny zgadzać się z wartościami RF wzorców z tolerancją ± 5 %.

Wygląd analitu nie jest możliwy do odróżnienia od wyglądu wzorca.

Dla plamek o tym samym kolorze należy oddzielić środek najbliższej plamki od środka plamki analitu o co najmniej połowę sumy średnic plamek.

Widmo analitu nie różni się wizualnie od widma wzorca, określonego dla pełnoskanowego wykrywania UV/VIS.

W przypadku użycia wspomaganego komputerowo przeszukiwania biblioteki i dopasowywania, porównanie danych widmowych w badanych próbkach do danych roztworu kalibracyjnego musi przekroczyć wartość współczynnika dopasowania krytycznego. Współczynnik należy ustalić w czasie procesu zatwierdzenia dla każdego analitu na podstawie widm, dla których spełnione są opisane powyżej kryteria. Należy sprawdzić zmienność widm spowodowaną matrycą próbki oraz działanie detektora.

2.3.7. Kryteria wydajności i wymogi dla oznaczania analitu metodą GC w powiązaniu z wykrywaniem wychwytu elektronów (ECD)

Jeżeli dostępny jest odpowiedni materiał, używa się wzorca wewnętrznego. Powinien to być pokrewny wzorzec, o czasie retencji bliskim czasowi retencji analitu. Analit poddawany jest wymywaniu przez czas retencji typowy dla odpowiadającego mu wzorca kalibracji w tych samych warunkach doświadczalnych. Minimalny, możliwy do zaakceptowania czas retencji dla analitu wynosi dwukrotność czasu retencji odpowiadającego objętości próżni w kolumnie. Stosunek czasu retencji analitu do czasu retencji wzorca wewnętrznego, tzn. względny czas retencji analitu, jest taki sam jak czas retencji wzorca kalibracji w odpowiedniej matrycy, z tolerancją $\pm 0,5$ %. Najbliższe maksimum pików w chromatogramie oddziela się od wyznaczonego pików analitu o co najmniej jedną pełną szerokość pików przy 10 % maksymalnej wysokości pików analitu. W celu uzyskania dodatkowych informacji można wykonać chromatografię równoległą.

2.4 METODY POTWIERDZAJĄCE DLA PIERWIASTKÓW

Analizy potwierdzające dla pierwiastków chemicznych opierają się na koncepcji jednoznacznej identyfikacji oraz dokładnej i precyzyjnej kwantyfikacji, wykorzystując właściwości fizyko-chemiczne unikalne dla danego pierwiastka chemicznego (np. właściwa pierwiastkowi długość fali emitowanego lub absorbowanego promieniowania, masa atomowa) na poziomie udziału.

Za odpowiednie do identyfikacji pierwiastków chemicznych uznaje się następujące metody lub ich kombinacje:

Tabela 7

Odpowiednie metody potwierdzające dla pierwiastków chemicznych

Technika	Mierzony parametr
Woltoamperometria inwersyjna	Sygnał elektryczny
Spektrometria absorpcji atomowej	
Płomieniowa	Długość fali absorpcji
Wytwarzanie wodorków	Długość fali absorpcji
Zimna para	Długość fali absorpcji
Atomizacja elektrotermiczna (piec grafitowy)	Długość fali absorpcji
Spektrometria emisji atomowej	
Plazma sprzężona indukcyjnie	Długość fali emisji
Spektrometria masowa	
Plazma sprzężona indukcyjnie	Stosunek masy do ładunku

2.4.1. Powszechne kryteria wydajności i inne wymogi dla metod potwierdzających

Materiał odniesienia lub materiał wzmocniony, zawierający znane ilości analitu, na poziomie lub blisko dopuszczalnej wartości granicznej lub decyzyjnej wartości granicznej (niezgodna próbka kontrolna), jak również zgodne materiały kontrolne i odczynniki do prób zerowych, powinny być jednocześnie poddane całej procedurze razem z każdą partią analizowanych badanych próbek. Kolejność wstrzykiwania ekstraktów do aparatury analitycznej jest następująca: odczynnik do próby zerowej, zgodna próbka kontrolna, próbka do potwierdzenia, zgodna próbka kontrolna i na koniec niezgodna próbka kontrolna. Każdą zmianę tej kolejności należy uzasadnić.

Ogólnie, większość technik analitycznych wymaga całkowitego rozтворzenia matrycy organicznej w celu otrzymania roztworów przed oznaczeniem analitu. Można to osiągnąć, stosując procedury mineralizacji mikrofalowej, które minimalizują ryzyko utraty i/lub zanieczyszczenia analitu będącego przedmiotem zainteresowania. Należy użyć odkażonych naczyń teflonowych dobrej jakości. Jeżeli stosuje się inną metodę mokrego lub suchego rozтворzenia, w celu wyeliminowania zjawisk potencjalnej utraty lub zanieczyszczenia należy udostępnić udokumentowane dowody. W niektórych okolicznościach można wybrać alternatywne do roztwarzania procedury oddzielania (np. ekstrakcja) w celu oddzielenia analitów od składników matrycy i/lub skoncentrowania analitów w celu wprowadzenia ich do urządzeń analitycznych.

Jeżeli chodzi o kalibrację, zewnętrzną lub opartą na procedurze dodatku wzorca, należy uważać, aby nie przekroczyć zakresu pomiarowego ustalonego dla analizy. W przypadku kalibracji zewnętrznej obowiązkowe jest sporządzenie wzorców kalibracji w roztworze, który jak najbardziej przypomina skład roztworu próbki. Jeżeli wymagają tego konkretne okoliczności analityczne należy również zastosować poprawkę na tło.

2.4.2. Dodatkowe kryteria wydajności i inne wymogi dla ilościowych metod analiz

2.4.2.1. Poprawność metod ilościowych

W przypadku powtórnej analizy certyfikowanego materiału odniesienia dla pierwiastków, odchylenie doświadczalnie ustalonej, średniej zawartości od wartości certyfikowanej mieści się w granicach $\pm 10\%$. Kiedy niedostępne są takie CRM, dopuszcza się ocenę poprawności pomiaru poprzez odzysk znanych ilości pierwiastka dodanych do nieznanych próbek. Należy zwrócić uwagę, że w przeciwieństwie do analitu, dodany pierwiastek nie jest chemicznie związany w rzeczywistej matrycy i dlatego wyniki uzyskane w wyniku tego podejścia są mniej wiarygodne niż wyniki uzyskane przy wykorzystaniu CRM. Dane z odzysku są możliwe do zaakceptowania tylko wówczas, gdy mieszczą się w granicach $\pm 10\%$ wartości docelowej.

2.4.2.2. *Precyzja metod ilościowych*

W przypadku powtórnej analizy próbki przeprowadzanej w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności, wewnątrzlaboratoryjny współczynnik zmienności (CV) średniej nie przekracza następujących wartości:

Tabela 8

Współczynniki zmienności (CV) dla metod ilościowych dla różnych zakresów ułamków masy pierwiastków

Ułamek masy	CV (%)
$\geq 10 \text{ } \mu\text{g/kg}$ do $100 \text{ } \mu\text{g/kg}$	20
$> 100 \text{ } \mu\text{g/kg}$ do $1000 \text{ } \mu\text{g/kg}$	15
$\geq 1000 \text{ } \mu\text{g/kg}$	10

2.4.3. **Szczególne wymagania dla woltamperometrii inwersyjnej (DPASV)**

Największe znaczenie ma całkowite zniszczenie materii organicznej w próbkach przed oznaczeniem metodą DPASV. Na woltamogramach nie może być widać żadnych szerokich sygnałów wynikających z obecności materiałów organicznych. Składniki nieorganiczne matrycy mogą w DPASV mieć wpływ na wysokość pików. Dlatego kwantyfikację trzeba wykonać metodą dodatku wzorca. Do metody załączone są przykłady typowych woltamogramów roztworu próbki.

2.4.4. **Szczególne wymagania dla spektrometrii absorpcji atomowej (AAS)**

Ta technika jest zasadniczo monopierwiastkowa i dlatego wymaga optymalizacji ustawień doświadczalnych w zależności od pierwiastka, jaki ma być oznaczony ilościowo. O ile to możliwe, wyniki należy sprawdzić pod względem jakościowym i ilościowym poprzez zastosowanie alternatywnych linii absorpcyjnych (w idealnym przypadku wybiera się dwie różne linie). Wzorce kalibracji należy sporządzić w roztworze matrycy, który jest jak najbardziej podobny do roztworu pomiarowego próbki (np. stężenie kwasu lub skład modyfikatora). Aby zminimalizować wartości zerowe, wszystkie odczynniki są najwyższej dostępnej czystości. W zależności od wybranego sposobu odparowania i/lub zatamizowania próbki, można rozróżnić różne rodzaje AAS.

2.4.4.1. *Szczególne wymagania dla płomieniowej AAS*

Ustawienia urządzeń należy optymalizować dla każdego pierwiastka. Szczególnie należy sprawdzić skład gazu i tempa przepływu. Należy zastosować ciągły korektor wejściowy w celu uniknięcia zakłóceń spowodowanych absorpcją tła. W przypadku nieznanych matryc należy sprawdzić, czy wymagana jest lub nie poprawka na tło.

2.4.4.2. *Szczególne wymagania dla AAS z piecem grafitowym*

Zanieczyszczenie w laboratorium ma często wpływ na dokładność w przypadku pracy na poziomach ultraśladów w piecu grafitowym. Dlatego należy stosować odczynniki o wysokiej czystości, demineralizowaną wodę i naczynia z obojętnego tworzywa sztucznego do obchodzenia się z próbką i wzorcem. Ustawienia urządzeń należy optymalizować dla każdego pierwiastka. Szczególnie sprawdzić należy warunki obróbki wstępnej i atomizacji (temperatura, czas) oraz modyfikację matrycy.

Praca w izotermicznych warunkach atomizacji (np. poprzeczny podgrzany kanał grafitowy ze zintegrowaną platformą Lvova (8)) zmniejsza wpływ matrycy dotyczący atomizacji analitu. W połączeniu z modyfikacją matrycy i poprawką na tło – zjawisko Zeemana (9), dozwolona jest kwantyfikacja za pomocą krzywej kalibracyjnej w oparciu o pomiar wodnych roztworów wzorcowych.

2.4.5. **Szczególne wymagania dla spektrometrii absorpcji atomowej z wytwarzaniem wodorków**

Związki organiczne zawierające takie pierwiastki, jak arsen, bizmut, german, ołów, antymon, selen, cynę i tellur mogą być bardzo stabilne i wymagają rozkładu utleniającego w celu uzyskania poprawnych wyników dla całej zawartości pierwiastków. Dlatego zaleca się roztworzenie mikrofalowe lub spopielenie pod wysokim ciśnieniem w warunkach silnie utleniających. Należy poświęcić najwięcej uwagi w zakresie całkowitej i odtwarzalnej konwersji pierwiastków w odpowiadające im wodorki.

Tworzenie się wodorku arsenu w roztworze kwasu solnego z NaBH_4 zależy od stopnia utlenienia arsenu (As III: szybkie tworzenie, As V: dłuższy okres tworzenia). Aby uniknąć utraty czułości do oznaczenia As V techniką wtrysku przepływu, spowodowanej krótkim czasem reakcji w tym systemie, As V trzeba zredukować do As III po rozkładzie utleniającym. Odpowiednie do tego celu są jodek potasu/kwas askorbinowy lub cysteina. Próbkę zerową, roztwory kalibracyjne i roztwory próbek należy traktować w ten sam sposób. Praca w systemie wsadowym umożliwia oznaczenie obu rodzajów arsenu bez wpływu na dokładność. Z powodu przedłużonego tworzenia się wodorku As V, kalibrację przeprowadza się poprzez integrację powierzchni piku. Ustawienia urządzeń należy zoptymalizować. Szczególne znaczenie ma przepływ gazu, który przenosi wodorek do atomizatora, i należy go sprawdzić.

2.4.6. Szczególne wymagania dla spektrometrii absorpcji atomowej z zimną parą

Zimną parę stosuje się tylko w przypadku rtęci. Z powodu strat spowodowanych ulatnianiem i pochłanianiem rtęci pierwiastkowej, w trakcie całej analizy niezbędna jest szczególna uwaga. Uważnie należy unikać zanieczyszczenia przez odczynniki lub środowisko.

Związki organiczne zawierające rtęć wymagają rozkładu utleniającego w celu uzyskania poprawnych wyników dla całkowitej zawartości rtęci. Do rozkładu stosuje się zamknięte systemy z roztwarzaniem mikrofalowym lub spoielaczem wysokociśnieniowym. Specjalnej uwagi wymaga czyszczenie urządzeń, które miały styczność z rtęcią.

Korzystne jest stosowanie techniki wttrysku przepływu. Dla niższych decyzyjnych wartości granicznych, zaleca się pochłanianie rtęci pierwiastkowej na adsorberze złotym/platynowym, a następnie termodesorpcję. Kontakt adsorbora lub elektrolizera z wilgocią zakłóci pomiar i należy go unikać.

2.4.7. Szczególne wymagania dla spektrometrii absorpcji atomowej z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP-AES)

Spektrometria absorpcji atomowej z plazmą sprzężoną indukcyjnie (10) jest metodą wielopierwiastkową, która umożliwia równoczesny pomiar różnych pierwiastków. Przed zastosowaniem ICP-AES próbki należy najpierw roztworzyć w celu rozłożenia matryc organicznych. Stosuje się zamknięte systemy z roztwarzaniem mikrofalowym lub spoielaczem wysokociśnieniowym. W analizie ICP-AES istotną rolę odgrywa kalibracja urządzeń oraz wybór pierwiastka i długości fali. W odniesieniu do kalibracji urządzeń, w przypadku liniowych krzywych kalibracyjnych, zazwyczaj konieczne jest zmierzenie tylko czterech stężeń roztworów kalibracyjnych, ponieważ krzywe kalibracyjne ICP-AES są zazwyczaj liniowe w czterech do sześciu rzędów wielkości stężenia. Kalibrację systemu ICP-AES należy zwykle wykonywać przy użyciu wielopierwiastkowego wzorca, który zostanie sporządzony w roztworze zawierającym to samo stężenie kwasu, co roztwór pomiarowy. W odniesieniu do krzywej liniowej należy sprawdzić stężenia pierwiastków.

Wybór długości fali do pomiaru emisji z analitów jest właściwy dla oznaczenia stężeń pierwiastków. Kiedy stężenie analitu znajduje się poza zakresem pomiarowym dla linii emisji, należy zastosować inną linię emisji. Na początku należy wybrać najbardziej czułą (niezakłóconą) linię emisji, a następnie mniej czułą. Przy pracy na poziomie lub w pobliżu granicy wykrywania najlepszym wyborem jest zazwyczaj najbardziej czuła linia dla odpowiedniego analitu. Największe trudności w ICP-AES powodują zakłócenia widmowe i tła. Możliwe zakłócenia to np. proste przesunięcie tła, nachylone przesunięcie tła, bezpośrednie zachodzenie widma i złożone przesunięcie tła. Każde z tych zakłóceń ma swoje przyczyny i środki zaradcze. W zależności od matryc, należy stosować poprawki na zakłócenia i optymalizację parametrów operacyjnych. Niektórych zakłóceń można uniknąć poprzez rozcieńczenie lub adaptację matryc. Dla każdej analizowanej partii badanych próbek, materiał odniesienia i materiał wzmocniony zawierające znane ilości analitu(-ów), jak również materiał z próby zerowej należy traktować w taki sam sposób co badane próbki. W celu zbadania dryfu należy sprawdzić wzorzec, np. po 10 próbkach. Wszystkie odczynniki i gaz plazmowy muszą być najwyższej dostępnej czystości.

2.4.8. Szczególne wymagania dla spektrometrii masowej z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP-MS) (11)

Oznaczenie pierwiastków śladowych o przeciętnej masie atomowej, takich jak chrom, miedź i nikiel może podlegać silnemu zakłóceniu ze strony innych jonów izobarycznych i wieloatomowych. Można tego uniknąć jedynie wtedy, gdy dostępna jest rozdzielczość co najmniej 7000–8000. Trudności związane z technikami MS obejmują dryf urządzeń, wpływy matrycy i zakłócenie spowodowane jonem cząsteczkowym ($m/z < 80$). Do skorygowania dryfu urządzeń i wpływów matrycy wymagana jest wielokrotna wewnętrzna standaryzacja obejmująca ten sam zakres masy co oznaczane pierwiastki.

Przez wykonaniem pomiarów metodą ICP-MS wymagany jest całkowity rozkład materii organicznej w próbkach. Podobnie jak w AAS, po roztworzeniu w zamkniętych naczyniach pierwiastki niestabilne, np. jod, należy przenieść do stabilnego stanu utleniania. Najpoważniejsze zakłócenia powodują kombinacje jonów cząsteczkowych argonu (gaz plazmowy), wodoru, węgla, azotu i tlenu (kwasy rozpuszczające, zanieczyszczenia gazu plazmowego i porwane gazy atmosferyczne) oraz matryce próbek. Aby uniknąć tych zakłóceń, konieczne jest całkowite roztworzenie, pomiary tła, właściwy wybór mas analitycznych czasami związany z mniejszym rozpowszechnieniem (ślabza granica wykrywania) i kwasów rozpuszczających, np. kwas azotowy.

W przypadku oznaczanych pierwiastków zakłócenia można wykluczyć poprzez właściwy wybór specyficznych mas analitycznych, w tym potwierdzenie proporcji izotopów. W przypadku każdego pomiaru należy sprawdzić odpowiedź urządzenia w zakresie czynnika Fano, wykorzystując wzorce wewnętrzne.

3. ZATWIERDZENIE

Zatwierdzenie wykazuje, że metoda analityczna spełnia kryteria mające zastosowanie do odpowiednich cech wydajności.

Różne cele kontrolne wymagają różnych kategorii metod. Poniższa tabela określa, które cechy wydajności zostaną zatwierdzone dla poszczególnych rodzajów metod.

Tabela 9

Klasyfikacja metod analitycznych według cech wydajności, które muszą być ustalone

		Granica wykrywania CC β	Decyzyjna wartość graniczna CC α	Poprawność/odzysk	Precyzja	Selektywność/specyfika	Przydatność/odporność/stabilność
Metody jakościowe	S	+	–	–	–	+	+
	C	+	+	–	–	+	+
Metody ilościowe	S	+	–	–	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = metody przesiewowe; C = metody potwierdzające; + = oznaczenie jest obowiązkowe.

3.1. PROCEDURY ZATWIERDZENIA

W niniejszym rozdziale podano przykłady i/lub odniesienia dla procedur zatwierdzenia metod analitycznych. Można stosować inne sposoby wykazania, że metoda analityczna spełnia kryteria wydajności dla cech wydajności, o ile dają one informacje na tym samym poziomie i tej samej jakości.

Zatwierdzenie można również przeprowadzić poprzez wykonanie badania międzylaboratoryjnego ustanowionego przez Kodeks Żywnościowy, ISO lub IUPAC (12), lub zgodnie z metodą alternatywną, taką jak badania w jednym laboratorium lub zatwierdzenie wewnętrzne (13) (14). Niniejsza część skupia się na badaniach w jednym laboratorium (zatwierdzenie wewnętrzne) przy wykorzystaniu podejścia modułowego. To podejście obejmuje:

1. zestaw powszechnych cech wydajności niezależnych od stosowanego modelu zatwierdzenia oraz
2. procedury bardziej szczególne i uzależnione od modelu zgodnie z opisem w tabeli 10.

Tabela 10

Parametry wydajności niezależne i zależne od modelu

Zatwierdzenie		
Niezależne od modelu parametry wydajności	Zależne od modelu parametry wydajności	
Powszechne cechy wydajności (ppkt 3.1.1)	Weryfikacja konwencjonalna (ppkt 3.1.2)	Weryfikacja wewnętrzna (ppkt 3.1.3)
Specyficzność	Odzysk	Odzysk
Poprawność	Powtarzalność	Powtarzalność
Odporność: niewielkie zmiany	Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna	Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna
Stabilność	Odtwarzalność	Odtwarzalność
	Decyzyjna wartość graniczna (CC α)	Decyzyjna wartość graniczna (CC α)
	Zdolność wykrywania (CC β)	Zdolność wykrywania (CC β)
	Krzywe kalibracyjne	Krzywa kalibracyjna
	Odporność: znaczne zmiany	Odporność

3.1.1. Niezależne od modelu cechy wydajności

Niezależnie od wybranego sposobu zatwierdzenia, należy ustalić następujące cechy wydajności. Aby zminimalizować obciążenie, można zastosować starannie zaplanowane i statystycznie uzasadnione podejście łączące wykonywane doświadczenia z ustalaniem różnych parametrów.

3.1.1.1. Specyfika

W przypadku metod analitycznych znaczenie ma zdolność odróżniania analitu od blisko spokrewnionych z nim substancji (izomerów, metabolitów, produktów rozkładu, substancji endogenicznych, składników matrycy itp.). W celu sprawdzenia zakłóceń, konieczne są dwa podejścia.

Dlatego należy wybrać potencjalnie zakłócające substancje i przeanalizować odpowiednie próbki zerowe w celu wykrycia obecności ewentualnych zakłóceń i oszacowania ich wpływu:

- wybiera się szereg chemicznie spokrewnionych związków (metabolity, pochodne itp.) lub innych substancji, które prawdopodobnie mogą współwystępować ze związkiem będącym przedmiotem zainteresowania i mogą być obecne w próbce,
- analizuje się odpowiednią liczbę reprezentatywnych próbek zerowych ($n \geq 20$) i sprawdza, czy występują jakieś zakłócenia (sygnały, piki, ślady jonów) w regionie zainteresowania, gdzie docelowy analit ma być wykrywany,
- dodatkowo reprezentatywne próbki zerowe wzmacnia się przy odpowiednim stężeniu substancjami, które mogą zakłócać identyfikację i/lub kwantyfikację analitu,
- po przeprowadzeniu analizy należy zbadać, czy:
 - obecność może prowadzić do mylnej identyfikacji,
 - identyfikacja analitu docelowego jest utrudniona przez obecność jednego lub więcej zakłóceń, lub
 - wpływ na kwantyfikację jest znaczny.

3.1.1.2. Poprawność

Niniejszy akapit opisuje określenie poprawności (jeden składnik dokładności). Poprawność można ustalić wyłącznie na podstawie certyfikowanego materiału odniesienia (CRM). CRM należy wykorzystać w każdym przypadku, gdy jest dostępny. Procedura jest opisana szczegółowo w ISO 5725-4 (5). Przykład podany jest poniżej:

- analizuje się sześć replik CRM zgodnie z instrukcjami dotyczącymi badań dla metody,
- ustala się stężenie analitu obecnego w każdej próbce replik,
- oblicza się średnią, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności (%) dla tych stężeń,
- oblicza się poprawność, dzieląc wykryte średnie stężenie przez wartość certyfikowaną (mierzoną jako stężenie) i mnożąc przez 100, aby wyrazić wynik jako procent.

Poprawność (%) = $\frac{\text{średnie wykryte stężenie z uwzględnieniem odzysku} \times 100}{\text{wartość certyfikowana}}$.

Jeżeli niedostępny jest żaden CRM, zamiast poprawności można ustalić odzysk, zgodnie z opisem w ppkt 4.1.2.1 poniżej.

3.1.1.3. Przydatność/odporność (niewielkie zmiany)

W takich badaniach wykorzystuje się zamierzone wprowadzenie niewielkich, uzasadnionych zmian przez laboratorium oraz obserwację ich konsekwencji.

Należy przeprowadzić badania wstępne, wybierając czynniki wstępnej obróbki, czyszczenia i analizy próbki, które mogą mieć wpływ na wyniki pomiaru. Takie czynniki mogą obejmować osobę wykonującą analizę, źródło i wiek odczynników, rozpuszczalniki, wzorce i ekstrakty próbki, tempo ogrzewania, temperatura, wartość pH, jak również wiele innych czynników, które mogą wystąpić w laboratorium. Te czynniki należy modyfikować zgodnie z rzędem wielkości, który odpowiada odchyleniom zazwyczaj występującym między laboratoriami.

- Identyfikuje się czynniki, które mogą ewentualnie mieć wpływ na wyniki.
- Każdy czynnik ulega nieznacznie zmianie.

- Przeprowadza się test odporności, stosując podejście Youdena (15) (16). (Można posłużyć się innymi, zatwierdzonymi metodami. Jednakże podejście Youdena pozwala zminimalizować wymagany czas i wysiłek). Podejście Youdena to czynnikowy schemat ułamkowy. Nie można wykryć wzajemnych oddziaływań między różnymi czynnikami.
- Jeżeli stwierdzi się, że czynnik ma znaczny wpływ na wyniki pomiaru, prowadzi się dalsze doświadczenia w celu określenia wartości granicznych dopuszczalności tego czynnika.
- Czynniki mające znaczny wpływ na wyniki należy wyraźnie określić w Protokole metody.

Głównie chodzi o to, aby nie badać jednej zmiany, ale jednorazowo wprowadzać szereg zmian. Na przykład, niech A, B, C, D, E, F, G oznaczają nominalne wartości siedmiu różnych czynników, które mogą mieć wpływ na wyniki, jeżeli ich wartości nominalne zostaną nieznacznie zmienione. Niech ich alternatywne wartości oznaczają odpowiadające im małe litery a, b, c, d, e, f i g. Powstaje 2⁷ lub 128 różnych możliwych kombinacji.

Możliwe jest wybranie podzestawu ośmiu z tych kombinacji, w których występuje równowaga między dużymi i małymi literami (tabela 11). Należy wykonać osiem oznaczeń, w których wykorzystuje się kombinację wybranych czynników (A-G). Wyniki tych oznaczeń pokazane są w tabeli 11 poniżej jako S-Z.

Tabela 11

Schemat doświadczenia na badanie odporności (niewielkie zmiany)

Wartość czynnika F	Kombinacja liczby oznaczeń							
	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
Zaobserwowany wynik R	S	T	U	V	W	X	Y	Z

Dla obliczeń patrz przykłady na badanie odporności w pkt 3.3.

3.1.1.4. Stabilność

Zaobserwowano, że niewystarczająca stabilność analitu lub składników matrycy w próbce w czasie składowania lub analizy może powodować znaczne odchylenia w wynikach analizy. Ponadto należy sprawdzić stabilność wzorca kalibracji w roztworze. Zazwyczaj stabilność analitu jest dobrze określona dla różnych warunków składowania. Monitorowanie warunków składowania stanowi część normalnego systemu akredytacji laboratorium. Kiedy nie jest znana, podane niżej przykłady pokazują, w jaki sposób można ją ustalić.

Stabilność analitu w roztworze:

- Sporządza się świeże roztwory podstawowe analitu(-ów) i rozcieńcza zgodnie z instrukcjami dotyczącymi badań w celu uzyskania wystarczających ilości podwielokrotności (np. 40) dla każdego wybranego stężenia (około minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności dla substancji, dla których nie ustalono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej, lub około dopuszczalnej wartości granicznej dla pozostałych substancji). Sporządza się oba roztwory analitu wykorzystane do wzmocnienia i w ostatecznym roztworze analitycznym, oraz wszelkie inne roztwory, będące przedmiotem zainteresowania (np. derywatyzowane wzorce).
- Mierzy się zawartość analitu w świeżo sporządzonym roztworze zgodnie z instrukcjami dotyczącymi badań.
- Dozuje się właściwe ilości do odpowiednich pojemników, etykietuje i składa zgodnie ze schematem:

Tabela 12

Schemat dla oznaczenia stabilności analitu w roztworze

	- 20 Code en erreur: 8eJC	+ 4 Code en erreur: 8eJC	+ 20 Code en erreur: 8eJC
Ciemno	10 podwielokrotności	10 podwielokrotności	10 podwielokrotności
Jasno			10 podwielokrotności

- Można wybrać czas składowania jako jeden, dwa, trzy i cztery tygodnie lub dłużej w razie potrzeby, np. do zaobserwowania pierwszych zjawisk rozkładu w czasie identyfikacji i/lub kwantyfikacji. Należy odnotować maksymalny czas i optymalne warunki składowania.
- Stężenie analitu(-ów) w każdej podwielokrotności powinno się obliczać, przyjmując świeżo sporządzony roztwór analitu w czasie analizy jako 100 %.

$$\text{Pozostały analit (\%)} = C_i \times 100 / C_{\text{świeży}}$$

C_i = stężenie w punkcie czasowym

$C_{\text{świeży}}$ = stężenie świeżego roztworu

Stabilność analitu(-ów) w matrycy

- W każdym przypadku, gdy będzie to możliwe, należy wykorzystać pobrane próbki. Jeżeli nie jest dostępny żaden pobrany materiał, należy wykorzystać matrycę wzmocnioną analitem.
- Kiedy jest dostępny pobrany materiał, stężenie w tym materiale należy oznaczyć, kiedy materiał jest wciąż świeży. Dalsze podwielokrotności materiału można pobrać po jednym, dwóch, czterech i dwudziestu tygodniach i należy oznaczyć stężenia. Tkanę należy przechowywać w temperaturze co najmniej minus 20 °C lub niższej w razie potrzeby.
- Jeżeli nie jest dostępny żaden pobrany materiał, należy pobrać trochę materiału zerowego i poddać go homogenizacji. Materiał dzieli się na pięć podwielokrotności. Każdą podwielokrotność wmacnia się analitem, który najlepiej jest przygotować w niewielkiej ilości roztworu wodnego. Jedną podwielokrotność analizuje się niezwłocznie. Pozostałe składa się w temperaturze co najmniej minus 20 °C lub niższej w razie potrzeby i analizuje po jednym, dwóch, czterech i dwudziestu tygodniach.

3.1.1.5. Krzywe kalibracyjne

W przypadku stosowania krzywych kalibracyjnych do kwantyfikacji:

- w budowaniu krzywej należy wykorzystać co najmniej pięć poziomów (w tym poziom zero),
- należy opisać zakres pomiarowy krzywej,
- należy opisać wzór matematyczny krzywej oraz zgodność danych z krzywą,
- należy opisać zakresy akceptowalności dla parametrów krzywej. Jeżeli konieczna jest kalibracja seryjna w oparciu o roztwór mianowany, należy wskazać akceptowalne zakresy krzywej kalibracyjnej, które mogą być różne dla każdej serii.

3.1.2. Konwencjonalne procedury zatwierdzenia

Obliczanie parametrów zgodnie z metodami konwencjonalnymi wymaga przeprowadzenia szeregu indywidualnych doświadczeń. Dla każdej większej zmiany należy oznaczyć każdą cechę wydajności (patrz punkt dotyczący przydatności/odporności powyżej). Dla metod wieloanalitowych, kilka analitów można analizować równocześnie, o ile uprzednio wykluczy się ewentualne zakłócenia. W podobny sposób można oznaczyć szereg cech wydajności. W związku z tym, aby zminimalizować obciążenie, zaleca się łączenie doświadczeń w najbardziej możliwym zakresie (np. powtarzalność i wewnętrzną odtwarzalność ze specyficznością, analizę próbek zerowych z oznaczeniem decyzyjnej wartości granicznej i badaniem specyficzności).

3.1.2.1. Odzysk

Jeżeli niedostępny jest żaden CRM, odzysk należy oznaczyć doświadczalnie, wykorzystując wzmocnioną matrycę zerową, według np. następującego schematu:

- wybiera się 18 podwielokrotności materiału zerowego i wmacnia sześć podwielokrotności przy 1, 1,5 i 2-krotności minimalnej, wymaganej wartości granicznej wydajności lub 0,5, 1 i 1,5-krotności dopuszczalnej wartości granicznej,
- analizuje się próbki i oblicza się stężenie obecne w każdej próbce,

- wykorzystując poniższe równanie, oblicza się odzysk dla każdej próbki,
- oblicza się średni odzysk oraz współczynnik zmienności na podstawie sześciu wyników na każdym poziomie,
- $\% \text{ odzysku} = 100 \times \text{zmierzona zawartość} / \text{poziom wzmocnienia}$.

Ta konwencjonalna metoda oznaczania odzysku stanowi alternatywę dla metody dodatku wzorca opisanej w ppkt 3.5, w przypadku gdy:

- próbkę uważa się za próbkę zerową zamiast próbki badanej,
- uważa się, że uzysk ⁽¹⁾ i odzysk ⁽²⁾ są podobne dla dwóch badanych części,
- badane próbki mają tę samą masę, a ekstrakty badanych części tę samą objętość,
- odnotowuje się ilość wzorca kalibracji, jaki dodaje się do drugiej (wzbogaconej) badanej części x_{add} ($x_{\text{add}} = P_A \cdot V_A$),
- x_1 to zmierzona wartość dla próbki zerowej, a x_2 zmierzona wartość dla drugiej (wzbogaconej) badanej części,
- wówczas $\% \text{ odzysku} = 100 (x_2 - x_1) / x_{\text{add}}$.

Kiedy nie jest (lub uważa się, że nie jest) spełniony jakikolwiek z powyższych warunków, wówczas należy wykonać całą procedurę oznaczenia odzysku metodą dodatku wzorca opisaną w ppkt 3.5.

3.1.2.2. Powtarzalność

- Przygotować zestaw próbek o takich samych matrycach, wzmocnionych analitem tak, aby uzyskać stężenia równe 1, 1,5 i 2-krotności minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności lub 0,5, 1 i 1,5-krotności dopuszczalnej wartości granicznej.
- Na każdym poziomie analizę należy wykonać z co najmniej sześcioma replikami.
- Przeanalizować próbki.
- Obliczyć stężenie wykryte w poszczególnych próbkach.
- Znaleźć średnie stężenie, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności (%) dla wzmocnionych próbek.
- Powtórzyć te działania co najmniej dwukrotnie.
- Obliczyć ogólne, średnie stężenia i współczynniki zmienności dla wzmocnionych próbek.

3.1.2.3. Wewnątrzlaboratoryjna odtwarzalność

- Przygotować zestaw próbek określonego materiału badawczego (identyczne lub różne matryce), wzmocnionych analitem tak, aby uzyskać stężenia równe 1, 1,5 i 2-krotności minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności lub 0,5, 1 i 1,5-krotności dopuszczalnej wartości granicznej.
- Na każdym poziomie analizę należy wykonać z co najmniej sześcioma replikami.
- Powtórzyć te działania co najmniej dwukrotnie z innymi podmiotami i w innych warunkach środowiska, np. z różnymi partiami odczynników, rozpuszczalników itp., w różnych temperaturach pokojowych, z użyciem różnych urządzeń itp., o ile jest to możliwe.
- Przeanalizować próbki.
- Obliczyć stężenie wykryte w poszczególnych próbkach.
- Znaleźć średnie stężenie, odchylenie standardowe i współczynnik zmienności (%) dla wzmocnionych próbek.

3.1.2.4. Odtwarzalność

W przypadku konieczności zweryfikowania odtwarzalności laboratorium powinny uczestniczyć w badaniach koloaboracyjnych zgodnie z ISO 5725-2 (5).

3.1.2.5. Decyzyjna wartość graniczna (CCa)

Decyzyjną wartość graniczną należy ustalić zgodnie z wymogami dotyczącymi identyfikacji lub identyfikacji z kwantyfikacją zgodnie z opisem w „Kryteria wydajności i inne wymogi dla metod analitycznych” (część 2).

⁽¹⁾ Uzysk: ten ułamek masy analitu zawartego w próbce, jaki jest obecny w ostatecznym ekstrakcie.

⁽²⁾ Odzysk (tutaj): ten ułamek masy analitu dodanego do próbki, jaki jest obecny w ostatecznym ekstrakcie. W pozostałej części dokumentu zakłada się, że uzysk i odzysk są równe i w związku z tym stosuje się jedynie termin „odzysk”.

W przypadku substancji, dla których nie ustalono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej, CC α można ustalić:

- albo poprzez procedurę krzywej kalibracyjnej zgodnie z ISO 11843 (17) (określoną tutaj jako wartość krytyczna zmiennej stanu netto). W tym przypadku używa się materiału zerowego, który zostaje wzmocniony na poziomie i powyżej minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności w jednakowo odległych krokach. Przeanalizować próbki. Po identyfikacji sporządzić wykres sygnału w stosunku do dodanego stężenia. Odpowiadające stężenie w punkcie przecięcia z osią y plus 2,33-krotność odchylenia standardowego wewnątrzlaboratoryjnej odtwarzalności punktu przecięcia równa się decyzyjnej wartości granicznej. Metodę tę stosuje się wyłącznie do analiz ilościowych ($\alpha = 1\%$),
- lub analizując co najmniej 20 materiałów zerowych dla każdej matrycy, aby móc obliczyć stosunek sygnał-szum w oknie czasowym, w którym spodziewany jest analit. Jako decyzyjną wartość graniczną można wykorzystać trzykrotność stosunku sygnał-szum. Stosowane jest to do analiz ilościowych i jakościowych.

W przypadku substancji z ustaloną dopuszczalną wartością graniczną, CC α może zostać ustalone:

- albo poprzez procedurę krzywej kalibracyjnej zgodnie z ISO 11843 (17) (określoną tutaj jako wartość krytyczna zmiennej stanu netto). W tym przypadku używa się materiału zerowego, który zostaje wzmocniony około minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności w jednakowo odległych krokach. Przeanalizować próbki. Po identyfikacji sporządzić wykres sygnału w stosunku do dodanego stężenia. Odpowiadające stężenie przy dopuszczalnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odchylenia standardowego wewnątrzlaboratoryjnej odtwarzalności równa się decyzyjnej wartości granicznej ($\alpha = 5\%$),
- lub analizując co najmniej 20 materiałów zerowych dla każdej matrycy wzmocnionej analitem(-ami) przy dopuszczalnej wartości granicznej. Stężenie przy dopuszczalnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odpowiadającego odchylenia standardowego równa się decyzyjnej wartości granicznej ($\alpha = 5\%$).

Patrz również art. 5 i ppkt 3.2.

3.1.2.6. Zdolność wykrywania (CC β)

Zdolność wykrywania należy ustalić zgodnie z wymogami dla badań przesiewowych, identyfikacji lub identyfikacji z kwantyfikacją zgodnie z opisem (patrz: część 2).

W przypadku substancji, dla których nie ustalono żadnej dopuszczalnej wartości granicznej, CC β może zostać ustalone poprzez:

- procedurę krzywej kalibracyjnej zgodnie z ISO 11843 (17) (określoną tutaj jako minimalna wykrywalna wartość zmiennej stanu netto). W tym przypadku używa się reprezentatywnego materiału zerowego, który zostaje wzmocniony na poziomie i poniżej minimalnej wymaganej wartości granicznej wydajności w jednakowo odległych krokach. Przeanalizować próbki. Po identyfikacji sporządzić wykres sygnału w stosunku do dodanego stężenia. Odpowiadające stężenie przy decyzyjnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odchylenia standardowego wewnątrzlaboratoryjnej odtwarzalności średniej zmierzonej zawartości przy decyzyjnej wartości granicznej równa się zdolności wykrywania ($\beta = 5\%$),
- analizując co najmniej 20 materiałów zerowych dla każdej matrycy wzmocnionej analitem(-ami) przy decyzyjnej wartości granicznej. Przeanalizować próbki i zidentyfikować anality. Wysokość decyzyjnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odchylenia standardowego wewnątrzlaboratoryjnej odtwarzalności średniej zmierzonej zawartości równa się zdolności wykrywania ($\beta = 5\%$),
- jeżeli nie są dostępne żadne wyniki ilościowe, zdolność wykrywania można ustalić poprzez zbadanie wzmocnionego materiału zerowego na poziomie i powyżej decyzyjnej wartości granicznej. W tym przypadku poziom stężenia, przy którym pozostaje tylko $\leq 5\%$ mylnie zgodnych wyników, równa się zdolności wykrywania metody. Dlatego dla co najmniej jednego poziomu stężenia należy wykonać co najmniej 20 badań w celu zapewnienia rzetelnej podstawy tego oznaczenia.

W przypadku substancji, dla których ustalono dopuszczalną wartość graniczną, CC β może zostać ustalone:

- albo poprzez procedurę krzywej kalibracyjnej zgodnie z ISO 11843 (17) (określoną tutaj jako minimalna wykrywalna wartość zmiennej stanu netto). W tym przypadku używa się reprezentatywnego materiału zerowego, który zostaje wzmocniony około dopuszczalnej wartości granicznej w jednakowo odległych krokach. Przeanalizować próbki i zidentyfikować analit(-y). Obliczyć odchylenie standardowe średniej zmierzonej zawartości przy decyzyjnej wartości granicznej. Odpowiadające stężenie przy wysokości decyzyjnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odchylenia standardowego wewnątrzlaboratoryjnej odtwarzalności równa się zdolności wykrywania ($\beta = 5\%$),
- lub analizując co najmniej 20 materiałów zerowych dla każdej matrycy wzmocnionych analitem(-ami) przy decyzyjnej wartości granicznej. Wysokość decyzyjnej wartości granicznej plus 1,64-krotność odpowiadającego odchylenia standardowego równa się zdolności wykrywania ($\beta = 5\%$).

Patrz także ppkt 3.2.

3.1.2.7. Odporność (znaczące zmiany)

Metodę analityczną należy zbadać w różnych warunkach doświadczalnych, które obejmują np. różne gatunki, różne matryce lub różne warunki pobierania próbek. Wprowadzone zmiany powinny być znaczne. Znaczenie tych zmian może zostać ocenione, na przykład, stosując podejście Youdena (15) (16). Każdą cechę wydajności należy ustalić dla wszystkich znacznych zmian wykazujących istotny wpływ na wydajność analizy.

3.1.3. Zatwierdzenie według modeli alternatywnych

W przypadku stosowania alternatywnych procedur zatwierdzenia, będący podstawą model i strategię z odpowiednimi warunkami wstępnymi, założenia i wzory należy opisać w Protokole zatwierdzenia lub przynajmniej należy podać odniesienia do ich dostępności. Poniżej podano przykład alternatywnego podejścia. Stosując np. wewnętrzny model zatwierdzenia, cechy wydajności ustala się w sposób umożliwiający zatwierdzenie w przypadku wprowadzenia znacznych zmian w ramach samej procedury zatwierdzenia. Wymaga to sporządzenia planu doświadczeń do zatwierdzenia.

3.1.3.1. Plan doświadczeń

Plan doświadczeń należy sporządzić w oparciu o liczbę badanych gatunków i czynników. Stąd pierwszy krok całej procedury zatwierdzenia polega na rozpatrzeniu populacji próbnych, które będą analizowane przez laboratorium w przyszłości w celu wybrania najważniejszych gatunków i tych czynników, które mogą mieć wpływ na wyniki pomiaru. Następnie należy wybrać zakres stężeń w sposób dostosowany do celu i zgodnie z poziomem udziału.

Przykład:

- metodą analityczną, która została zatwierdzona, można badać kilka analitów równocześnie,
- zidentyfikowano dwie odmiany wiodącego czynnika (A i B). Wiodące czynniki tworzą podstawę, na której łączy się poziomy czynniki. Te wiodące czynniki mogą obejmować takie czynniki, jak gatunek lub matryca. W niniejszym przykładzie wiodący czynnik podlega zmianie na dwóch poziomach, tzn. bierze się pod uwagę dwa różne gatunki (gatunki A i B). Ogólnie, można zmieniać wiodące czynniki na więcej niż dwóch poziomach, co tylko zwiększa liczbę analiz, jakie należy wykonać,
- wybrane czynniki należy zmienić na dwóch poziomach (oznaczonych jako + lub -).

Tabela 13

Przykłady czynników uznanych za ważne dla procedury zatwierdzenia

Płeć zwierzęcia	(czynnik 1)
Rasa	(czynnik 2)
Warunki transportu	(czynnik 3)
Warunki przetrzymywania	(czynnik 4)
Świeżość próbki	(czynnik 5)
Warunki tuczu	(czynnik 6)
Różne podmioty o różnym doświadczeniu	(czynnik 7).

Tabela 14

Możliwy plan doświadczeń dla powyższego przykładu

Gatunek	Czynnik 1	Czynnik 2	Czynnik 3	Czynnik 4	Czynnik 5	Czynnik 6	Czynnik 7	Próbka nr
A	+	+	+	+	–	+	–	1
A	+	+	–	–	+	–	–	2
A	+	–	+	–	–	–	+	3
A	+	–	–	+	+	+	+	4
A	–	+	+	–	+	+	+	5
A	–	+	–	+	–	–	+	6
A	–	–	+	+	+	–	–	7
A	–	–	–	–	–	+	–	8

Gatunek	Czynnik 1	Czynnik 2	Czynnik 3	Czynnik 4	Czynnik 5	Czynnik 6	Czynnik 7	Próbka nr
Gatunek	Czynnik 1	Czynnik 2	Czynnik 3	Czynnik 4	Czynnik 5	Czynnik 6	Czynnik 7	Próbka nr
B	+	+	+	+	+	–	+	9
B	+	+	–	–	–	+	+	10
B	+	–	+	–	+	+	–	11
B	+	–	–	+	–	–	–	12
B	–	+	+	–	–	–	–	13
B	–	+	–	+	+	+	–	14
B	–	–	+	+	–	+	+	15
B	–	–	–	–	+	–	+	16

Ponieważ do każdej próbki (każdej kombinacji poziomów czynnika) należy dodać cztery różne stężenia około poziomu udziału oraz dla każdego poziomu trzeba zbadać jedną próbkę zerową, należy wykonać $5 \times 16 = 80$ analiz w całym doświadczeniu zatwierdzającym.

Na podstawie tych 80 wyników pomiarów można obliczyć (13) (14):

Odzysk

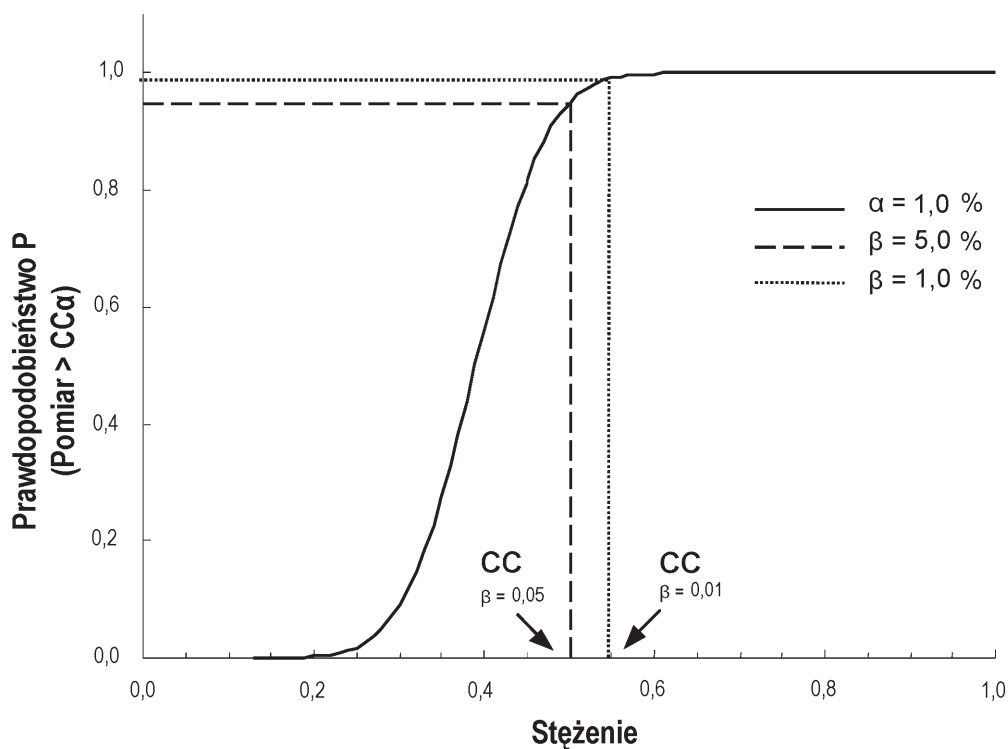
- powtarzalność dla każdego poziomu stężenia (s_{ir}),
- wewnątrzlaboratoryjną odtwarzalność dla każdego poziomu stężenia (s_{ir}),
- decyzyjną wartość graniczną ($CC\alpha$)
- zdolność wykrywania ($CC\beta$),
- krzywą mocy (współczynnik błędu α w stosunku do stężenia (patrz ppkt 3.1.3.2),
- odporność na znaczne zmiany; odporność na nieznaczne zmiany można ustalić zgodnie z ppkt 3.1.1.3,
- 16 krzywych kalibracyjnych związanych z próbkami,
- jedną ogólną krzywą kalibracyjną,
- przedział przewidywania ogólnej krzywej kalibracyjnej,
- odchylenia przypisane matrycy (s_{mat}),
- odchylenia przypisane serii (s_{run}),
- wpływ poszczególnych czynników na wyniki pomiaru.

Te cechy wydajności umożliwiają wyczerpującą ocenę poziomu wydajności metody, ponieważ bada się nie tylko wpływ poszczególnych czynników, ale także odpowiednich kombinacji tych czynników. Przy pomocy tego schematu doświadczenia możliwe jest podjęcie decyzji, czy należy wyłączyć ten lub inny z wybranych czynników z ogólnej krzywej kalibracyjnej, ponieważ wykazuje on znaczne odchylenie od odchylenia standardowego pozostałych czynników.

3.1.3.2. Krzywa mocy

Krzywa mocy dostarcza informacji na temat zdolności wykrywania metody w wybranym zakresie stężeń. Odnosi się ona do ryzyka wystąpienia błędu β w przypadku zastosowania badanej metody. Krzywa mocy umożliwia obliczenie zdolności wykrywania dla poszczególnych kategorii (przesiewowe, potwierdzające) lub rodzajów (jakościowe lub ilościowe) metod dla pewnego błędu β (np. 5 %).

Rysunek 1
Krzywa mocy



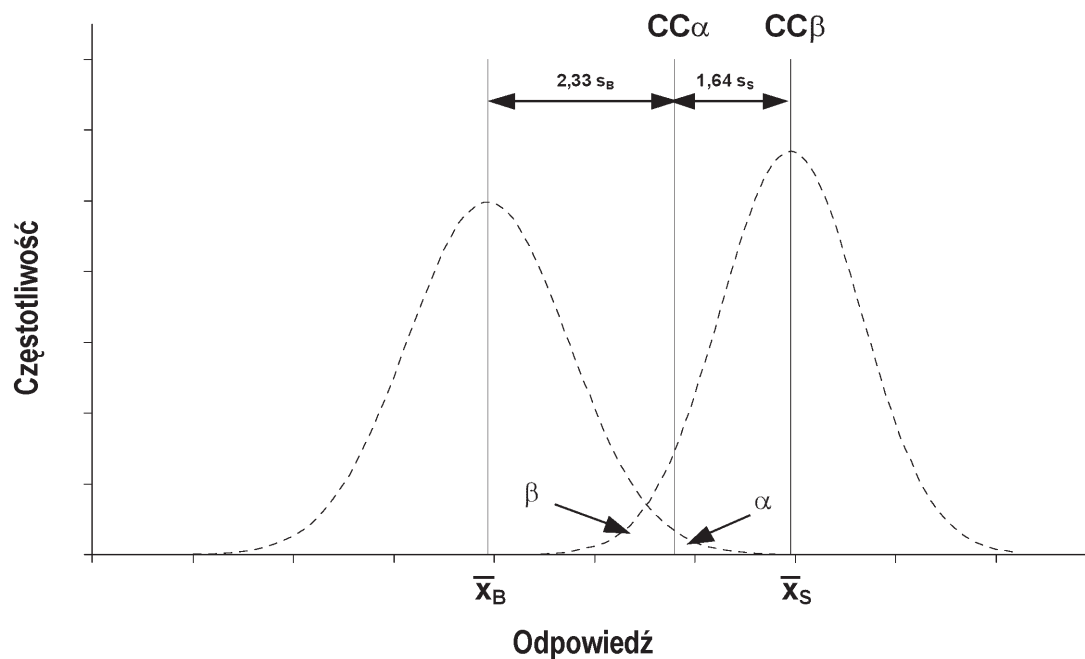
Rysunek 1 pokazuje przykład graficznego ustalenia zdolności wykrywania ($CC\beta$) metody analitycznej. Ta konkretna metoda posiada ryzyko podjęcia mylnej decyzji wynoszące 5 % przy stężeniu 0,50 $\mu\text{g/kg}$. Przy stężeniu 0,55 $\mu\text{g/kg}$ ryzyko podjęcia mylnej decyzji zmniejsza się do 1 %.

3.1.3.3. Odtwarzalność

Koncepcja oznaczenia odtwarzalności metody badaniem wykonanym w jednym laboratorium (zatwierdzenie wewnętrzne) wymaga powtarzalnego uczestnictwa w badaniach biegłości zgodnie z wytycznymi ISO 43-1 (3) i 43-2 (4). Laboratorium wolno wybrać ich własne metody, pod warunkiem iż metody te stosowane są w rutynowych warunkach. Odchylenie standardowe laboratorium można wykorzystać do oceny odtwarzalności metody.

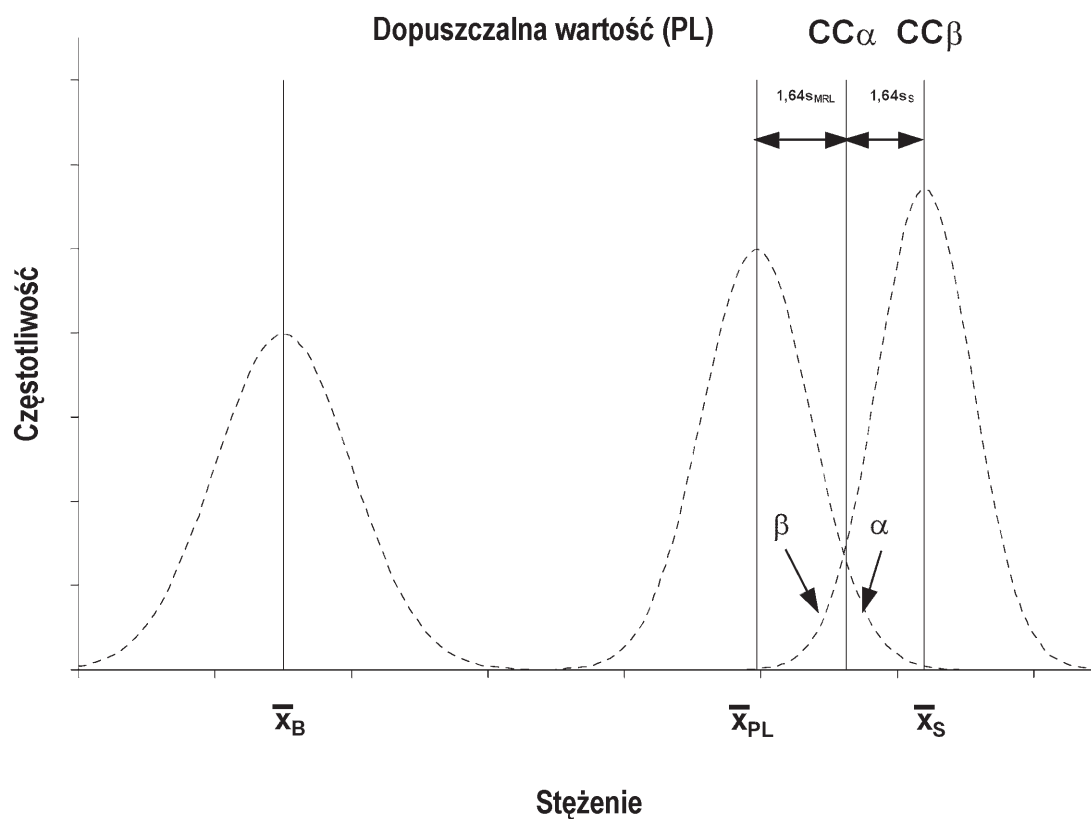
3.2. GRAFICZNE PRZEDSTAWIENIE RÓŻNYCH WARTOŚCI GRANICZNYCH ANALITYCZNYCH

Rysunek 2
Substancje, dla których nie ustalono dopuszczalnej wartości granicznej



$\bar{x}_S$	Średnia wartość odpowiedzi zanieczyszczonej próbki
s_B	Odchylenie standardowe próbki zerowej (ustalone w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności)
s_S	Odchylenie standardowe zanieczyszczonej próbki (ustalone w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności)
α	Wskaźnik wyników mylnie niezgodnych
β	Wskaźnik wyników mylnie zgodnych
$CC\alpha$	Odpowiedź z danym błędem α i 50 % błędem β
$CC\beta$	Odpowiedź z bardzo małym błędem α i błędem β

Rysunek 3
Substancje z ustaloną dopuszczalną wartością graniczną



$\bar{x}_B$ Średnie „stężenie” próbki zerowej

$\bar{x}_{PL}$ Średnie stężenie próbki zawierającej analit przy dopuszczalnej wartości granicznej

$\bar{x}_S$ Średnie stężenie zanieczyszczonej próbki

s_{PL} Odchylenie standardowe próbki zawierającej analit przy dopuszczalnej wartości granicznej (ustalone w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności)

s_S Odchylenie standardowe zanieczyszczonej próbki (ustalone w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności)

α Wskaźnik wyników mylnie niezgodnych

β Wskaźnik wyników mylnie zgodnych

CC_α Odpowiedź z danym błędem α i 50 % błędem β

CC_β Odpowiedź z bardzo małym błędem α i danym błędem β

3.3. PRZYKŁAD OBLICZANIA DLA BADANIA ODPORNOŚCI NA NIEWIELKIE ZMIANY ZGODNIE Z PODEJŚCIEM YOUDENA (16)

Porównanie przeciętnych (A)

$A_A = \Sigma(A_i)/4$	Porównać przeciętne dużych liter (AA do AG) z przeciętnymi odpowiadających im małych liter (Aa do Ag). Jeżeli czynnik ma wpływ, różnica będzie znacząco większa niż różnice dla pozostałych czynników.
$A_B = \Sigma(B_i)/4$	
$A_C = \Sigma(C_i)/4$	Na metodę odporną nie powinny mieć wpływu zmiany niemal na pewno występujące między laboratoriami.
$A_D = \Sigma(D_i)/4$	
$A_E = \Sigma(E_i)/4$	Jeżeli nie ma żadnej znacznej różnicy, najbardziej realistyczny pomiar błędu przypadkowego jest podany poprzez siedem różnic.
$A_F = \Sigma(F_i)/4$	
$A_G = \Sigma(G_i)/4$	
$A_a = \Sigma(a_i)/4$	
$A_b = \Sigma(b_i)/4$	
$A_c = \Sigma(c_i)/4$	
$A_d = \Sigma(d_i)/4$	
$A_e = \Sigma(e_i)/4$	
$A_f = \Sigma(f_i)/4$	
$A_g = \Sigma(g_i)/4$	

Różnice (D_i)

Kwadraty różnic (D_i^2)

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

$D_a^2 =$ wartość a
$D_b^2 =$ wartość b
$D_c^2 =$ wartość c
$D_d^2 =$ wartość d
$D_e^2 =$ wartość e
$D_f^2 =$ wartość f
$D_g^2 =$ wartość g

Odchylenie standardowe różnic D_i (S_{D_i}):

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

W przypadku gdy S_{D_i} jest znacząco większe od odchylenia standardowego metody wykonywanej w wewnątrzlaboratoryjnych warunkach odtwarzalności (zgodnie z: patrz wyżej), można z góry założyć, że wszystkie czynniki razem mają wpływ na wynik, nawet jeżeli oddzielnie każdy czynnik nie wykazuje istotnego wpływu, oraz że metoda nie jest wystarczająco odporna na wybrane zmiany.

3.4. PRZYKŁADY OBLICZEŃ DLA PROCEDURY ZATWIERDZENIA WEWNĘTRZNEGO

Przykłady i obliczenia dla Protokołu zatwierdzenia wewnętrznego opisanego przy zatwierdzeniu zgodnie z modelami alternatywnymi (ppkt 3.1.3) (13) (14).

3.5. PRZYKŁADY DLA METODY DODATKU WZORCA

Badaną próbkę z zawartością analitu T dzieli się na dwie badane części 1 i 2 o masie odpowiednio m_1 i m_2 . Do badanej części 2 dodaje się objętość V_A roztworu analitu o stężeniu ρ_A . Po ekstrakcji i oczyszczeniu otrzymuje się dwa ekstrakty badanych części o objętości odpowiednio V_1 i V_2 . Odzysk analitu powinien wynosić rc . Oba ekstrakty analizuje się metodą pomiaru o czułości b i otrzymuje odpowiedzi analityczne odpowiednio x_1 i x_2 .

Przy założeniu, że rc i b są takie same dla analitu w próbce pierwotnej i w próbce wzbogaconej, można obliczyć zawartość T jako:

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

Ta metoda umożliwia oznaczenie odzysku rc . Następnie, poza opisaną powyżej analizą, do części ekstraktu z badanej części 1 (objętość V_3) dodaje się znaną ilość $q_B \cdot V_B$ analitu i analizuje się. Odpowiedź analityczna to x_3 , a odzysk wynosi:

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

Ponadto możliwe jest obliczenie czułości b jako:

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

Opisano wszystkie warunki stosowania i szczegóły (18).

4. UŻYTE SKRÓTY

AAS	spektrometria absorpcyjna atomowa
AES	spektrometria emisyjna atomowa
AOAC-I	Międzynarodowe Stowarzyszenie Urzędowych Chemików Analitycznych
B	związana frakcja (analiza odporności)
CI	jonizacja chemiczna
CRM	certyfikowany materiał odniesienia
CV	współczynnik zmienności
2 D	dwuwymiarowy
DAD	wykrywanie diodowe
DPASV	woltoamperometria inwersyjna
ECD	wykrywanie wychwytu elektronów
EI	jonizacja elektronowa
GC	chromatografia gazowa
HPLC	wysokowydajna chromatografia cieczowa
HPTLC	wysokowydajna chromatografia cienkowarstwowa
HRMS	wysoka rozdzielczość (spektrometria masowa)
ICP-AES	plazma sprzężona indukcyjnie – spektrometria emisyjna atomowa
ICP-MS	plazma sprzężona indukcyjnie – spektrometria masowa
IR	podczerwień
ISO	Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna
LC	chromatografia cieczowa
LR(MS)	niska rozdzielczość (spektrometria masowa)
MRPL	minimalna wymagana wartość graniczna wydajności
MS	spektrometria masowa
m/z	stosunek masy do ładunku
RF	migracja względna do czoła rozpuszczalnika (TLC)
RSDL	względne odchylenia standardowe laboratorium
SIM	selektywne monitorowanie jonów
TLC	chromatografia cienkowarstwowa
UV	światło ultrafioletowe
VIS	światło widzialne

5. ODNIESIENIA

- (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.
- (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) Patrz np.: 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.
 - (19) Dyrektywa 71/354/EWG z dnia 18 października 1971 r. w sprawie zbliżenia ustawodawstw Państw Członkowskich odnoszących się do jednostek miar, Dz.U. L 243 z 29.10.1971, str. 29).
 - (20) ISO 31-0: 1992 Quantities and units – Part 0: General principles
-