

32002D0657

L 221/8

JURNALUL OFICIAL AL COMUNITĂȚILOR EUROPENE

17.8.2002

DECIZIA COMISIEI
din 14 august 2002
de stabilire a normelor de aplicare a Directivei 96/23/CE a Consiliului privind funcționarea metodelor de analiză și interpretarea rezultatelor

[notificată cu numărul C(2002) 3044]

(Text cu relevanță pentru SEE)

(2002/657/CE)

COMISIA COMUNITĂȚILOR EUROPENE,

având în vedere Tratatul de instituire a Comunității Europene,

având în vedere Directiva 96/23/CE a Consiliului din 29 aprilie 1996 privind măsurile de control care se aplică anumitor substanțe și reziduurilor acestora existente în animalele vii și în produsele obținute de la acestea și de abrogare a Directivelor 85/358/CEE și 86/469/CEE și a Deciziilor 89/187/CEE și 91/664/CEE ⁽¹⁾, în special articolul 15 alineatul (1) teza 2,

întrucât:

- (1) Prezența reziduurilor în produsele de origine animală este o problemă de sănătate publică.
- (2) Decizia 98/179/CE a Comisiei din 23 februarie 1998 de stabilire a normelor privind prelevarea oficială de probe în vederea monitorizării anumitor substanțe și a reziduurilor acestora din animalele vii și produsele animale ⁽²⁾ prevede că analiza probelor prelevate în cadrul controlului oficial trebuie realizată exclusiv de laboratoare desemnate de autoritatea națională competentă pentru detectarea reziduurilor.
- (3) Este necesar să se asigure calitatea și comparabilitatea rezultatelor analizei generate de către laboratoarele desemnate pentru controlul oficial al reziduurilor. Acest obiectiv trebuie să fie atins folosind sisteme de asigurare a calității și, în special, aplicând metode validate în conformitate cu proceduri și criterii comune de funcționare și asigurând trasabilitatea standardelor comune sau stabilite de comun acord.
- (4) Directiva 93/99/CEE a Consiliului din 29 octombrie 1993 privind măsuri suplimentare cu privire la controlul oficial

al alimentelor ⁽³⁾ și Decizia 98/179/CE cer ca, de la data de 1 ianuarie 2002, laboratoarele care răspund de controlul oficial să fie acreditate în conformitate cu standardul ISO 17025 (1). În conformitate cu Decizia 98/179/CE, laboratoarele desemnate sunt obligate să participe la un sistem extern, recunoscut internațional, de evaluare și acreditare a controlului calității. De asemenea, laboratoarele trebuie să își probeze competența prin participarea cu regularitate și cu succes la programe corespunzătoare de teste de aptitudini recunoscute sau organizate de laboratoarele de referință naționale sau comunitare.

- (5) Pentru a ameliora coordonarea, este operațională o rețea de laboratoare comunitare de referință, de laboratoare naționale de referință și de laboratoare naționale de control, în temeiul Directivei 96/23/CE.
- (6) Ca rezultat al progreselor realizate în chimia analitică de la adoptarea Directivei 96/23/CE, conceptul de metode de rutină și metode de referință a fost înlocuit de o abordare bazată pe criterii, care definește criteriile de funcționare și procedurile de validare a metodelor de depistare și de confirmare.
- (7) Este necesar să fie definite criterii comune de interpretare a rezultatelor testelor laboratoarelor de control oficial pentru a garanta o punere în aplicare armonizată a Directivei 96/23/CE.
- (8) Este necesar să se prevadă punerea progresivă în aplicare a limitelor de funcționare minime cerute (MRPL) ale metodei de analiză în cazul substanțelor pentru care nu a fost stabilită nici o limită autorizată și, în special, pentru substanțele a căror utilizare nu este autorizată sau este interzisă în mod explicit în Comunitate, pentru a asigura astfel punerea în aplicare armonizată a Directivei 96/23/CE.

⁽¹⁾ JO L 125, 23.5.1996, p. 10.

⁽²⁾ JO L 65, 5.3.1998, p. 31.

⁽³⁾ JO L 290, 24.11.1993, p. 14.

- (9) Decizia 90/515/CEE a Comisiei din 26 septembrie 1990 de stabilire a metodelor de referință pentru căutarea reziduurilor de metale grele și arseniu ⁽¹⁾, Decizia 93/256/CEE a Comisiei din 14 aprilie 1993 privind metodele utilizate în vederea detectării reziduurilor de substanțe cu efect hormonal și de substanțe cu efect tireostatic ⁽²⁾ și Decizia 93/257/CEE a Comisiei din 15 aprilie 1993 de stabilire a metodelor de referință și a listei laboratoarelor naționale de referință pentru depistarea reziduurilor ⁽³⁾, astfel cum a fost modificată ultima dată prin Decizia 98/536/CE ⁽⁴⁾, au fost reexamineate ținând seama de evoluția cunoștințelor științifice și tehnice și au fost considerate depășite la nivelul sferei de aplicare și al conținutului și este, prin urmare, necesar să fie abrogate de prezenta decizie.
- (10) Pentru a permite adaptarea metodelor de analiză a probelor oficiale la dispozițiile prezentei decizii, trebuie prevăzută o perioadă de tranziție.
- (11) Măsurile prevăzute de prezenta decizie sunt conforme cu avizul Comitetului permanent pentru lanțul alimentar și sănătatea animală,

ADOPTĂ PREZENTA DECIZIE:

Articolul 1

Obiectul și domeniul de aplicare

Prezenta decizie stabilește normele care se aplică în cazul metodelor de analiză folosite la examinarea probelor oficiale prelevate în conformitate cu articolul 15 alineatul (1) a doua teză din Directiva 96/23/CE și definește criteriile comune pentru interpretarea rezultatelor laboratoarelor care răspund de controlul oficial al acestor probe.

Prezenta decizie nu se aplică substanțelor pentru care au fost definite norme mai specifice de legislația comunitară.

Articolul 2

Definiții

În sensul prezentei decizii, se aplică definițiile din Directiva 96/23/CE și anexa la aceasta.

Articolul 3

Metode de analiză

Statele membre iau măsuri pentru ca probele oficiale prelevate în conformitate cu Directiva 96/23/CE să se analizeze cu ajutorul unor metode care:

- (a) sunt documentate în instrucțiunile de test, de preferință în conformitate cu standardul ISO 78-2 (6);
- (b) sunt în conformitate cu partea 2 din anexa la prezenta decizie;
- (c) au fost validate în conformitate cu procedurile descrise de partea 3 din anexă;

⁽¹⁾ JO L 286, 18.10.1990, p. 33.

⁽²⁾ JO L 118, 14.5.1993, p. 64.

⁽³⁾ JO L 118, 14.5.1993, p. 75.

⁽⁴⁾ JO L 251, 11.9.1998, p. 39.

- (d) sunt în conformitate cu limitele de funcționare minime cerute (MRPL) relevante, care trebuie stabilite în conformitate cu articolul 4.

Articolul 4

Limitele de funcționare minime cerute

Prezenta decizie se reexaminează în vederea stabilirii progresive a limitelor de funcționare minime cerute (MRPL) care se aplică metodelor de analiză care trebuie utilizate în cazul substanțelor pentru care nu a fost definită nici o limită autorizată.

Articolul 5

Controlul calității

Statele membre asigură calitatea rezultatelor analizei probelor prelevate în conformitate cu Directiva 96/23/CE, în special prin testele de control și/sau rezultatele de etalonare în conformitate cu capitolul 5.9 din standardul ISO 17025 (1).

Articolul 6

Interpretarea rezultatelor

(1) Rezultatul unei analize este considerat neconform în cazul în care este depășită limita de decizie a metodei de confirmare pentru analitul în cauză.

(2) În cazul în care a fost stabilită limita autorizată pentru o substanță, limita de decizie este concentrația de la care este posibil să se decidă cu o certitudine statistică de $1 - \alpha$ că a fost într-adevăr depășită limita autorizată.

(3) În cazul în care nu a fost stabilită nici o limită autorizată pentru o substanță, limita de decizie este cel mai scăzut nivel de concentrație la care o metodă poate discrimina cu certitudinea statistică de $1 - \alpha$ dacă analitul în cauză este prezent.

(4) Pentru substanțele enumerate de grupa A din anexa I la Directiva 96/23/CE, eroarea α este egală cu sau mai mică decât 1 %. Pentru toate celelalte substanțe, eroarea α este egală cu sau mai mică decât 5 %.

Articolul 7

Abrogare

Deciziile 90/515/CEE, 93/256/CEE și 93/257/CEE se abrogă.

Articolul 8

Dispoziții tranzitorii

Metodele de analiză a probelor oficiale ale substanțelor enumerate de grupa A din anexa I la Directiva 96/23/CE care respectă criteriile definite de Deciziile 90/515/CEE, 93/256/CEE și 93/257/CEE pot fi utilizate timp de maximum doi ani după intrarea în vigoare a prezentei decizii. Metodele aplicate în prezent substanțelor enumerate de grupa B din anexa I la directivă trebuie să devină conforme cu prezenta decizie în termen de cel mult cinci ani de la data aplicării prezentei decizii.

*Articolul 9***Data aplicării**

Prezenta decizie se aplică de la data de 1 septembrie 2002.

*Articolul 10***Destinatari**

Prezenta decizie se adresează statelor membre.

Adoptată la Bruxelles, 14 august 2002.

Pentru Comisie

David BYRNE

Membru al Comisiei

ANEXĂ

CRITERII DE FUNCȚIONARE, ALTE CERINȚE ȘI PROCEDURI CARE SE APLICĂ METODELOR DE ANALIZĂ

1. DEFINIȚII

- 1.1. Exactitate: gradul de apropiere între rezultatul testului și valoarea de referință acceptată (2). Se determină în funcție de precizie și fidelitate.
- 1.2. Eroarea alpha (α): probabilitatea ca proba testată să fie conformă chiar în cazul în care s-a obținut o măsurătoare neconformă („decizie întemeiată pe un fals rezultat neconform”).
- 1.3. Analit: substanța care trebuie detectată, identificată și/sau cuantificată și derivatele care apar în cursul analizei.
- 1.4. Eroare beta (β): probabilitatea ca proba testată să fie într-adevăr neconformă, chiar în cazul în care s-a obținut o măsurătoare conformă („decizie întemeiată pe un fals rezultat conform”).
- 1.5. Eroare sistematică: diferența între speranța matematică a rezultatelor testului și valoarea de referință acceptată (2).
- 1.6. Etalon: dispozitiv de măsură care reprezintă cantitatea de substanță în cauză într-un mod care leagă valoarea acesteia de o bază de referință.
- 1.7. Material de referință certificat (CRM): material căruia i-a fost atribuit un conținut specificat de analit.
- 1.8. Co-cromatografie: metodă în care se împarte în două fracții extractul supus testării înainte de etapa sau etapele cromatografice. O fracție este analizată cromatografic ca atare. A doua fracție este amestecată cu analitul etalon care urmează să fie măsurat. Acest amestec este apoi analizat cromatografic. Cantitatea de analit etalon adăugată trebuie să fie apropiată de cantitatea de analit estimată în extract. Această metodă este destinată să amelioreze identificarea unui analit prin metode cromatografice, în special în cazul în care este imposibil să se utilizeze un etalon intern corespunzător.
- 1.9. Studiu în colaborare: analiza aceleiași probe cu aceeași metodă, în scopul determinării caracteristicilor de funcționare a metodei. Studiul acoperă eroarea aleatorie de măsurare și eroarea sistematică de laborator.
- 1.10. Metodă de confirmare: metode care furnizează informații complete sau complementare care permit identificarea univocă a substanței și, după caz, cuantificarea acesteia la nivelul considerat.
- 1.11. Limita de decizie (CC α): limita la care și de la care este permis să se concluzioneze cu probabilitatea de eroare α că o probă nu este conformă.
- 1.12. Capacitatea de detecție (CC β): cel mai mic conținut de substanță care poate fi detectat, identificat și/sau cuantificat într-o probă, cu probabilitatea de eroare β . În cazul substanțelor pentru care nu a fost stabilită nici o limită autorizată, capacitatea de detecție este concentrația minimă la care o metodă poate detecta probe într-adevăr contaminate, cu certitudinea statistică de $1 - \beta$. În cazul substanțelor pentru care s-a stabilit o limită autorizată, capacitatea de detecție este concentrația la care metoda poate detecta concentrații la limita autorizată cu o certitudine statistică de $1 - \beta$.
- 1.13. Material de probă îmbogățit: probă la care se adaugă o cantitate cunoscută din analitul care urmează să fie detectat.
- 1.14. Studiu (comparație) interlaboratoare: organizarea, realizarea și evaluarea testelor pe aceeași probă de către două sau mai multe laboratoare, în condiții prestabilite, cu scopul de a determina modul de funcționare a testării. În funcție de obiectiv, studiul este considerat studiu în colaborare sau test de aptitudini.
- 1.15. Etalon intern: substanță neconținută în probă, având proprietăți fizico-chimice cât mai apropiate posibil de cele ale analitului de identificat, care se adaugă fiecărei probe și fiecărui etalon.
- 1.16. Probă de laborator: probă preparată în vederea expedierii către laborator și destinată examinării sau analizei.
- 1.17. Nivel considerat: concentrația substanței sau a analitului într-o probă care este semnificativă pentru determinarea conformității acestuia cu legislația.
- 1.18. Limita de funcționare minimă cerută (MRPL): conținutul minim de analit într-o probă care trebuie cel puțin detectat și confirmat. Este destinată armonizării capacităților analitice ale metodelor care se aplică substanțelor în cazul cărora nu a fost stabilită nici o limită autorizată.

- 1.19. Caracteristica de funcționare: calitate funcțională care poate fi atribuită unei metode de analiză. Aceasta poate fi, de exemplu, specificitatea, exactitatea, precizia, fidelitatea, repetabilitatea, reproductibilitatea, recuperarea, capacitatea de detecție și robustețea.
- 1.20. Criteriu de funcționare: cerințe în materie de caracteristici de funcționare, față de care este posibil să se aprecieze că o metodă de analiză este adecvată scopului urmărit și dă rezultate fiabile.
- 1.21. Limită autorizată: limita maximă a reziduurilor, conținut maxim sau altă toleranță maximă aplicabilă substanțelor și stabilită în alte texte ale legislației comunitare.
- 1.22. Fidelitate: gradul de apropiere dintre rezultatele unor teste independente obținute în condiții stabilite (predeterminate). Măsura fidelității este de obicei exprimată în termeni de non-fidelitate și este calculată plecând de la deviația standard a rezultatelor. Cu cât deviația standard este mai mare, cu atât fidelitatea este mai mică (2).
- 1.23. Test de aptitudini: analiza aceleiași probe, ceea ce permite laboratoarelor să își aleagă propriile metode, cu condiția ca acestea să fie utilizate în condiții de rutină. Testul trebuie realizat în conformitate cu ghidurile ISO 43-1 (3) și 43-2 (4) și poate fi utilizat la evaluarea reproductibilității metodelor.
- 1.24. Metodă calitativă: metodă de analiză care identifică o substanță pe baza proprietăților chimice, biologice sau fizice.
- 1.25. Metodă cantitativă: metodă de analiză care determină cantitatea sau fracția masică a unei substanțe astfel încât să poată fi exprimată ca valoare numerică, în unități corespunzătoare.
- 1.26. Test blanc de reactiv: procedeul complet de analiză aplicat în absența fracției de analizat sau folosind o cantitate echivalentă de solvent corespunzător în locul fracției de analizat.
- 1.27. Recuperare: procentul din concentrația reală a unei substanțe recuperate pe parcursul procedurii analitice. Aceasta se determină pe parcursul validării, în absența unui material de referință certificat.
- 1.28. Material de referință: material având una sau mai multe proprietăți confirmate printr-o metodă validată, care poate fi prin urmare utilizat la etalonarea unui aparat sau verificarea unei metode de măsurare.
- 1.29. Repetabilitate: fidelitate în condiții de repetabilitate (2).
- 1.30. Condiții de repetabilitate: condiții în care rezultatele unor teste independente sunt obținute prin aceeași metodă pe preparate de testare identice, în același laborator, de către același operator, folosind același echipament (2).
- 1.31. Reproductibilitate: fidelitate în condiții de reproductibilitate (2) (4).
- 1.32. Condiții de reproductibilitate: condiții în care rezultatele testelor sunt obținute prin aceeași metodă pe preparate de testare identice în laboratoare diferite, de către operatori diferiți și folosind echipamente diferite (2) (4).
- 1.33. Robustețe: sensibilitatea unei metode de analiză la variații ale condițiilor experimentale, care se pot exprima ca listă de probe, de analiți, de condiții de depozitare, de condiții de mediu și/sau de preparare a probei pentru care metoda poate fi aplicată ca atare sau cu anumite modificări minore. Pentru toate condițiile experimentale care, în practică, sunt supuse unor variații (de exemplu, stabilitatea reactivilor, compoziția probei, pH, temperatura) se indică toate variațiile care pot influența rezultatul analizei.
- 1.34. Test blanc de probă: procedeul complet de analiză aplicat unei fracții de analizat prelevată dintr-o probă care nu conține analitul.
- 1.35. Metodă de depistare: metodă care servește la detectarea prezenței unei substanțe sau unei clase de substanțe la nivelul considerat. Aceste metode prezintă o mare capacitate de tratare a probelor și sunt aplicate pentru a tria un număr mare de probe în vederea detectării potențialelor rezultate neconforme. Ele sunt concepute în special pentru a evita falsele rezultate conforme.
- 1.36. Studiu monolaborator (validare internă): studiu analitic cu implicarea unui singur laborator, care utilizează o singură metodă la analiza unor materiale de testare identice sau diferite, în condiții diferite, în intervale de timp justificat de lungi.
- 1.37. Specificitate: capacitatea unei metode de a discrimina între analitul măsurat și alte substanțe. Această caracteristică este în principal o funcție a tehnicii de măsurare descrise, dar poate varia în funcție de clasa compusului sau de matrice.

- 1.38. **Adaos etalonat:** metodă prin care proba de testare este împărțită în două fracții de analizat (sau mai multe). O fracție este analizată ca atare, iar celorlalte fracții li se adaugă, înainte de a fi analizate, cantități cunoscute de analit etalon. Cantitatea de analit etalon adăugată trebuie să se situeze între de două și de cinci ori cantitatea de analit estimată în probă. Această metodă permite determinarea conținutului unui analit în probă ținând seama de recuperarea proprie procedurii de analiză respectiv.
- 1.39. **Analit etalon:** analit de conținut și puritate cunoscute și certificate, care servește drept referință pe parcursul analizei.
- 1.40. **Substanță:** materie cu o structură chimică specială sau definită și metabolizată acesteia.
- 1.41. **Fracția de analizat:** cantitatea de material prelevată din proba de testare, care face efectiv obiectul analizei sau al examinării.
- 1.42. **Probă de testare:** probă preparată pornind de la proba de laborator și din care trebuie prelevate fracțiile de analizat.
- 1.43. **Precizie:** gradul de apropiere între valoarea medie obținută plecând de la o serie vastă de rezultate ale testelor și o valoare de referință acceptată. Precizia este în general exprimată în termeni de eroare sistematică (2).
- 1.44. **Unități:** unități descrise de ISO 31 (20) și de Directiva 71/354/CEE (19).
- 1.45. **Validare:** confirmarea prin examen și furnizarea de probe concrete că sunt îndeplinite cerințele specifice pentru o utilizare specifică dată (1).
- 1.46. **Reproductibilitate intralaborator:** fidelitate obținută în același laborator în condiții stabilite (predeterminate) (privind, de exemplu, metoda, materialele de testare, operatorii, condițiile ambiante) pentru intervale de timp justificat de lungi.

2. CRITERIILE DE FUNCȚIONARE ȘI ALTE CERINȚE APLICABILE METODELOR DE ANALIZĂ

Metodele sau combinațiile de metode de analiză, altele decât cele descrise în continuare, nu pot fi utilizate pentru descoperire sau confirmare decât în cazul în care se poate stabili că îndeplinesc cerințele relevante definite de prezenta decizie.

2.1. CERINȚE GENERALE

2.1.1. Manipularea probelor

Probele trebuie obținute, manipulate și tratate astfel încât posibilitățile de detectare a substanței să fie maxime. Metodele de manipulare a probelor trebuie să împiedice contaminarea sau pierderea accidentală de analiți.

2.1.2. Realizarea testelor

2.1.2.1. Recuperare

Pe parcursul analizei probelor, este necesar ca recuperarea să fie determinată pentru fiecare lot de probe, în cazul în care se utilizează un factor de corecție de recuperare fix. În cazul în care recuperarea este în limite, poate fi utilizat factorul de corecție stabilit. În caz contrar, este necesar să fie utilizat factorul de recuperare obținut pentru lotul respectiv, cu excepția cazului în care se aplică factorul de recuperare specific al analitului în probă, caz în care este necesar să se utilizeze metoda adaosurilor etalonate (punctul 3.5) sau un etalon intern pentru determinarea cantitativă a unui analit într-o probă.

2.1.2.2. Specificitate

O metodă trebuie să aibă capacitatea de a discrimina între analit și alte substanțe în condițiile experimentale. Trebuie prezentată o estimare a acestei capacități. Este necesar să se aplice strategii pentru a evita orice interferență previzibilă cu alte substanțe în cazul în care se utilizează tehnica de măsurare (de exemplu omologi, analogi, metabolizii ai rezidului în cauză). Este foarte important să fie analizată orice interferență care ar putea fi provocată de elementele componente ale matricei.

2.2. METODELE DE DEPISTARE

În conformitate cu Directiva 96/23/CE, în scopul depistării se aplică numai acele tehnici de analiză pentru care se poate demonstra, pe baza unor probe identificabile, că sunt validate și au un procent de false rezultate conforme mai mic de 5 % (eroare β) la nivelul considerat. În cazul unui rezultat neconform suspect, acesta trebuie confirmat printr-o metodă de confirmare.

2.3. METODELE DE CONFIRMARE PENTRU REZIDUURILE ORGANICE ȘI CONTAMINANȚI

Metodele de confirmare pentru reziduurile organice și contaminanți furnizează indicații privind structura chimică a analitului. În consecință, metodele bazate exclusiv pe analiza cromatografică fără utilizarea detecției spectrometrice nu sunt suficiente ca metode de confirmare. Cu toate acestea, în cazul în care o tehnică dată nu prezintă specificitate suficientă, specificitatea cerută trebuie obținută cu ajutorul procedurilor de analiză constând în combinații corespunzătoare de purificare, separare (separări) cromatografică(e) și detecție spectrometrică.

Metodele sau combinațiile de metode menționate în continuare sunt considerate corespunzătoare pentru identificarea reziduurilor organice sau a contaminanților pentru grupele de substanțe menționate.

Tabelul 1

Metodele de confirmare corespunzătoare pentru reziduurile organice și contaminanți

Tehnica de măsurare	Substanța în anexa 1 96/23/CE	Restricții
LC sau GC cu spectrometrie de masă	Grupele A și B	Numai în urma unei separări cromatografice în flux sau autonome Numai în cazul în care se utilizează tehnici cu baleiaj complet sau folosind cel puțin 3 (grupa B) sau 4 (grupa A) puncte de identificare pentru metodele care nu înregistrează spectre de masă complete
LC sau GC cu detecție spectrometrică IR	Grupele A și B	Trebuie îndeplinite cerințele specifice pentru absorbția în spectrometrie IR
Cromatografie în fază lichidă cu baleiaj complet (DAD)	Grupa B	Trebuie îndeplinite cerințele specifice pentru absorbția în spectrometrie UV
Fluorescență LC	Grupa B	Numai pentru moleculele având fluorescență naturală și moleculele care prezintă fluorescență după transformare sau derivatizare
Cromatografie în strat subțire 2-D cu baleiaj complet UV/VIS	Grupa B	Sunt obligatorii HPTLC bidimensională și co-cromatografia
Cromatografie în stare gazoasă-detecție cu captură de electroni	Grupa B	Numai în cazul în care se utilizează două coloane cu polarități diferite
Imunogramă LC	Grupa B	Numai în cazul în care se utilizează cel puțin două sisteme cromatografice diferite sau o a doua metodă de detecție, independentă
LC-UV/VIS (unică lungime de undă)	Grupa B	Numai în cazul în care se utilizează cel puțin două sisteme cromatografice diferite sau o a doua metodă de detecție, independentă.

2.3.1. Criteriile de funcționare și cerințele comune

Metodele de confirmare furnizează indicații asupra structurii chimice a analitului. În cazul în care mai multe elemente componente dau același răspuns, metoda nu permite stabilirea unei distincții între acestea. Metodele bazate numai pe analiza cromatografică, fără să prevadă utilizarea detecției spectrometrice, nu sunt suficiente ca metode de confirmare.

În cazul în care este folosit în metodă, se adaugă un etalon intern adecvat fracției de analizat la începutul extracției. În funcție de disponibilități, se pot folosi fie forme de analit marcate cu un izotop stabil, recomandate în special pentru detecția prin spectroscopie de masă, fie compuși structurali înrudiți cu analitul.

În cazul în care nu este posibil să se folosească un etalon intern corespunzător, identificarea analitului se confirmă prin co-cromatografie. În acest caz se obține un singur pic, creșterea înălțimii sau a suprafeței intensificate a picului echivalând cu cantitatea de analit adăugată. La cromatografia în fază gazoasă (GC) sau în fază lichidă (LC), lărgimea picului la jumătate din înălțimea maximă trebuie să se situeze între 90 % și 110 % din lărgimea inițială, iar timpii de retenție trebuie să fie identici, cu o marjă de 5 %. În ceea ce privește metodele de cromatografie în strat subțire (TLC), se intensifică numai spotul prezumat a fi al analitului; nu apar spoturi suplimentare și aspectul acestuia nu se modifică.

Materialul de referință sau îmbogățit, conținând cantități cunoscute de analit la nivelul sau la un nivel apropiat de limita autorizată ori de limita de decizie (probă de control neconformă), ca și materialele de control conforme și blancurile de reactivi, se analizează de preferință odată cu fiecare lot de probe analizat, aplicând procedeul complet. Injectarea extractelor în instrumentul de analiză se efectuează în ordinea următoare: blanc de reactiv, probă de control conformă, probă (probe) de confirmat, o nouă probă de control conformă și, în final, probă de control neconformă. Orice altă ordine trebuie justificată.

2.3.2. Criteriile de funcționare și cerințele suplimentare aplicabile metodelor de analiză cantitativă

2.3.2.1. Precizia metodelor cantitative

În cazul analizelor repetate pe un material de referință certificat, deviația fracției masice medii, corectate cu recuperarea determinată experimental, de la valoarea certificată se situează între următoarele limite:

Tabelul 2

Precizia minimă a metodelor cantitative

Fracție masică	Plajă de valori
≤ 1 µg/kg	- 50 % până la + 20 %
> 1 µg/kg până la 10 µg/kg	- 30 % până la + 10 %
≥ 10 µg/kg	- 20 % până la + 10 %

În cazul în care nici un material de referință certificat de acest tip nu este disponibil, se poate admite ca precizia măsurărilor să fie evaluată prin recuperarea adaosurilor în cantități cunoscute de analit sau de analiți la un blanc de matrice. Datele corectate cu recuperarea medie nu sunt admisibile decât în cazul în care se situează în intervalele menționate de tabelul 2.

2.3.2.2. Fidelitatea metodelor cantitative

Coeficientul de variație (CV) interlaboratoare pentru analiza repetată a unui material de referință sau îmbogățit în condiții de reproductibilitate nu trebuie să depășească nivelul calculat în continuare cu ecuația lui Horwitz:

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

în care C reprezintă fracția masică exprimată ca putere (exponent) a lui 10 (de exemplu, 1 mg/g = 10⁻³). În tabelul 3 se menționează exemple.

Tabelul 3

Exemple de reproductibilitate a CV pentru metodele cantitative într-o plajă de fracții masice ale analitului

Fracție masică	Reproductibilitatea CV (%)
1 µg/kg	(*)
10 µg/kg	(*)
100 µg/kg	23
1 000 µg/kg (1 mg/kg)	16

(*) Pentru fracțiile masice mai mici de 100 µg/kg, aplicarea ecuației lui Horwitz dă valori ridicate inadmisibile. În consecință, CV pentru concentrațiile mai mici de 100 µg/kg trebuie să fie cât mai coborâte posibil.

Pentru analizele efectuate în condiții de repetabilitate, CV intralaborator se situează în general între jumătate și două treimi din valorile menționate anterior. Pentru analizele efectuate în condiții de reproductibilitate intralaborator, CV intralaborator nu trebuie să depășească CV de reproductibilitate.

În cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită autorizată, este necesar ca metoda să atingă o reproductibilitate intralaborator nu mai mare decât valoarea CV de reproductibilitate corespunzătoare unei concentrații de 0,5 × limita autorizată.

2.3.3. Criteriile de funcționare și alte cerințe aplicabile la detecția prin spectrometrie de masă

Metodele de spectrometrie de masă pot fi considerate drept metode de confirmare numai după o separație cromatografică în linie sau autonomă.

2.3.3.1. Separația cromatografică

Pentru procedeele GC-MS, separația cromatografică în fază gazoasă se efectuează cu ajutorul coloanelor capilare. Pentru procedeele LC-MS, separația cromatografică se efectuează cu ajutorul unor coloane LC adaptate. În toate cazurile, timpul de retenție minim admisibil pentru analitul studiat este de două ori timpul de retenție corespunzător volumului coloanei fără umplutură. Timpul de retenție (sau timpul de retenție relativ) al analitului în fracția analizată corespunde timpului de retenție al etalonului într-o fereastră dată de timp de retenție. Fereastra de timp de retenție este proporțională cu puterea de rezoluție a sistemului cromatografic. Raportul dintre timpul de retenție cromatografică al analitului și cel al etalonului intern, adică timpul de retenție relativ al analitului, trebuie să corespundă celui al soluției de etalonare cu o toleranță de $\pm 0,5\%$ pentru GC și de $\pm 2,5\%$ pentru LC.

2.3.3.2. Detecția prin spectrometrie de masă

Detecția prin spectrometrie de masă se efectuează cu ajutorul tehnicilor MS, cum sunt înregistrarea spectrelor de masă complete (baleiaj complet sau full scan) sau monitorizarea ionilor selecționați (Selected Ion Monitoring, SIM), precum și al tehnicilor MS-MSⁿ, cum sunt monitorizarea reacțiilor selecționate (Selected Reaction Monitoring, SRM) sau alte tehnici MS sau MS-MSⁿ adaptate, asociate cu modulele de ionizare corespunzătoare. În spectrometria de masă de înaltă rezoluție (HRMS), rezoluția caracteristică trebuie să fie mai mare de 10 000 pentru toată plaja maselor, cu o valoare de 10 %.

Baleiaj complet (full scan): în cazul în care determinarea prin spectrometrie de masă se efectuează înregistrând spectre complete, este obligatorie prezența tuturor ionilor de diagnostic măsurați (ioni moleculari, aducți caracteristici ionului molecular, ioni fragmentați caracteristici și ioni izotopi), cu o intensitate relativă mai mare de 10 % în spectrul de referință al etalonului.

SIM: în cazul în care determinarea prin spectrometrie de masă este efectuată prin fragmentografie, ionul molecular este de preferință unul din ionii de diagnostic selecționați (ioni moleculari, aducți caracteristici ionului molecular, ioni fragmentați caracteristici și toți ionii izotopi ai acestora). Ionii de diagnostic nu trebuie să provină în exclusivitate din aceeași parte a moleculei. Raportul semnal-zgomot pentru fiecare ion diagnostic este $\geq 3:1$.

Baleiaj complet și SIM: intensitățile relative ale ionilor detectați, exprimate în procente din intensitatea ionului celui mai intens sau din tranziția cea mai intensă, trebuie să corespundă intensităților etalonului, fie din soluțiile etalon, fie din probe îmbogățite, la concentrații comparabile, măsurate în aceleași condiții, în limitele următoarelor toleranțe:

Tabelul 4

Toleranțele maxime admisibile pentru intensitățile ionice relative în diferite tehnici de spectrometrie de masă

Intensitatea relativă (% din picul de bază)	EI-GC-MS (relativ)	CI-GC-MS, GC-MS ⁿ LC-MS, LC-MS ⁿ (relative)
> 50 %	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
> 20 % până la 50 %	$\pm 15\%$	$\pm 25\%$
> 10 % până la 20 %	$\pm 20\%$	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$

Interpretarea datelor spectrelor de masă: intensitățile relative ale ionilor de diagnostic și/sau ale perechilor de ioni precursori/produși se identifică prin compararea spectrelor sau prin integrarea semnalelor fiecărei urme de masă izolate. În cazul în care se aplică o corecție de fundal, aceasta este uniformă pe tot lotul (a se vedea punctul 2.3.1, paragraful 4) și este indicată explicit.

Baleiaj complet: în cazul în care sunt înregistrate în MS simplă spectre complete, un minim de patru ioni trebuie să fie prezenți la intensitate relativă $\geq 10\%$ din picul de bază. Ionul molecular trebuie inclus, în cazul în care este prezent în spectrul de referință cu o intensitate relativă $\geq 10\%$. Cel puțin patru ioni trebuie să se situeze în toleranțele maxime admisibile pentru intensitățile ionice relative (tabelul 5). Poate fi folosită căutarea bibliografică asistată de computer. În acest caz, comparația datelor spectrale ale probelor de testare cu acelea ale soluțiilor de etalonare trebuie să depășească un factor de corespondență critic. Acest factor se determină în cursul procedurii de validare pentru fiecare analit, pe baza spectrelor pentru care sunt îndeplinite criteriile de mai jos. Se verifică variabilitatea spectrelor induse de matrice și funcționarea detectorului.

SIM: în cazul în care sunt măsurate fragmente de masă cu ajutorul unor tehnici, altele decât baleiajul complet, se folosește un sistem de puncte de identificare pentru interpretarea datelor. Pentru confirmarea substanțelor enumerate de grupa A din anexa I la Directiva 96/23/CE, sunt necesare minimum 4 puncte. Pentru confirmarea substanțelor enumerate de grupa B din anexa I la Directiva 96/23/CE, sunt necesare minimum 3 puncte de identificare. Următorul tabel indică numărul de puncte de identificare care poate fi obținut prin fiecare din tehnicile de bază din spectrometria de masă. Cu toate acestea, pentru a îndeplini condițiile privind punctele de identificare necesare pentru confirmare și pentru efectuarea sumei punctelor de identificare:

- (a) se măsoară cel puțin un raport ionic și
- (b) toate rapoartele ionice relevante măsurate trebuie să respecte criteriile descrise anterior;
- (c) pot fi combinate maximum trei tehnici distincte pentru a obține numărul minim de puncte de identificare.

Tabelul 5

Legătura între diferite clase de fragmente de masă și punctele de identificare obținute

Tehnica MS	Puncte de identificare obținute pe ion
Spectrometrie de masă cu rezoluție slabă (LR)	1,0
Precursor de ioni LR-MS ⁿ	1,0
Produce de tranziție LR-MS ⁿ	1,5
HRMS	2,0
Precursor de ioni HR-MS ⁿ	2,0
Produce de tranziție HR-MS ⁿ	2,5

Note

- (1) Fiecare ion nu poate fi numărat decât o dată.
- (2) GC-MS cu ionizare prin impact electronic este considerată o tehnică diferită de GC-MS cu ionizare chimică.
- (3) Pot fi utilizați mai mulți analiți pentru a mări numărul punctelor de identificare numai în cazul în care derivații prezintă tipuri diferite de reacții chimice.
- (4) Pentru substanțele enumerate de grupa A din anexa I la Directiva 96/23/CE, în cazul în care se folosește una din următoarele tehnici în procedeul de analiză: HPLC cuplată cu fotospectrometria cu șir de diode cu baleiaj complet (DAD); HPLC cuplată cu detecție prin fluorescență; HPLC cuplată cu o imunogramă; TLC bidimensională cuplată cu detecția spectrometrică, aceasta poate contribui cu maximum un singur punct de identificare, cu condiția să respecte criteriile relevante pentru aceste tehnici.
- (5) Produsele de tranziție cuprind și produsele din a doua și a treia generație.

Tabelul 6

Exemple de număr de puncte de identificare obținute prin diferite tehnici și combinații de tehnici (n = număr întreg)

Tehnică (tehnici)	Număr de ioni	Puncte de identificare
GC-MS (EI sau CI)	N	n
GC-MS (EI și CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
GC-MS (EI sau CI) 2 derivați	2 (derivat A) + 2 (derivat B)	4
LC-MS	N	n
GC-MS-MS	1 ion precursor și 2 din generația a doua	4
LC-MS-MS	1 ion precursor și 2 din generația a doua	4
GC-MS-MS	2 ioni precursori, fiecare cu un ion din generația a doua	5
LC-MS-MS	2 ioni precursori, fiecare cu un ion din generația a doua	5
LC-MS-MS-MS	1 ion precursor, un ion din generația a doua și un ion din generația a treia	5,5
HRMS	N	2n
GC-MS și LC-MS	2 + 2	4
GC-MS și HRMS	2 + 1	4

2.3.4. Criterii de funcționare și alte cerințe care se aplică în cromatografia cuplată cu detecție în infraroșu

Picuri adecvate: picurile adecvate sunt maxime de absorbție în spectrul infraroșu al unui etalon care îndeplinește condițiile menționate în continuare.

2.3.4.1. Detecție în infraroșu

Maximum de absorbție: trebuie să se situeze în plaja numerelor de undă de la 4 000 la 500 cm^{-1} .

Intensitate de absorbție: aceasta nu trebuie să fie mai mică de:

(a) o absorbție molară specifică de 40 în raport cu linia de bază a picului sau

(b) o absorbție relativă de 12,5 % din absorbția celui mai intens pic în zona 4 000-500 cm^{-1}

în cazul în care cele două sunt măsurate în raport cu absorbția nulă și la 5 % din absorbția picului celui mai intens în zona de 4 000-500 cm^{-1} atunci când cele două sunt măsurate în raport cu linia de bază a picului acestora.

Notă: Trebuie observat că, deși în teorie pot fi preferate picuri măsurate în conformitate cu litera (a), picurile prevăzute la litera (b) sunt mai ușor de determinat în practică.

Se determină numărul de picuri în spectrul infraroșu al analitului ale cărui frecvențe corespund unui pic adecvat în spectrul etalon, cu o marjă de $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

2.3.4.2. Interpretarea datelor spectrului infraroșu

Absorbția trebuie să fie prezentă în toate zonele spectrului analitului care corespund unui pic adecvat din spectrul de referință al etalonului. Se cer minim 6 picuri adecvate în spectrul infraroșu al etalonului. În cazul în care există mai puțin de 6 picuri adecvate (7), spectrul infraroșu în cauză nu se utilizează ca spectru de referință. „Rezultatul”, adică procentul de picuri adecvate constat în spectrul infraroșu al analitului, trebuie să fie de minim 50. În cazul în care nu există corespondență exactă cu un pic adecvat, regiunea corespunzătoare din spectrul analitului trebuie să corespundă prezenței unui pic de același nivel. Procedul se aplică numai picurilor de absorbție din spectrul probei având o intensitate de cel puțin trei ori înălțimea zgomotului de fond.

2.3.5. Criterii de funcționare și alte cerințe care se aplică în cazul determinării unui analit prin LC asociată cu alte tehnici de detecție

2.3.5.1. Separația cromatografică

Se folosește un etalon intern în cazul în care este disponibil materialul corespunzător. De preferință, este un etalon înrudit, cu timp de retenție apropiat de acela al analitului. Analitul trebuie să elueze în timpul de retenție caracteristic etalonului relevant în aceleași condiții experimentale. Timpul de retenție minim admisibil pentru un analit trebuie să fie de două ori timpul de retenție corespunzător volumului coloanei fără umplutură. Raportul între timpul de retenție al analitului și cel al etalonului intern, adică timpul de retenție relativ al analitului, trebuie să fie egal cu cel al etalonului în matricea corespunzătoare, cu o marjă de $\pm 2,5 \%$.

2.3.5.2. Detecția UV/VIS cu baleiaj complet

Trebuie îndeplinite criteriile de funcționare care se aplică metodelor LC.

Maximele de absorbție în spectru ale analitului trebuie să prezinte aceeași lungime de undă ca și etalonul, cu o marjă determinată de rezoluția sistemului de detecție. Pentru detecția cu șir de diode, această valoare se situează în mod obișnuit într-un interval de $\pm 2 \text{ nm}$. Pentru sectoarele celor două spectre a căror absorbanta relativă este egală cu sau mai mare decât 10 %, spectrul analitului peste 220 nm nu trebuie să aibă un aspect vizual diferit față de spectrul etalonului. Acest criteriu este îndeplinit în cazul în care, în primul rând, sunt prezente aceleași maxime și, în al doilea rând, în cazul în care diferența între cele două spectre nu este, în nici un punct observat, mai mare de 10 % din absorbanta caracteristică etalonului. În cazul în care se fac cercetări și comparații într-o bibliotecă, comparația datelor spectrale ale probelor de testare cu acelea ale soluției de etalonare trebuie să depășească un factor de corespondență critic. Acest factor se determină în cursul procedurii de validare pentru fiecare analit pe baza spectrelor pentru care sunt respectate criteriile menționate anterior. Se verifică variabilitatea spectrelor indusă de matrice și de funcționarea detectorului.

2.3.5.3. *Criterii de funcționare care se aplică detecției fluorimetrice*

Trebuie respectate criteriile de funcționare care se aplică metodelor LC.

Aceasta se aplică moleculelor cu fluorescență naturală și moleculelor care prezintă fluorescență după transformare sau derivatizare. Alegerea lungimilor de undă de excitație și de emisie în combinație cu condițiile cromatografice trebuie efectuată astfel încât să se reducă la minimum apariția componentelor interferenți în extractele din blăncuri.

Maxima picului celui mai apropiat în cromatogramă este distanțată de picul analitului la cel puțin o lărgime totală de pic măsurată la 10 % din înălțimea maximă a picului analitului.

2.3.5.4. *Criterii de funcționare care se aplică determinării unui analit prin imunogramă-LC*

Imunograma LC ca atare nu este potrivită ca metodă de confirmare.

Trebuie respectate criteriile de funcționare care se aplică metodelor LC.

Parametrii predefiniți de control al calității, de exemplu fixarea non-specifică sau fixarea relativă a probelor de control sau valoarea absorbției blăncului, se definesc în limitele obținute în cursul validării analizei.

Imunograma se compune din cinci fracții cel puțin.

Fiecare fracție este mai mică decât jumătate din lărgimea picului.

Fracția cu conținut maxim de analit trebuie să fie identică pentru proba suspectă, proba de control neconformă și etalon.

2.3.5.5. *Determinarea unui analit prin LC cu detecție UV/VIS (unică lungime de undă)*

LC cu detecție UV/VIS (unică lungime de undă) ca atare nu este potrivită ca metodă de confirmare.

Maxima picului celui mai apropiat în cromatogramă este distanțată de picul analitului la cel puțin o lărgime totală de pic măsurată la 10 % din înălțimea maximă a picului analitului.

2.3.6. **Criteriile de funcționare și alte cerințe care se aplică la determinarea unui analit prin 2-D TLC cuplată cu detecția spectrometrică UV/VIS cu baleiaj complet**

Sunt obligatorii HPTLC bidimensională și co-cromatografia.

Valorile RF ale analitului trebuie să corespundă valorilor RF ale etaloanelor, cu o marjă de $\pm 5\%$.

Aspectul analitului nu trebuie să se poată distinge de acela al etalonului.

Pentru spoturile de aceeași culoare, centrul celui mai apropiat spot trebuie să fie depărtat de centrul spotului de analit la o distanță egală cu cel puțin jumătate din suma diametrelor spoturilor.

Spectrul analitului nu trebuie să aibă un aspect vizual diferit de cel al analitului etalon, în conformitate cu descrierea detecției UV/VIS cu baleiaj complet.

În cazul în care se fac cercetări și comparații într-o bibliotecă, comparația datelor spectrale ale probelor de testare cu acelea ale soluției de etalonare trebuie să depășească un factor de corespondență critic. Acest factor se determină în cursul procedurii de validare pentru fiecare analit pe baza spectrelor pentru care sunt respectate criteriile menționate anterior. Se verifică variabilitatea spectrelor indusă de matrice și de funcționarea detectorului.

2.3.7. **Criteriile de funcționare și alte cerințe care se aplică la determinarea unui analit prin GC cu detecție prin captură de electroni**

Se utilizează un etalon intern în cazul în care este disponibil materialul corespunzător. De preferință, este o substanță înrudită, cu timp de retenție apropiat de cel al analitului. Analitul trebuie să elueze în timpul de retenție caracteristic etalonului corespondent, în aceleași condiții experimentale. Timpul de retenție minim admisibil pentru un analit trebuie să fie de două ori timpul de retenție corespunzător volumului coloanei fără umplutură. Raportul între timpul de retenție al analitului și cel al etalonului intern, adică timpul de retenție relativ al analitului, trebuie să fie egal cu cel al etalonului în matricea corespunzătoare, cu o marjă de $\pm 0,5\%$. Maxima picului celui mai apropiat în cromatogramă este distanțată de picul analitului la cel puțin o lărgime totală de pic măsurată la 10 % din înălțimea maximă a picului analitului. Se poate folosi o co-cromatogramă pentru a obține informații suplimentare.

2.4. METODE DE CONFIRMARE CARE SE APLICĂ ELEMENTELOR

Analizele de confirmare pentru elementele chimice se întemeiază pe conceptul de identificare univocă și de cuantificare exactă și precisă prin intermediul proprietăților fizico-chimice caracteristice ale elementului chimic considerat (de exemplu lungimea de undă a radiației emise sau absorbite, masa atomică) la nivelul considerat.

Se apreciază că următoarele metode sau combinații de metode sunt corespunzătoare pentru identificarea elementelor chimice:

Tabelul 7

Metode corespunzătoare de confirmare pentru elementele chimice

Tehnica	Parametru măsurat
Voltmetrie anodică de stripping cu impuls diferențial	Semnal electric
Spectrometrie de absorbție atomică	
Flacără	Lungime de undă de absorbție
Generare de hidruri	Lungime de undă de absorbție
Vapori la rece	Lungime de undă de absorbție
Atomizare electrotermică (cuptor de grafit)	Lungime de undă de absorbție
Spectrometrie de emisie atomică	
Plasmă cu cuplaj inductiv	Lungime de undă de emisie
Spectrometrie de masă	
Plasmă cu cuplaj inductiv	Raportul masă-sarcină

2.4.1. Criteriile comune de funcționare și alte cerințe care se aplică metodelor de confirmare

Materialul de referință sau cel îmbogățit, conținând cantități cunoscute de analit, un nivel apropiat sau la nivelul limitei maxime autorizate sau al limitei de decizie (probă controlată neconformă), precum și materialele de control conforme și blancurile de reactivi se analizează de preferință în același timp cu fiecare lot de probe de testare analizat, aplicând metoda completă. Se recomandă să se injecteze extractele în instrumentul de analiză în ordinea următoare: blanc de reactiv, probă de control conformă, probă de confirmat, altă probă de control conformă și, la sfârșit, probă de control neconformă. Orice altă ordine trebuie justificată.

Ca regulă generală, cea mai mare parte a tehnicilor de analiză impun digestia completă a matricei organice pentru a obține soluții înainte de determinarea analitului. Aceasta poate fi obținută cu ajutorul procedurilor de mineralizare cu microunde, care reduc la minimum riscul de pierdere și/sau contaminare a analiților în cauză. Se utilizează recipiente de teflon decontaminate de bună calitate. În cazul în care se utilizează alte metode de digestie umedă sau uscată, trebuie să existe probe identificabile care să permită excluderea posibilelor fenomene de pierdere sau contaminare. În locul digestiei, procedurile de separare (de exemplu, extracția) pot, în anumite condiții, să fie reținute pentru a separa analiții de elementele componente ale matricei și/sau pentru a concentra analiții cu scopul de a-i introduce în echipamentul de analiză.

În ceea ce privește etalonarea, fie externă, fie bazată pe metoda adaosului etalonat, este recomandabil să se ia măsuri pentru a nu depăși zona de acțiune stabilită pentru analiză. În cazul etalonării externe, este obligatoriu ca etaloanele să fie preparate într-o soluție a cărei compoziție să fie cât mai apropiată posibil de aceea a soluției probei. De asemenea, corecția de fond trebuie aplicată în cazul în care o impun condițiile de analiză specifică.

2.4.2. Criteriile de funcționare și alte cerințe suplimentare care se aplică metodelor cantitative

2.4.2.1. Precizia metodelor calitative

În cazul analizelor repetate pe un material de referință certificat pentru elemente chimice, deviația conținutului mediu determinat experimental de la valoarea certificată trebuie să se situeze în limita de $\pm 10\%$. În cazul în care nu este disponibil nici un CRM de acest tip, se poate admite ca precizia măsurătorilor să fie evaluată prin recuperarea adaosurilor de element în cantități cunoscute la probe necunoscute. Trebuie observat că, spre deosebire de analit, elementul adăugat nu este legat chimic în matricea reală și, prin urmare, rezultatele obținute prin această metodă au o validitate mai slabă decât rezultatele obținute la utilizarea CRM. Datele de recuperare sunt admisibile numai în cazul în care se situează în limita de $\pm 10\%$ din valoarea țintă.

2.4.2.2. *Fidelitatea metodelor cantitative*

În cazul unor analize repetate pe o probă, efectuate în condiții de reproductibilitate intralaborator, coeficientul de variație (CV) intralaborator al mediei nu trebuie să depășească următoarele valori:

Tabelul 8**CV pentru metodele cantitative într-o plajă de fracții masice ale elementului**

Fracția masică	CV (%)
≥ 10 µg/kg până la 100 µg/kg	20
> 100 µg/kg până la 1 000 µg/kg	15
≥ 1 000 µg/kg	10

2.4.3. **Cerințele specifice care se aplică în voltametria anodică de stripping cu impuls diferențial**

Distrugerea completă a materiilor organice în probe înainte de dozarea cu DPASV este de cea mai mare importanță. În voltamograme nu trebuie să fie vizibil nici un semnal larg rezultat din prezența materiilor organice. Nivelul picurilor în DPASV poate fi influențat de constituenții anorganici ai matricei. Prin urmare, cuantificarea trebuie efectuată prin metoda adaosurilor etalonate. Odată cu metoda se furnizează specimene de voltamograme tipice ale unei soluții etalon.

2.4.4. **Cerințele specifice aplicabile spectrometriei de absorbție atomică (AAS)**

Această tehnică este prin esență o tehnică monoelement și necesită în consecință optimizarea condițiilor experimentale în funcție de elementul cuantificat. În măsura posibilităților, rezultatele trebuie să facă obiectul unei verificări calitative și cantitative recurgând la alte linii de absorbție (în mod ideal, se selectează două linii de absorbție diferite). Etaloanele se prepară într-o matrice lichidă cât mai apropiată posibil de lichidul de măsurat (de exemplu, în termeni de concentrație de acid sau de compoziția agenților de modificare). Pentru a reduce la minimum valorile de blank, toți reactivii trebuie să fie de cea mai mare puritate posibilă. Pot fi discriminate diferite tipuri de AAS în funcție de metoda aleasă pentru vaporizarea și/sau atomizarea probei.

2.4.4.1. *Cerințele specifice care se aplică la AAS cu flacără*

Reglajele instrumentelor se optimizează pentru fiecare element. În special, este necesar să se controleze compoziția și debitele de gaz. Pentru a evita interferențele din cauza absorbției de fond, se utilizează un corector cu sursă continuă. În cazul matricelor necunoscute, se verifică dacă este necesară o corecție de fond.

2.4.4.2. *Cerințele specifice care se aplică la AAS cu cuptor de grafit*

Contaminarea prezentă în laborator influențează deseori precizia atunci când se lucrează la nivel de ultra-urme în cuptorul de grafit. Prin urmare, este necesar să se folosească reactivi de puritate ridicată, apă demineralizată și un material de plastic inert pentru manipularea probelor și a etaloanelor. Este necesar să se optimizeze reglajele instrumentelor pentru fiecare element. În special, se controlează condițiile de pretratare și de atomizare (temperatură, timp) și modificarea matricei.

Lucrul în condiții de atomizare izotermă [de exemplu, tub de grafit cu încălzire transversală cu platformă Lvov integrată (8)] reduce influența matricei în ceea ce privește atomizarea analitului. Modificarea matricei combinată cu corecția de fond Zeeman (9) permite cuantificarea prin intermediul curbei de etalonare bazate pe măsurătoarea soluțiilor etalon apoase.

2.4.5. **Cerințele specifice care se aplică spectrometriei de absorbție atomică cu generare de hidruri**

Compușii organici conținând elemente precum arsenic, bismut, germaniu, plumb, antimoniu, seleniu, staniu și telur pot fi foarte stabile și necesită descompunere prin oxidare pentru obținerea unor rezultate corecte în privința conținutului total de elemente. Prin urmare, se recomandă digestia prin microunde sau calcinarea la înaltă presiune în condiții puternic oxidante. Trebuie acordată cea mai mare grijă conversiei complete și reproductibile a elementelor în hidrurile respective.

Formarea hidrurii de arsenic într-o soluție de acid clorhidric cu NaBH₄ depinde de starea de oxidare a arsenului (As III: formare rapidă, As V: formare mai lentă). Pentru a evita o pierdere de sensibilitate la determinarea As V prin tehnica de injecție în flux, provocată de timpul scurt de reacție din acest sistem, As V trebuie să fie redus la As III după descompunerea prin oxidare. Iodura de potasiu/acidul ascorbic sau cisteina sunt adecvate în acest scop. Blancurile, soluțiile etalon și soluțiile de probă se tratează în același mod. Un sistem pe loturi permite determinarea a două tipuri de arsenic fără să influențeze precizia. Din cauza perioadei de formare mai lungi a hidrurii de As V, etalonarea se efectuează prin integrarea suprafețelor picurilor. Este necesar să se optimizeze reglajele instrumentelor. Este important ca fluxul de gaz care transferă hidrura la atomizor să fie controlat.

2.4.6. Cerințele specifice care se aplică spectrometriei de absorbție atomică în fază de vapori la rece

Vapori la rece se utilizează numai cu mercur. În cazul pierderilor de mercur elementar prin volatilizare și adsorbție este necesară o atenție deosebită pe tot parcursul analizei. Se evită atent contaminarea prin reactivi sau mediu.

În cazul compușilor organici conținând mercur este necesară o descompunere prin oxidare pentru obținerea unor rezultate corecte în privința conținutului total de mercur. Pentru descompunere este indicat să se folosească sisteme sigilate cu digestie prin microunde sau calcinare la înaltă presiune. Pentru curățarea echipamentului în contact cu mercurul este necesară o atenție specială.

Tehnica de injecție în flux oferă avantaje. Pentru limitele de decizie inferioare, se recomandă adsorbția mercurului elementar pe un adsorbant și/sau platină urmată de desorbție termică. Contactul adsorbantului sau al celulei cu umiditatea perturbă măsurarea mercurului și trebuie evitat.

2.4.7. Cerințele specifice care se aplică spectrometriei de emisie atomică cu plasmă cuplată inductiv (ICP-AES)

Spectrometria de emisie atomică cu plasmă cuplată inductiv (10) este o metodă multielement care permite măsurarea simultană a mai multor elemente. Pentru a folosi ICP-AES, probele trebuie digerate dinainte, pentru a descompune matricele organice. Se utilizează sisteme sigilate cu digestie prin microunde sau calcinare la presiune înaltă. Pentru ca analiza ICP-AES să fie eficace sunt esențiale etalonarea instrumentului și alegerea elementelor sau a lungimilor de undă. Pentru etalonarea instrumentului, în cazul curbelor de etalonare lineare, este de obicei necesar să se măsoare soluțiile de etalonare numai pentru patru concentrații, deoarece în general curbele de etalonare în ICP-AES sunt lineare pe patru până la șase ordine de mărime a concentrației. Etalonarea sistemului ICP-AES trebuie în mod normal să se efectueze cu un etalon multielement care trebuie preparat într-o soluție conținând aceeași concentrație de acid ca și soluția de măsurat. Pentru curba lineară trebuie verificate concentrațiile elementelor.

Alegerea lungimilor de undă pentru măsurarea emisie provenite de la analiți este adecvată pentru concentrațiile elementelor care urmează să fie determinate. În cazul în care concentrația unui analit iese din zona de acțiune a unei linii de emisie, se folosește altă linie de emisie. Linia de emisie cea mai sensibilă (fără interferențe) se alege prima, urmată de o linie mai puțin sensibilă. În cazul în care se lucrează la limita de detecție sau în proximitate, cea mai bună alegere este de obicei linia de emisie cea mai sensibilă pentru analitul corespondent. În ICP-AES, principalele dificultăți provin din interferențele spectrale sau de fond. Interferențele posibile sunt, de exemplu, decalajul de zgomotul de fond, derivata zgomotului de fond, o rezoluție spectrală slabă și variațiile aleatoare ale zgomotului de fond. Fiecare interferență are propriile cauze și remedii. Se aplică, în funcție de matrice, corecția interferențelor și optimizarea parametrilor de funcționare. Unele interferențe pot fi evitate prin diluarea sau prin adaptarea matricelor. Pentru fiecare lot de probe de testare analizat, materialul de referință și cel îmbogățit conținând cantități cunoscute de analit sau de analiți, precum și blankul se tratează în același mod ca și proba de testare. Pentru a controla posibile deviații, etalonul trebuie verificat după 10 probe, de exemplu. Toți reactivii și gazul plasmă trebuie să fie de cea mai mare puritate posibilă.

2.4.8. Cerințele specifice care se aplică spectrometriei de masă cu plasmă cuplată inductiv (ICP-MS) (11)

Determinarea urmelor de elemente cu masă atomică medie, cum sunt cromul, cuprul și nichelul, poate fi grav perturbată de alți ioni izobari și poliatomici. Acest fenomen este evitabil numai în cazul în care este disponibilă o putere de rezoluție de 7 000-8 000 cel puțin. Dificultățile asociate cu tehnicile de MS sunt în special deviațiile instrumentului, efectele matricei și perturbațiile ionice moleculare ($m/z < 80$). Este necesară etalonarea internă multiplă acoperind aceeași plajă de mase ca și elementele de determinat pentru a corecta deviația instrumentului și efectele matricei.

Este necesar ca descompunerea completă a materiilor organice în probe să se producă înainte de măsurarea prin ICP-MS. Ca și la AAS, după digestia în recipiente sigilate, elementele volatile, de exemplu iodul, trebuie să fie transferate într-o stare de oxidare stabilă. Interferența cea mai importantă rezultă din combinațiile ionice moleculare ale argonului (gazul plasmă), ale hidrogenului, ale carbonului, ale azotului și ale oxigenului (acizi de disoluție, impurități ale plasmă și gazelor atmosferice antrenate) și ale matricei probei. Digestia completă, măsurătorile fondului, alegerea corespunzătoare a maselor analizate, asociate uneori cu o abundență inferioară (limită de detecție mai slabă) și a acizilor de descompunere, de exemplu acidul azotic, sunt indispensabile pentru a evita interferențele.

Pentru elementele de determinat, interferențele se exclud prin alegerea corespunzătoare a maselor analizate specifice, inclusiv confirmarea rapoartelor izotopilor. Răspunsul instrumentului se verifică ținând seama de factorii Fano pentru fiecare măsurătoare, folosind etaloane interne.

3. VALIDAREA

Validarea trebuie să demonstreze că metoda de analiză este în conformitate cu criteriile aplicabile în cazul caracteristicilor de funcționare relevante.

Controale cu scopuri diferite necesită categorii diferite de metode. Tabelul următor determină caracteristica de funcționare care se verifică prin fiecare tip de metodă.

Tabelul 9

Clasificarea metodelor de analiză după caracteristicile de funcționare care urmează să fie determinate

		Limita de detecție $CC\beta$	Limita de decizie $CC\alpha$	Precizie/ Recuperare	Fidelitate	Selectivitate/ Specificitate	Aplicabilitate/ Robustețe/ Stabilitate
Metode calitative	S	+	-	-	-	+	+
	C	+	+	-	-	+	+
Metode cantitative	S	+	-	-	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = metode de depistare; C = metode de confirmare; + = determinare obligatorie.

3.1. PROCEDURILE DE VALIDARE

Prezentul capitol conține exemple și/sau trimiteri privind procedurile de validare ale metodelor de analiză. Se pot folosi și alte abordări pentru a demonstra că metoda de analiză respectă criteriile care se aplică în cazul caracteristicilor de funcționare, în măsura în care furnizează o cantitate și o calitate echivalentă de informații.

Validarea poate fi de asemenea efectuată procedând la un studiu interlaboratoare definit de *Codex alimentarius*, ISO sau IUPAC (12) sau prin alte metode, precum studiile intralaborator sau validarea internă (13) (14). Prezentul capitol se concentrează asupra studiilor intralaborator (sau validare internă) și adoptă o abordare modulară. Această abordare constă în:

1. un set de caracteristici de funcționare comune, independente de modelul de validare folosit și
2. proceduri specifice legate de model, în conformitate cu descrierea din tabelul 10.

Tabelul 10

Parametri de funcționare independenți și dependenți de model

Validare		
Parametri de funcționare independenți de model	Parametri de funcționare dependenți de model	
Caracteristici de funcționare comune (3.1.1)	Validare clasică (3.1.2)	Validare internă (3.1.3)
Specificitate Precizie Robustețe: variații minore Stabilitate	Recuperare Repetabilitate Reproductibilitate intralaborator Reproductibilitate Limită de decizie ($CC\alpha$) Capacitate de detecție ($CC\beta$) Curbă de etalonare Robustețe: variații semnificative	Recuperare Repetabilitate Reproductibilitate intralaborator Reproductibilitate Limită de decizie ($CC\alpha$) Capacitate de detecție ($CC\beta$) Curbă de etalonare Robustețe

3.1.1. Caracteristicile de funcționare independente de model

Indiferent de abordarea aleasă pentru validare, trebuie determinate caracteristicile de funcționare menționate în continuare. Pentru a reduce munca, poate fi utilizată o abordare bine concepută și validă din punct de vedere statistic pentru a combina experiențele realizate în vederea determinării diferiților parametri.

3.1.1.1. Specificitatea

Pentru metodele de analiză este importantă capacitatea de discriminare între analit și substanțe înrudite (izomeri, metaboliți, produse de degradare, substanțe endogene, constituenți ai matricei etc.). Sunt necesare două abordări pentru a verifica existența interferențelor.

În consecință, substanțele potențial interferente se izolează și se analizează probele blanc relevante pentru a detecta existența eventualelor interferențe și a le estima efectele:

- se alege un set de compuși chimici înrudiți (metaboliți, derivați etc.) sau alte substanțe care pot fi întâlnite în probă odată cu compusul respectiv,
- se analizează un număr corespunzător de probe blanc reprezentative ($n \geq 20$) și se controlează prezența interferențelor (semnale, picuri, urme de ioni) în zona respectivă, unde se presupune că eluează analitul țintă,
- de asemenea, se îmbogățesc probe blanc reprezentative până la o concentrație corespunzătoare cu substanțe care pot să interfereze cu identificarea și/sau cuantificarea analitului,
- după analiză se observă dacă:
 - prezența interferențelor poate duce la o falsă identificare,
 - prezența uneia sau a mai multor interferențe împiedică identificarea analitului țintă sau
 - cuantificarea este sensibil influențată.

3.1.1.2. Precizia

Prezentul punct descrie determinarea preciziei (care este un element al exactității). Precizia poate fi determinată numai prin intermediul unui material de referință certificat (CRM). Trebuie folosit un CRM în toate cazurile în care este disponibil. Metoda este descrisă în detaliu în ISO 5725-4 (5). În continuare este prezentat un exemplu:

- se analizează 6 replici de CRM în conformitate cu instrucțiunile de testare care se aplică metodei,
- se determină concentrația analitului prezent în fiecare probă de replică,
- se calculează media, deviația standard și coeficientul de variație (%) pentru aceste concentrații,
- se calculează precizia împărțind concentrația medie detectată la valoarea certificată (măsurată în concentrație) și se înmulțește cu 100, pentru a exprima rezultatul în procente.

Precizia (%) = concentrația medie detectată corectată cu recuperarea $\times 100$ /valoarea certificată.

În absența CRM, se poate determina recuperarea în loc de precizie, în conformitate cu descrierea de la punctul 4.1.2.1.

3.1.1.3. Aplicabilitatea/robustețea (variații minore)

Acest tip de experiență recurge la introducerea deliberată, în laborator, a unor variații minore rezonabile și la observarea consecințelor acestora.

Studiile prelabile trebuie să fie realizate alegând factorii de pretratare, de purificare și de analiză a probei care pot influența rezultatele măsurărilor. Acești factori pot să fie operatorul, sursa și vechimea reactivilor, solvenții, etaloanele și extractele de etalon, viteza de încălzire, temperatura, pH-ul și numeroși alți factori care pot apărea în laborator. Aceștia trebuie modificați cu un ordin de mărime corespunzător deviațiilor întâlnite de obicei între diferite laboratoare.

- Se identifică eventualii factori care pot influența rezultatele.
- Se variază ușor fiecare factor.

- Se realizează un test de robustețe după metoda Youden (15) (16). (În acest stadiu pot fi folosite și alte metode acceptate. Cu toate acestea, abordarea Youden reduce la minimum timpul și munca necesară.) Abordarea Youden este un model factorial fracționat. Interacțiunile între diferiți factori nu sunt detectabile.
- În cazul în care un factor influențează în mod semnificativ rezultatele măsurărilor, se realizează experiențe suplimentare, pentru a determina limitele de acceptabilitate ale acestui factor.
- Factorii care influențează rezultatele în mod semnificativ trebuie identificați cu claritate în protocolul de test.

Conceptul de bază nu este studierea unei variații o dată, ci introducerea mai multor variații simultan. De exemplu, să desemnăm cu A, B, C, D, E, F și G valorile nominale a 7 factori diferiți, care pot influența rezultatele în cazul în care valorile lor nominale sunt ușor modificate. Să desemnăm celelalte valori ale aceluiași factori cu literele minuscule corespondente, a, b, c, d, e, f și g. Rezultă 2^7 sau 128 de potențiale combinații diferite.

Este posibil să se aleagă un subset de opt dintre aceste combinații, care prezintă un echilibru între majuscule și minuscule (tabelul 11). Se efectuează opt determinări utilizând câte o combinație de factori aleși (A-G). Rezultatele determinărilor sunt prezentate de literele S–Z în tabelul 11.

Tabelul 11

Planul de experimentare pentru studiile de robustețe (variații minore)

Valoarea factorului F	Numărul combinațiilor de determinări							
	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
Rezultat observat R	S	T	U	V	W	X	Y	Z

Pentru calcule, a se vedea exemplele de teste de robustețe la punctul 3.3.

3.1.1.4. *Stabilitatea*

S-a observat că o stabilitate insuficientă a analitului sau a constituenților matricei în probă pe parcursul depozitării sau al analizei ar putea produce deviații semnificative la nivelul rezultatului analizei. Este necesar, de asemenea, să se controleze stabilitatea etalonului în soluție. În general, stabilitatea analitului este bine caracterizată în diferite condiții de depozitare. Controlul condițiilor de depozitare va face parte din sistemul normal de autorizare a laboratoarelor. În cazul în care stabilitatea nu este cunoscută, ea poate fi determinată în conformitate cu exemplele menționate în continuare.

Stabilitatea analitului în soluție

- Se prepară soluții de bază proaspete de analit (analizi) și se diluează în conformitate cu instrucțiunile de testare pentru a obține părți alicote în număr suficient (de exemplu, patruzeci) din fiecare concentrație aleasă (aproape de limita de funcționare minimă necesară pentru substanțele pentru care nu a fost stabilită nici o limită autorizată sau în apropiere de limita autorizată pentru celelalte substanțe). Se prepară soluții de analit utilizate la îmbogățire și în soluția finală, precum și orice altă soluție de interes (de exemplu, etaloane derivate).
- Se măsoară conținutul în analit în soluția proaspăt preparată în conformitate cu instrucțiunile de testare.
- Se toarnă volume adecvate în recipiente adaptate, se etichetează și se depozitează în conformitate cu următorul plan:

Tabelul 12

Plan de determinare a stabilității analitului în soluție

	- 20 °C	+ 4 °C	+ 20 °C
umbră	10 părți alicote	10 părți alicote	10 părți alicote
lumină			10 părți alicote

— Timpul de depozitare fixat este de 1, 2, 3 și 4 săptămâni sau mai mult în cazul în care este necesar, de exemplu, până în momentul în care sunt observate primele fenomene de degradare pe parcursul identificării și/sau cuantificării. Timpul de depozitare maxim și condițiile optime de depozitare se consemnează.

— Calculul concentrației de analit (analizi) în fiecare parte alicotă se efectuează luând în considerare drept concentrație 100 % soluția de analit preparat proaspăt, la momentul analizei.

$$\text{Analit rezidual (\%)} = C_i \times 100 / C_{\text{proaspăt}}$$

C_i = concentrația la momentul considerat

$C_{\text{proaspăt}}$ = concentrația unei soluții proaspete.

Stabilitatea analitului sau a analiților în matrice

— În măsura în care este posibil, se folosesc probe contaminate în mod natural. În lipsa materialului contaminat natural, este recomandabil să se folosească o matrice îmbogățită cu analit.

— Cu un material contaminat natural, se determină concentrația în material, în timp ce acesta este încă proaspăt. Se prelevează și alte părți alicote după 1, 2, 4 și 20 de săptămâni și se determină concentrațiile. Materialul trebuie depozitat la minimum - 20 °C sau la o temperatură inferioară, în cazul în care este necesar.

— În absența materialului contaminat natural, se prelevează material care nu conține analit și se omogenizează. Se împarte materialul în 5 părți alicote. Se adaugă la fiecare parte alicotă analitul, de preferință preparat într-o cantitate mică de soluție apoasă. Se analizează o parte alicotă de îndată. Se depozitează părțile alicote rămase la cel puțin - 20 °C sau la o temperatură inferioară în cazul în care este necesar și se analizează după 1,2, 4 și 20 de săptămâni.

3.1.1.5. Curbele de etalonare

În cazul în care curbele de etalonare sunt utilizate pentru cuantificare:

- se utilizează cel puțin cinci niveluri (inclusiv zero) pentru a construi curba,
- se descrie zona de acțiune a curbei de etalonare,
- se descriu modelul matematic al curbei și ajustarea datelor la curbă,
- se descriu plajele de acceptabilitate a parametrilor curbei.

În cazul în care este necesară o etalonare în serie bazată pe o soluție etalon, plajele admisibile trebuie indicate pentru acei parametri ai curbei de etalonare care pot varia de la o serie la alta.

3.1.2. Proceduri clasice de validare

Pentru calculul parametrilor după metodele clasice este necesară realizarea mai multor experimente. Fiecare caracteristică de funcționare trebuie să fie determinată pentru fiecare variație importantă (a se vedea mențiunile anterioare de la aplicabilitate/robustețe). Pentru metodele multianalit, pot fi analizați simultan mai mulți analiți în cazul în care eventualele interferențe relevante sunt îndepărtate în prealabil. Mai multe caracteristici de funcționare pot fi determinate în același mod. Astfel, pentru a reduce munca, se recomandă combinarea pe cât posibil a experiențelor (de exemplu, repetabilitatea și reproductibilitatea intralaborator cu specificitatea, analiza blancurilor pentru determinarea limitei de decizie și testul de specificitate).

3.1.2.1. Recuperarea

În absența CRM, recuperarea se determină prin experiențe cu blanc de matrice îmbogățit, aplicând, de exemplu, următorul plan:

- se alege 18 părți alicote dintr-un blanc de material și fiecare grup de 6 părți alicote se îmbogățeste cu de 1, 1,5 și 2 ori limita de funcționare minimă cerută sau de 0,5, 1 și 1,5 ori limita autorizată,
- se analizează probele și se calculează concentrația prezentă în fiecare probă,

- cu ajutorul ecuației menționate în continuare se calculează recuperarea pentru fiecare probă,
- se calculează recuperarea medie și CV pentru cele șase rezultate de la fiecare nivel,
- % recuperare = $100 \times \text{conținutul măsurat/nivel de îmbogățire}$.

Această metodă clasică de determinare a recuperării este o variantă a metodei adaosurilor etalonate descrise la punctul 3.5 în cazul în care:

- proba este considerată ca blank, în loc de probă de analizat,
- se consideră că randamentul ⁽¹⁾ și recuperarea ⁽²⁾ sunt identice pentru cele două fracții de analizat,
- probele de testare au aceleași mase și extractele fracției de analizat au aceleași volume,
- cantitatea de etalon adăugată în a doua fracție de analizat (îmbogățită) se notează cu x_{ADD} ($x_{\text{ADD}} = \rho_A \cdot V_A$),
- x_1 este valoarea măsurată pentru blank și x_2 valoarea măsurată pentru a doua fracție de analizat (îmbogățită),
- de unde rezultă că % recuperare = $100 (x_2 - x_1)/x_{\text{ADD}}$.

În cazul în care oricare dintre condițiile de mai sus nu este (sau se presupune că nu este) îndeplinită, trebuie efectuată procedura completă pentru determinarea recuperării prin metoda adaosurilor etalonate, descrisă la punctul 3.5.

3.1.2.2. Repetabilitatea

- Se prepară un set de probe de matrice identice, îmbogățite cu analit, astfel încât să se obțină concentrații echivalând cu de 1, 1,5 și 2 ori limita de funcționare minimă cerută sau de 0,5, 1 și 1,5 ori limita autorizată.
- La fiecare nivel, analiza trebuie realizată cu minimum șase replici.
- Se analizează probele.
- Se calculează concentrația detectată în fiecare probă.
- Se determină concentrația medie, deviația standard și coeficientul de variație (%) ale probelor îmbogățite.
- Se repetă aceste operațiuni cel puțin de încă două ori.
- Se calculează totalul concentrațiilor medii și ale CV pentru probele îmbogățite.

3.1.2.3. Reproducibilitate intralaborator

- Se prepară un set de probe din materialul de testare specificat (matrice identice sau diferite) îmbogățite cu analit sau analiți, astfel încât să se obțină concentrații echivalente cu de 1, 1,5 și 2 ori limita de funcționare minimă cerută sau de 0,5, 1 și 1,5 ori limita autorizată.
- La fiecare nivel, analiza trebuie realizată cu minimum șase replici.
- Se repetă aceste operațiuni de încă două ori cel puțin cu operatori diferiți, în medii diferite, de exemplu, loturi diferite de reactivi, de solvenți etc. la temperaturi ambiante diferite, cu instrumente diferite etc., în cazul în care este posibil.
- Se analizează probele.
- Se calculează concentrația detectată în fiecare probă.
- Se determină concentrația medie, deviația standard și coeficientul de variație (%) ale probelor îmbogățite.

3.1.2.4. Reproducibilitatea

În cazul în care trebuie verificată reproducibilitatea, laboratoarele trebuie să participe la studii în colaborare în conformitate cu standardul ISO 5725-2 (5).

3.1.2.5. Limita de decizie (CCa)

Limita de decizie se stabilește în conformitate cu cerințele în materie de identificare sau de identificare și cuantificare definite de „Criteriile de funcționare și alte cerințe care se aplică metodelor de analiză” (partea 2).

⁽¹⁾ Randament: fracția din masa analitului conținută în probă care este prezentă în extractul final.

⁽²⁾ Recuperare (aici): fracția din masa analitului adăugată la probă care este prezentă în extractul final. În continuarea prezentului document, se consideră că randamentul și recuperarea sunt identice și se folosește numai termenul „recuperare”.

În cazul substanțelor pentru care nu a fost stabilită nici o limită autorizată, limita de decizie poate fi determinată:

- fie prin metoda curbei de etalonare în conformitate cu standardul ISO 11843 (17) (denumită aici valoare critică a variabilei de stare nete). În acest caz se utilizează mai multe probe blanc, îmbogățite la nivelul de funcționare minim cerut și peste acest nivel, cu increment egal. Se analizează probele. După identificare, se reprezintă semnalul ca funcție de concentrația adăugată. Limita de decizie este egală cu concentrația corespunzătoare interceptului y plus de 2,33 ori deviația standard a reproductibilității intralaborator a interceptului. Aceasta se aplică exclusiv determinărilor cantitative ($\alpha = 1\%$),
- fie analizând cel puțin 20 de materiale blanc pentru fiecare matrice, pentru a putea calcula raportul semnal-zgomot în fereastra în care este așteptat analitul. Se poate utiliza ca limită de decizie valoarea echivalentă cu de trei ori raportul semnal-zgomot. Această metodă se aplică determinărilor cantitative și calitative.

În cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită autorizată, limita de detecție poate fi determinată:

- fie prin metoda curbei de etalonare (denumită aici valoare critică a variabilei de stare nete) în conformitate cu standardul ISO 11843 (17). În acest caz se folosesc mai multe probe blanc, îmbogățite la un nivel apropiat de limita autorizată cu increment egal. Se analizează probele. După identificare, se reprezintă semnalul ca funcție de concentrația adăugată. Limita de decizie este egală cu concentrația corespunzătoare limitei autorizate plus de 1,64 ori deviația standard a reproductibilității intralaborator ($\alpha = 5\%$),
- fie analizând cel puțin 20 de materiale blanc pentru fiecare matrice, îmbogățite cu analit sau analiți la limita autorizată. Limita de decizie este egală cu concentrația la limita autorizată plus de 1,64 ori deviația standard corespunzătoare ($\alpha = 5\%$).

A se vedea de asemenea articolul 5 și punctul 3.2.

3.1.2.6. Capacitatea de detecție ($CC\beta$)

Limita de detecție se determină în conformitate cu cerințele în materie de depistare, de identificare sau de identificare și de cuantificare definite de partea 2.

În cazul substanțelor pentru care nu a fost stabilită nici o limită autorizată, limita de decizie poate fi determinată:

- prin metoda curbei de etalonare (denumită aici valoare minimă detectabilă a variabilei de stare nete), în conformitate cu standardul ISO 11843 (17). În acest caz se utilizează material blanc reprezentativ, îmbogățit la nivelul de funcționare minim cerut și peste acest nivel, cu increment egal. Se analizează probele. După identificare, se reprezintă semnalul ca funcție de concentrația adăugată. Limita de detecție este egală cu concentrația corespunzătoare limitei de decizie plus de 1,64 ori deviația standard a reproductibilității intralaborator pentru conținutul mediu măsurat la limita de decizie ($\beta = 5\%$),
- analizând cel puțin 20 de materiale blanc pentru fiecare matrice, îmbogățite cu analit sau analiții la limita de decizie. Se analizează probele și se identifică analiții. Limita de detecție este egală cu valoarea limitei de decizie plus de 1,64 ori deviația standard a reproductibilității intralaborator pentru conținutul măsurat ($\beta = 5\%$),
- în absența rezultatelor cantitative, capacitatea de detecție poate fi determinată prin studiul materialului blanc îmbogățit la limita de decizie și peste această limită. În acest caz, capacitatea de detecție a metodei este egală cu nivelul de concentrație la care nu mai rămân decât 5 % sau mai puțin false rezultate conforme. Prin urmare, trebuie efectuate cel puțin 20 de teste la cel puțin un nivel de concentrație în vederea obținerii unei baze fiabile pentru această determinare.

În cazul substanțelor pentru care s-a stabilit o limită autorizată, capacitatea de detecție poate fi determinată:

- fie prin metoda curbei de etalonare (denumită aici valoare minimă detectabilă a variabilei de stare nete), în conformitate cu standardul ISO 11843 (17). În acest caz se utilizează o probă blanc reprezentativă, îmbogățită la nivelul de funcționare minim cerut și peste acest nivel, cu increment egal. Se analizează probele și se identifică analitul (analiții). Se calculează deviația standard a conținutului mediu măsurat la limita de decizie. Capacitatea de detecție este egală cu concentrația corespunzătoare valorii limitei de decizie plus de 1,64 ori deviația standard a reproductibilității intralaborator ($\beta = 5\%$),
- fie analizând cel puțin 20 de materiale blanc pentru fiecare matrice, îmbogățite cu analit sau analiții la limita de decizie. Capacitatea de detecție este egală cu valoarea limitei de decizie plus de 1,64 ori deviația standard corespunzătoare ($\beta = 5\%$).

A se vedea și punctul 3.2.

3.1.2.7. *Robustețea (variații semnificative)*

Metoda de analiză trebuie testată în condiții experimentale diferite, care cuprind în special specii diferite, matrice diferite sau condiții de probă diferite. Variațiile introduse trebuie să fie semnificative. Importanța acestor variații poate fi evaluată folosind de exemplu abordarea Youden (15) (16). Fiecare caracteristică de funcționare trebuie determinată pentru toate variațiile semnificative pentru care a fost demonstrat un efect important asupra desfășurării testului.

3.1.3. **Validarea pe baza altor modele**

În cazul în care se aplică alte metode de validare, în protocolul de validare se definesc modelul și strategia de bază cu cerințele inițiale, ipotezele și formulele corespunzătoare sau, cel puțin, se fac trimiteri la acestea. În continuare este reluat un exemplu de metodă de înlocuire. Atunci când se aplică modelul de validare internă, de exemplu, caracteristicile de funcționare se determină astfel încât să permită validarea pentru variațiile semnificative în aceeași metodă de validare. Pentru aceasta este necesară definirea unui plan de experimentare pentru validare.

3.1.3.1. *Planul de experimentare*

În funcție de numărul speciilor și de diferenții factori studiați, se stabilește un plan de experimentare. Prin urmare, prima etapă a metodei de validare studiază populațiile de probe, care apoi sunt analizate în laborator pentru a alege speciile cele mai importante și factorii care pot influența rezultatele măsurării. Plaja de concentrații se selectează apoi în funcție de scop, în conformitate cu nivelul considerat.

Exemplu:

- mai mulți analiți pot fi studiați simultan prin metoda de analiză în curs de validare,
- s-au identificat două variații ale factorului principal (A și B). Factorii principali formează baza de combinare a nivelurilor factorilor. Acești factori principali pot să cuprindă factori precum specia sau matricea. În acest exemplu, factorul principal s-a modificat pe două niveluri, adică au fost luate în considerare două specii diferite (specia A și specia B). În general, este posibil să poată fi modificați factorii principali pe mai mult de două niveluri, ceea ce nu face decât să mărească numărul de analize de efectuat,
- factorii aleși se modifică pe două niveluri (indicate cu + sau -).

Tabelul 13

Exemple de factori considerați ca fiind importanți pentru o metodă de validare

Sexul animalului	(factorul 1)
Rasa	(factorul 2)
Condițiile de transport	(factorul 3)
Condițiile de depozitare	(factorul 4)
Prospețimea probei	(factorul 5)
Condițiile de îngrijire	(factorul 6)
Operatori diferiți având experiență diferită	(factorul 7)

Tabelul 14

Plan de experimentare posibil pentru exemplul de mai sus

Specia	Factorul 1	Factorul 2	Factorul 3	Factorul 4	Factorul 5	Factorul 6	Factorul 7	Proba nr.
A	+	+	+	+	-	+	-	1
A	+	+	-	-	+	-	-	2
A	+	-	+	-	-	-	+	3
A	+	-	-	+	+	+	+	4
A	-	+	+	-	+	+	+	5
A	-	+	-	+	-	-	+	6
A	-	-	+	+	+	-	-	7
A	-	-	-	-	-	+	-	8

Specia	Factorul 1	Factorul 2	Factorul 3	Factorul 4	Factorul 5	Factorul 6	Factorul 7	Proba nr.
B	+	+	+	+	+	-	+	9
B	+	+	-	-	-	+	+	10
B	+	-	+	-	+	+	-	11
B	+	-	-	+	-	-	-	12
B	-	+	+	-	-	-	-	13
B	-	+	-	+	+	+	-	14
B	-	-	+	+	-	+	+	15
B	-	-	-	-	+	-	+	16

Deoarece fiecare probă (fiecare combinație de niveluri de factori) trebuie îmbogățită cu patru concentrații diferite și apropiate de nivelul de interes, iar o probă blank trebuie analizată pentru fiecare nivel, rezultă că trebuie efectuate $5 \times 16 = 80$ de analize pentru setul de experiențe de validare.

Aceste 80 de rezultate de măsurare permit calcularea (13) (14).

Recuperare

- repetabilitatea pe nivel de concentrație (S_{it}),
- reproductibilitatea intralaborator pe nivel de concentrație (S_{iR}),
- limita de decizie ($CC\alpha$),
- capacitatea de detecție ($CC\beta$),
- curba de putere (rata erorilor β în raport cu concentrația, a se vedea punctul 3.1.2.3),
- robustețea (variații semnificative); robustețea pentru variațiile minore poate fi determinată în conformitate cu punctul 3.1.1.3,
- 16 curbe de etalonare legate de probă,
- 1 curbă de etalonare globală,
- intervalul de predicție al curbei de etalonare globală,
- deviațiile induse de matrice (S_{mat})
- deviațiile induse de desfășurarea analizei (S_{run})
- incidența diferiților factori asupra rezultatelor măsurărilor.

Aceste caracteristici de funcționare permit evaluarea completă a nivelului de funcționare a metodei, dat fiind că sunt studiate nu numai influența diferiților factori, ci și combinațiile relevante ale acestor factori. Cu ajutorul acestui plan de experimentare, este posibil să se decidă dacă unul sau altul dintre factorii aleși se exclude din curba de etalonare globală pentru că se îndepărtează semnificativ de deviațiile standard ale celorlalți factori.

3.1.3.2. Curba de putere

Curba de putere furnizează informații asupra capacității de detecție a metodei în plaja de concentrații aleasă. Ea face trimitere la riscul de eroare β atunci când se aplică metoda studiată. Curba de putere permite calcularea capacităților de detecție pentru diferite categorii (depistare, confirmare) sau tipuri (calitativ sau cantitativ) de metode pentru o eroare β dată (de exemplu, 5 %).

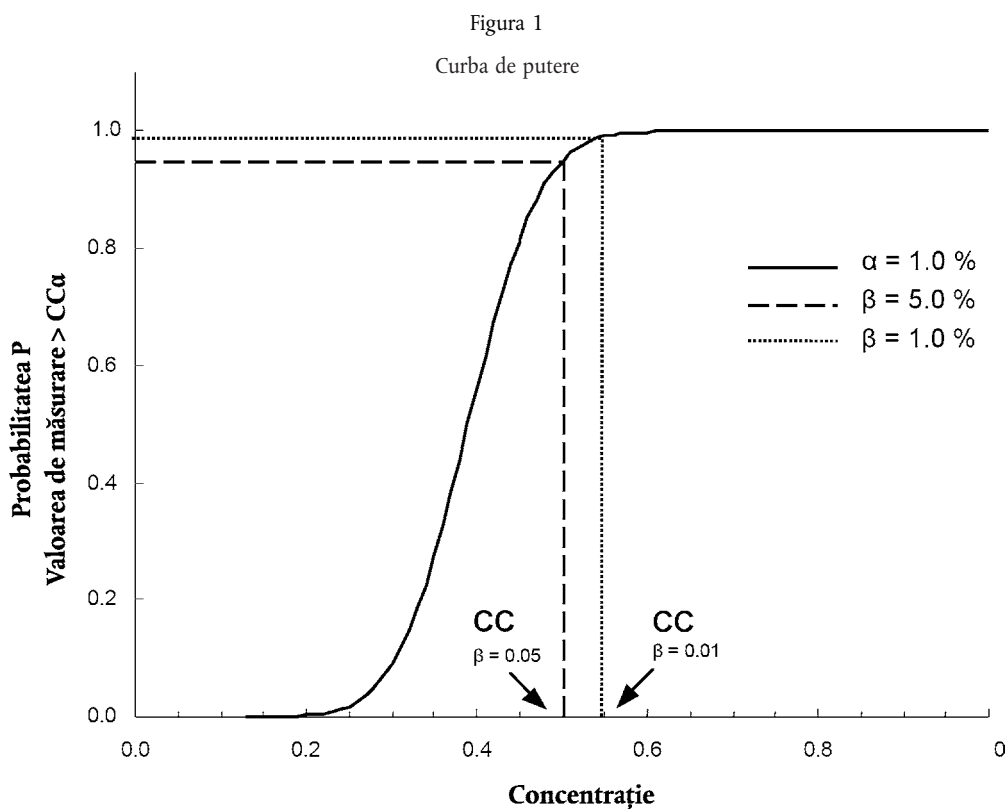


Figura 1 prezintă un exemplu de reprezentare grafică a capacității de detecție ($CC\beta$) a unei metode de analiză. Această metodă are un risc rezidual de decizie falsă de 5 % la concentrația de 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La concentrația de 0,55 $\mu\text{g}/\text{kg}$, riscul de fals rezultat conform scade la 1 %.

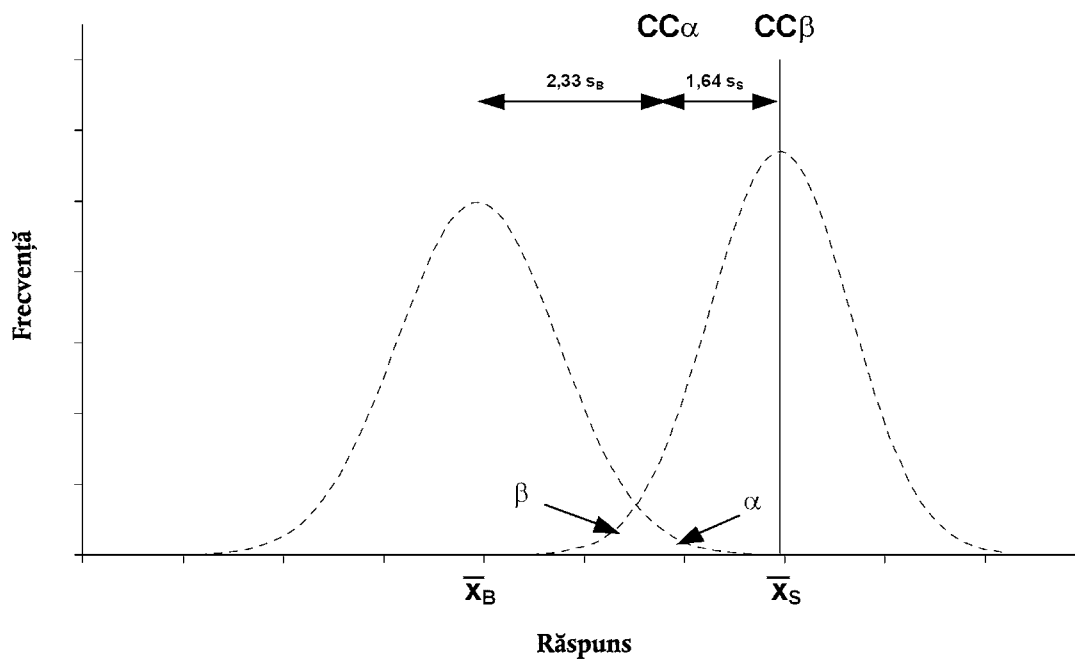
3.1.3.3. Reproducibilitatea

Determinarea reproductibilității unei metode prin conceptul studiilor intralaborator (validare internă) necesită participarea la teste de aptitudini în conformitate cu ghidurile ISO 43-1 (3) și 43-2 (4). Laboratoarele pot să își aleagă propriile metode, cu condiția ca acestea să fie folosite în condiții de rutină. Deviația standard a laboratorului poate fi folosită pentru a evalua reproductibilitatea metodei.

3.2. REPREZENTAREA GRAFICĂ A DIFERITELOR LIMITE DE ANALIZĂ

Figura 2

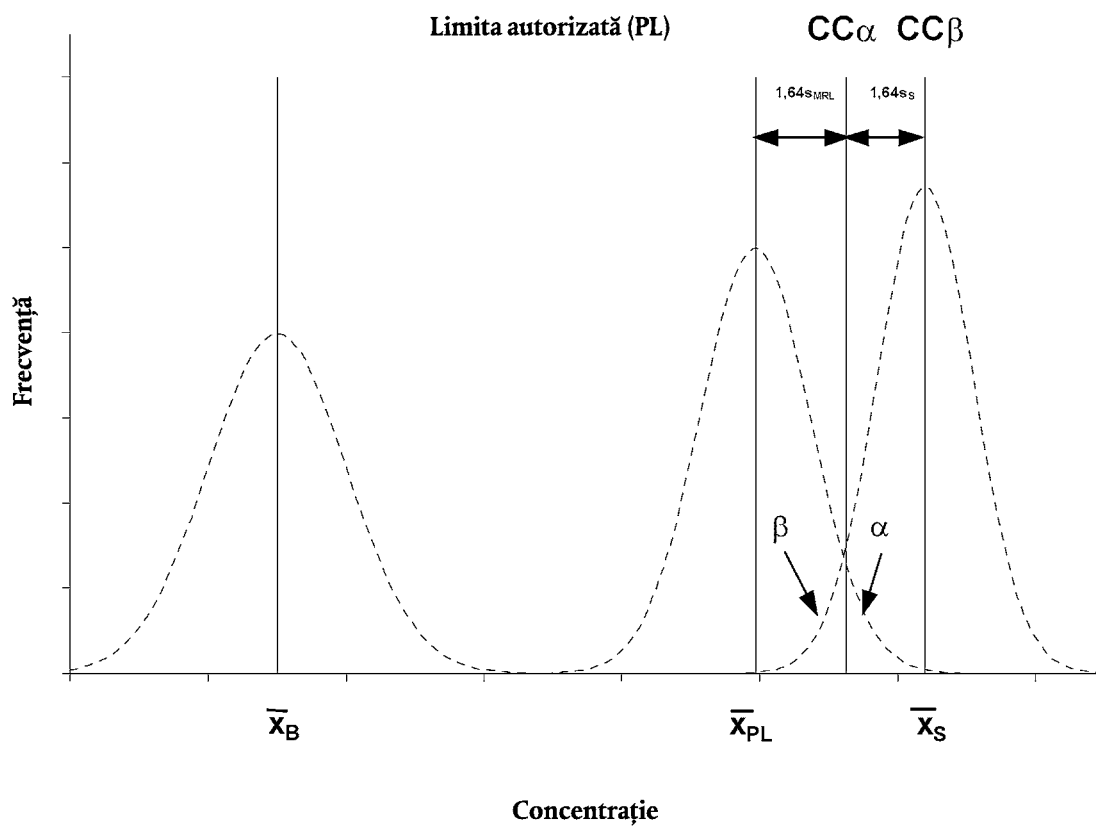
Substanțe pentru care nu s-a stabilit nici o limită autorizată



\bar{x}_S	Valoarea de răspuns medie a probei contaminate
s_B	Deviația standard a probei albă (determinată în condiții de reproductibilitate intralaborator)
s_S	Deviația standard a probei contaminate (determinată în condiții de reproductibilitate intralaborator)
α	Rata falselor rezultate neconforme
β	Rata falselor rezultate conforme
$CC\alpha$	Răspunsul cu o eroare α dată și o eroare β de 50 %
$CC\beta$	Răspunsul cu o eroare α foarte mică și o eroare β dată

Figura 3

Substanțe cu limită autorizată



\bar{X}_B „Concentrația” medie a probei blanc

\bar{X}_{PL} Concentrația medie a probei conținând analit la limita autorizată

\bar{X}_S Concentrația medie a probei contaminate

s_{PL} Deviația standard a probei conținând analit la limita autorizată (determinată în condiții de reproductibilitate intralaborator)

s_S Deviația standard a probei contaminate (determinată în condiții de reproductibilitate intralaborator)

α Rata falselor rezultate neconforme

β Rata falselor rezultate conforme

$CC\alpha$ Răspunsul cu o eroare α dată și o eroare β de 50 %

$CC\beta$ Răspunsul cu o eroare α foarte mică și o eroare β dată

3.3 EXEMPLE DE CALCUL PENTRU DETERMINAREA ROBUSTEȚII METODEI LA VARIAȚII MINORE ÎN ABORDAREA YOUTDEN (16)

Comparația mediilor (A)

$$\begin{aligned} A_A &= \Sigma(A_i)/4 \\ A_B &= \Sigma(B_i)/4 \\ A_C &= \Sigma(C_i)/4 \\ A_D &= \Sigma(D_i)/4 \\ A_E &= \Sigma(E_i)/4 \\ A_F &= \Sigma(F_i)/4 \\ A_G &= \Sigma(G_i)/4 \\ A_a &= \Sigma(a_i)/4 \\ A_b &= \Sigma(b_i)/4 \\ A_c &= \Sigma(c_i)/4 \\ A_d &= \Sigma(d_i)/4 \\ A_e &= \Sigma(e_i)/4 \\ A_f &= \Sigma(f_i)/4 \\ A_g &= \Sigma(g_i)/4 \end{aligned}$$

Se compară mediile majusculilor (de la A_A la A_G) cu mediile minusculilor corespondente (de la A_a la A_g). În cazul în care un factor are vreun efect, diferența va fi semnificativ mai mare decât diferențele altor factori.

O metodă robustă nu trebuie să fie influențată de variațiile care se întâlnesc cu cvasi-certitudine între laboratoare.

În absența unei diferențe excepționale, măsurătoarea cea mai realistă a erorii aleatoare este dată de cele șapte diferențe.

Diferențe (D_i)

Pătratul diferențelor (D_i^2)

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

Deviația standard a diferențelor D_i (S_{Di})

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

În cazul în care S_{Di} este semnificativ mai mare decât deviația standard a metodei aplicate în condițiile de reproductibilitate intralaborator (a se vedea mai sus), concluzia previzibilă este că toți factorii considerați luați împreună au influență asupra rezultatului, chiar în cazul în care nici un factor izolat nu are influență semnificativă și că metoda nu este suficient de robustă în raport cu variațiile alese.

3.4. EXEMPLE DE CALCUL PENTRU PROCEDURA DE VALIDARE INTERNĂ

Exemple și calcule pentru protocolul de validare internă descris la punctul 3.1.3. Validarea pe baza altor modele (13) (14).

3.5. EXEMPLE DE CALCUL PENTRU METODA ADAOSURILOR ETALONATE

O probă de testare cu un conținut T de analit se împarte în două fracții, 1 și 2 de masă m_1 și m_2 . Frația 2 se îmbogățește cu volumul V_A dintr-o soluție de concentrație ρ_A de analit. După fazele de extracție și de purificare ale metodei se obțin două extracte din aceste fracții, de volume V_1 și V_2 . Se consideră că recuperarea analitului este rc. Cele două extracte sunt testate cu o metodă de sensibilitate b și dau răspunsurile analitice x_1 și respectiv x_2 .

Presupunând că rc și b sunt identice pentru analit în proba originală și în proba îmbogățită, conținutul T poate fi calculat după cum urmează:

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

Metoda permite determinarea recuperării rc. Apoi, în plus față de testul descris mai sus, o parte a extractului din fracția 1 (volumul V_3) se îmbogățește cu o cantitate cunoscută $\rho_B V_B$ de analit și se testează. Răspunsul analitic este x_3 și recuperarea:

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

Este de asemenea posibil să se calculeze sensibilitatea b după cum urmează:

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

Toate condițiile de aplicare și indicațiile au fost descrise (18).

4. ABREVIERILE UTILIZATE

AAS	spectrometrie de absorbție atomică
AES	spectrometrie de emisie atomică
AOAC-I	Asociația chimiștilor analiști oficiali (AOAC-International)
B	fracție legată (imunoanalize)
CI	ionizare chimică
CRM	material de referință certificat
CV	coeficient de variație
2 D	bidimensional
DAD	deteție cu rețea de diode
DPASV	voltametrie anodică de stripping cu impuls diferențial
ECD	deteție prin captură de electroni
EI	ionizare cu impact electronic
GC	cromatografie în fază gazoasă
HPLC	cromatografie în fază lichidă de înaltă rezoluție
HPTLC	cromatografie în strat subțire de înaltă performanță
HRMS	înaltă rezoluție (spectrometrie de masă)
ICP-AES	spectrometrie de emisie atomică cu plasmă cuplată inductiv
ICP-MS	spectrometrie de masă cu plasmă cuplată inductiv
IR	infraroșu
ISO	ISO, Organizația Internațională de Standardizare
LC	cromatografie în fază lichidă
LR(MS)	slabă rezoluție (spectrometrie de masă)
MRPL	limita de funcționare minimă cerută
MS	spectrometrie de masă
m/z	raportul masă/sarcină
RF	migrația relativă spre frontul de solvent
RSDL	deviațiile standard relative ale laboratorului
SIM	monitorizarea ionilor selecționați
TLC	cromatografie în strat subțire
UV	lumină ultravioletă
VIS	lumină vizibilă

5. BIBLIOGRAFIE

- (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, J. M Weseman „A new approach to confirmation by infrared spectrometry”, *J. Chemometrics* 4 (1990) 61-77.
 - (8) Vezi, de exemplu, 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 (ed.), Pergamon Press (Oxford), 1992, p. xxvi + 675.
 - (10) Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry, A. Montaser, D. W. Golightly (ed.), VCH Publishers, Inc. (New York), 1992.
 - (11) Plasma Source Mass Spectrometry Developments and Applications, G. Holland, S. D. Tanner (ed.), 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 și următoarele.
 - (17) ISO 11843: 1997 Capability of detection — Part 1: Terms and definitions, Part 2: Methodology in the linear calibration case.
 - (18) R.W. Stephany & L.A. van Ginkel; „Yield or recovery: a world of difference”. Proceedings 8th Euro Food Chem, Vienna, Austria September 18-20 (1995) Federation of European Chemical Societies, Event 206. ISBN 3-900554-17X, p. 2-9.
 - (19) Directiva 71/354/CEE din 17 octombrie 1971 de apropiere a legislațiilor statelor membre privind unitățile de măsură (JO L 243, 29.10.1971, p. 29).
 - (20) ISO 31-0: 1992 Quantities and units — Part 0: General principles.
-