

DIN 38402-51

ICS 13.060.50

Ersatz für
DIN 38402-51:2015-09

**Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und
Schlammuntersuchung –
Allgemeine Angaben (Gruppe A) –
Teil 51: Kalibrierung von Analysenverfahren – Lineare
Kalibrierfunktion (A 51)**

German standard methods for the examination of water, waste water and sludge –
General information (group A) –
Part 51: Calibration of analytical methods – Linear calibration (A 51)

Méthodes normalisées allemandes pour l'analyse des eaux, des eaux résiduaires et des
boues –
Informations générales (groupe A) –
Partie 51: Calibration des méthodes d'analyse – Étalonnage linéaire (A 51)

Gesamtumfang 51 Seiten

DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW)

Inhalt

	Seite
Vorwort	4
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Formelzeichen	9
5 Bezeichnung	11
6 Ermittlung des linearen Messbereichs und Festlegung des Kalibrierbereichs	11
6.1 Allgemeines	11
6.2 Vorläufige Wahl des Arbeitsbereichs	11
6.3 Abschätzung des linearen Arbeitsbereichs	11
6.3.1 Visuelle Prüfung der Messdaten	12
6.3.2 Abschätzung des linearen Bereichs durch Ermittlung der Punkt-zu-Punkt-Steigung	12
7 Kalibrierstrategien	13
7.1 Allgemeines	13
7.2 Berechnung der Kalibrierfunktion	16
7.3 Kalibrierung des Messverfahrens mit externem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate des Analyten	17
7.3.1 Allgemeines	17
7.3.2 Erstellung der Kalibrierfunktion	17
7.3.3 Bestimmung der Wiederfindungsrate	17
7.3.4 Ergebnisberechnung	18
7.4 Kalibrierung des Messverfahrens mit internem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate des internen Standards	18
7.4.1 Allgemeines	18
7.4.2 Erstellung der Kalibrierfunktion	19
7.4.3 Bestimmung der Wiederfindung	19
7.4.4 Ergebnisberechnung	19
7.5 Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit externem Standard	20
7.5.1 Allgemeines	20
7.5.2 Erstellung der Kalibrierfunktion	20
7.5.3 Ergebnisberechnung	21
7.6 Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit internem Standard	21
7.6.1 Allgemeines	21
7.6.2 Erstellung der Kalibrierfunktion	21
7.6.3 Ergebnisberechnung	22
7.7 Standardaddition	22
7.7.1 Allgemeines	22
7.7.2 Durchführung	22
7.7.3 Ergebnisberechnung	23
8 Strategien zur Prüfung der Gültigkeit der Kalibrierung	24
8.1 Allgemeines	24
8.2 Prüfung mittels Kontrolllösung bzw. Kontrollprobe	24
8.3 Prüfung der Steigung der Kalibriergeraden	24

Anhang A (informativ) Anpassungstest nach Mandel, Verfahrensstandardabweichung, Verfahrensvariationskoeffizient und Vertrauensbereich.....	25
A.1 Allgemeines	25
A.2 Anpassungstest nach Mandel.....	25
A.3 Verfahrensstandardabweichung, Verfahrensvariationskoeffizient und Vertrauensbereich	26
A.3.1 Voraussetzungen	26
A.3.2 Verfahrensstandardabweichung.....	27
A.3.3 Verfahrensvariationskoeffizient.....	27
A.3.4 Vertrauensbereich	27
Anhang B (informativ) Beispiele Linearitätstest.....	28
B.1 Beispiel 1a und 1b: Bestimmung von Nitrit nach DIN EN ISO 13395 und Ammonium nach DIN EN ISO 11732 mittels Fließanalytik	28
B.2 Beispiel 2a und 2b: Simultan-Bestimmung von Kupfer (327 nm) und Blei (220 nm) mittels ICP-OES nach DIN EN ISO 11885.....	32
B.3 Beispiel 3a und 3b: Bestimmung von Desisopropylatrazin und Carbamazepin mittels LC-MS/MS.....	36
Anhang C (informativ) Prüfung des linearen Arbeitsbereichs mithilfe des empirischen Krümmungstests	40
C.1 Allgemeines	40
C.2 Durchführung	42
C.3 Beispiele	43
C.3.1 Beispiel 1: Kalibrierung der Bleibestimmung mit ICP-OES	43
C.3.2 Beispiel 2: Kalibrierung der Chlorid-Bestimmung mit Ionenchromatographie	45
C.3.3 Beispiel 3: Kalibrierung der photometrischen Eisen-Bestimmung.....	47
Anhang D (informativ) Gewichtete Regression – Wichtung $1/x$	49
Literaturhinweise.....	51

Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Arbeitskreis NA 119-01-03-06-05 AK „Kalibrierung von Analysenverfahren“ des Arbeitsausschusses NA 119-01-03 AA „Wasseruntersuchung“ im DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Es ist erforderlich, bei den Untersuchungen nach dieser Norm Fachleute oder Facheinrichtungen einzuschalten und bestehende Sicherheitsvorschriften zu beachten.

Bei Anwendung der Norm ist im Einzelfall je nach Aufgabenstellung zu prüfen, ob und inwieweit die Festlegung zusätzlicher Randbedingungen erforderlich ist.

Die vorliegende Norm enthält das vom DIN-Normenausschuss Wasserwesen (NAW) und von der Wasserchemischen Gesellschaft – eine Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker – gemeinsam erarbeitete Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung:

Kalibrierung von Analysenverfahren – Lineare Kalibrierfunktion (A 51).

Die als DIN-Normen veröffentlichten Deutschen Einheitsverfahren sind bei der Beuth Verlag GmbH einzeln oder zusammengefasst erhältlich. Außerdem werden die genormten Deutschen Einheitsverfahren in der Loseblattsammlung „Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung“ gemeinsam von der Beuth Verlag GmbH und der Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA publiziert.

Normen oder Norm-Entwürfe mit dem Gruppentitel „*Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung*“ sind in folgende Gebiete (Haupttitel) aufgeteilt:

Allgemeine Angaben (Gruppe A)

Sensorische Verfahren (Gruppe B)

Physikalische und physikalisch-chemische Kenngrößen (Gruppe C)

Anionen (Gruppe D)

Kationen (Gruppe E)

Gemeinsam erfassbare Stoffgruppen (Gruppe F)

Gasförmige Bestandteile (Gruppe G)

Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H)

Mikrobiologische Verfahren (Gruppe K)

Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L)

Biologisch-ökologische Gewässeruntersuchung (Gruppe M)

Einzelkomponenten (Gruppe P)

Schlamm und Sedimente (Gruppe S)

Suborganismische Testverfahren (Gruppe T)

Über die bisher erschienenen Teile dieser Normen gibt die Geschäftsstelle des Normenausschusses Wasserwesen (NAW) im DIN Deutsches Institut für Normung e.V., Telefon 030 2601–2448, oder die Beuth Verlag GmbH, 10772 Berlin (Hausanschrift: Am DIN-Platz, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin), Auskunft.

Änderungen

Gegenüber DIN 38402-51:1986-05 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) der Titel wurde geändert;
- b) der Schwerpunkt dieser Norm liegt in der Kalibrierung für die Routineanalytik;
- c) die Berechnung der Verfahrenskennndaten wurde in den informativen Anhang A verschoben;
- d) der Kalibrierbereich wurde auf mehrere Dekaden erweitert;
- e) auf den Nachweis der Varianzhomogenität wird verzichtet;
- f) der Linearitätstest wurde geändert;
- g) mehrere Kalibrierstrategien werden beschrieben;
- h) die Norm wurde redaktionell überarbeitet.

Gegenüber DIN 38402-51:2015-09 wurden folgende Korrekturen vorgenommen:

- a) in den Tabellen B.1, B.2, B.3 und B.4 wurden die Werte für die Punkt-zu-Punkt-Steigung und die Abweichung vom Steigungsmedian korrigiert;
- b) in den Tabellen B.1 und B.2 wurden Fehler in den Kopfzeilen korrigiert und in den Tabellen B.1, B.2, B.3 und B.4 wurden Fußzeilen ergänzt;
- c) in Bild B.1b) zur Bestimmung von Nitrit mittels CFA wurde die Darstellung des ersten Werts für $\Delta = -0,000\ 2$ korrigiert;
- d) in Bild B.2a) zur Bestimmung von Ammonium wurde das Operationszeichen in der quadratischen Gleichung in „- 0,0003“ korrigiert;
- e) in Bild B.4a) zur Bestimmung von Blei mittels ICP-OES wurde der Wert der quadratischen Gleichung „6,193 6“ durch „6,192 4“ ersetzt;
- f) in C.3.1 zur Bestimmung von Blei wurde in der Kalibrierfunktion 2. Grades der Wert „6,193 6“ durch „6,192 4“ ersetzt;
- g) in Tabelle 1 und in den Abschnitten 7.4, 7.5, 7.6 und 7.7 wurden die Begriffe „dotieren“ und „aufstocken“ eindeutig verwendet: im Zusammenhang mit Internen Standards gilt immer „dotieren“, beim Zusatz von Analyt ist „aufstocken“ das richtige Verb;
- h) die Formelzeichen wurden angepasst.

Frühere Ausgaben

DIN 38402-51: 1986-05, 2015-09

Einleitung

Kalibrierung ist die Voraussetzung für die quantitative Bestimmung von Analyten mit physikalisch-chemischen und chemischen Verfahren. Da bei vielen Messverfahren ein linearer Zusammenhang zwischen Anzeigewert und Probengehalt besteht, wird meist die einfache lineare Regression angewandt.

Seit dem Erscheinen der DIN 38402-51 im Jahr 1986 ist ein enormer Fortschritt in der instrumentellen Analytik zu verzeichnen, der dazu führte, dass eine Reihe unterschiedlicher Kalibrierstrategien entwickelt wurde, um die gerätetechnischen Möglichkeiten optimal nutzen zu können. Die theoretische statistische Bedingung, dass die einfache lineare Regression nur angewandt werden darf, wenn Varianzhomogenität über den gewählten Arbeitsbereich vorliegt, schränkte den Kalibrierbereich vieler Analysenverfahren auf höchstens eine Dekade ein. Da in DIN 38402-51:1986-05 die Schätzung der Messunsicherheit über die Berechnung des Vertrauensbereichs erfolgte, war man auf die Einhaltung der Forderung nach Varianzhomogenität angewiesen. Zwischenzeitlich haben sich für die Schätzung der Messunsicherheit andere, von der Kalibrierung unabhängige, Verfahren etabliert (z. B. DIN ISO 11352).

Die in dieser Norm beschriebenen Kalibrierstrategien erlauben es dem Analytiker, den Kalibrieraufwand in Abhängigkeit von spezifizierten Anforderungen individuell festzulegen. Da die in DIN 38402-51:1986-05 beschriebene Verfahrensweise für spezielle Zwecke (z. B. Verfahrensvalidierungen) weiterhin nutzbringend sein kann, bleibt sie im informativen Teil des Anhangs erhalten.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt mehrere Kalibrierstrategien für physikalisch-chemische und chemische Analysenverfahren und die Berechnung von Analysenergebnissen fest.

Der allgemeine Rahmen zur linearen Kalibrierung wird vorgegeben, so dass in den einzelnen Normen für Analysenverfahren der Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung hierauf Bezug genommen werden kann.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN 32645, *Chemische Analytik — Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen — Begriffe, Verfahren, Auswertung*

DIN 38402-60, *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung — Allgemeine Angaben (Gruppe A) — Teil 60: Analytische Qualitätssicherung für die chemische und physikalisch-chemische Wasseruntersuchung (A 60)*

DIN ISO 8466-2:2004-06, *Wasserbeschaffenheit — Kalibrierung und Auswertung analytischer Verfahren und Beurteilung von Verfahrenskennwerten — Teil 2: Kalibrierstrategie für nichtlineare Kalibrierfunktionen zweiten Grades (ISO 8466-2:2001-11)*

DIN ISO 11352, *Wasserbeschaffenheit — Abschätzung der Messunsicherheit beruhend auf Validierungs- und Kontrolldaten*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1

Arbeitsbereich

durch eine Kalibrierung festgelegtes Intervall zwischen niedrigstem und höchstem Gehalt, wobei die niedrigste mögliche untere Grenze des Arbeitsbereichs die Bestimmungsgrenze des Analysenverfahrens ist

3.2

Ein-Punkt-Kalibrierung

Kalibrierung zwischen Nullpunkt und dem Anzeigewert für den der Kalibrierprobe entsprechenden Gehalt

3.3

Anzeigewert

y

von einem Messgerät oder Messsystem gelieferter Größenwert

Anmerkung 1 zum Begriff: In Anlehnung an den Begriff 4.1 „Anzeige“ in ISO/IEC Guide 99, [1].

3.4

Gehalt

allgemeiner Begriff für die quantitative Angabe von Konzentration oder Anteil eines Stoffes in bzw. an einem Stoffgemisch

Anmerkung 1 zum Begriff: Steht z. B. als Oberbegriff für Massenkonzentration, Stoffmengenkonzentration, Massenanteil.

3.5

Gesamtverfahren

Analysenverfahren, das alle Schritte von der Probenvorbehandlung bis zum Ergebnisbericht enthält

3.6

Kalibrierlösung

Analytlösung ohne Matrix

3.7

Kalibrierprobe

Analytlösung mit Matrix

3.8

Messverfahren

beinhaltet alle Details einer Messung einschließlich aller Berechnungen zum Erhalt des Messergebnisses

3.9

Steigung der Kalibrierfunktion

b
Maß für die Empfindlichkeit eines Analysenverfahrens in dem betrachteten Arbeitsbereich

4 Formelzeichen

A_p	Wiederfindungsrate für die Probe
A_{IP}	Wiederfindungsrate des internen Standards
a	Achsenabschnitt der Kalibriergeraden bzw. der Regressionsgeraden bei Standardaddition
b	Steigung der Kalibriergeraden bzw. der Regressionsgeraden bei Standardaddition bzw. Koeffizient des linearen Glieds der Kalibrierfunktion 2. Grades
b_i	Punkt-zu-Punkt-Steigung i
b_m	Median der Steigungen b_i
c	Regressionskoeffizient des quadratischen Gliedes der Kalibrierfunktion 2. Grades
DS^2	Differenz der Abweichungsquadratsummen
F	Faktor (berücksichtigt die Probenvorbereitung, z. B. Anreicherungsfaktor)
F_{calc}	Prüfwert zur Durchführung des F -Tests
$F_{f_1;f_2;99\%}$	Tabellenwert der F -Verteilung für das Vertrauensniveau $P = 99\%$
f	Umrechnungsfaktor (z. B. 100 für Angabe in %)
f_1 bzw. f_2	Freiheitsgrad
i	laufende Nummer der Kalibrierlösungen (1, 2, ..., N)
m	Anzahl der Wiederholmessungen je Aufstockungsniveau beim Verfahren der Standardaddition
N	Anzahl der Kalibrierlösungen
n	Anzahl der Aufstockungsniveaus beim Verfahren der Standardaddition (einschließlich nicht dotierter Probe)
P	Vertrauensniveau
R	Responsivität
R_0	Schwellenwert der Responsivität
R_m	Median der Responsivität
s_{xo}	Verfahrensstandardabweichung
s_y	Reststandardabweichung
s_{y1}	Reststandardabweichung der Kalibrierfunktion 1. Grades
s_{y2}	Reststandardabweichung der Kalibrierfunktion 2. Grades
$VB(x)$	Vertrauensbereich für ein über die Kalibrierfunktion berechnetes Analysenresultat x
V_{ALi}	Volumen der Aufstockungslösung i
V_M	Volumen der Messlösung
V_p	Volumen der Probe
V_{TP}	Volumen der Teilproben
V_{xo}	Verfahrensvariationskoeffizient
W	arithmetischer Mittelwert der Reziprokwerte der Gehalte x_i

w_i	Reziprokwert des Gehalts x_i
x	Gehalt des Analyten
$\bar{x}$	Mittelwert der Gehalte x_i
x_A	Gehalt der aufgestockten Probe
x_{AL}	Gehalt der Aufstockungslösung
x_e	Gehalt des Analyten in der Kalibrierlösung
x_{eg}	Gehalt des Analyten in der aufgestockten Kalibrierprobe
x_g	Gehalt des Analyten in der Probe nach Kalibrierung des Gesamtverfahrens
x_{Ie}	Gehalt des internen Standards I in der Kalibrierlösung
x_{Ieg}	Gehalt des internen Standards I in der Kalibrierprobe
x_{Ig}	Gehalt des internen Standards I in der Probe
x_{IM}	gemessener Gehalt des internen Standards I in der Messlösung
x_i	Gehalt des Analyten in der Kalibrierlösung i
x_M	Gehalt des Analyten in der Messlösung
x_O	Gehalt des Analyten in der Originalprobe
x_P	Gehalt des Analyten in der Probe
x_Z	Aufstockungsgehalt in der Probe
x_{Zi}	Aufstockungsgehalt in den Teilproben i
y	Anzeigewert
$\bar{y}$	Mittelwert der Anzeigewerte y_i
y_e	Anzeigewert bei der externen Kalibrierung
y_{eg}	Anzeigewert bei der externen Kalibrierung des Gesamtverfahrens
y_g	Anzeigewert des Analyten in der Probe
y_{Ie}	Anzeigewert des internen Standards I bei der Kalibrierung des Messverfahrens
y_{Ieg}	Anzeigewert des internen Standards I bei der Kalibrierung des Gesamtverfahrens
y_{Ig}	Anzeigewert des internen Standards I in der Probe
y_i	Anzeigewert der Kalibrierlösung i bzw. Anzeigewert der Teilprobe i bei der Standardaddition
$\hat{y}_i$	über die Kalibrierfunktion errechneter Anzeigewert zum Gehalt x_i
y_P	Anzeigewert der (nicht aufgestockten) Probe
Z	arithmetischer Mittelwert der Quotienten z_i
z_i	Quotient aus Anzeigewert y_i und Gehalt x_i
α	Signifikanzniveau
Δb_{i-m}	Differenz der Steigung b_i vom Median der Steigungen b_m

5 Bezeichnung

Bezeichnung des Verfahrens für die Kalibrierung von Analysenverfahren – Lineare Kalibrierfunktion (A 51):

Verfahren DIN 38402 — A 51

6 Ermittlung des linearen Messbereichs und Festlegung des Kalibrierbereichs

6.1 Allgemeines

Die Prüfung des analytischen Messverfahrens im praxisgerechten Arbeitsbereich auf Linearität erfolgt nach folgendem Schema:

1. Schritt: Festlegung des vorläufigen Messbereichs

Herstellung und Analyse von Kalibrierlösungen (mit oder ohne interne Standards, erfolgt analytabhängig, jedoch matrixunabhängig) über eine oder mehrere Dekaden

2. Schritt: Prüfung der Linearität und Festlegung des linearen Messbereichs

Berechnung der linearen Kalibrierfunktion

6.2 Vorläufige Wahl des Arbeitsbereichs

Jede Kalibrierung beginnt mit der Wahl eines vorläufigen Arbeitsbereichs. Dieser richtet sich nach:

— dem praxisbezogenen Anwendungsziel

Der Arbeitsbereich sollte einen größeren Anwendungsbereich für Wasser-, Abwasser- oder Schlammuntersuchungen weitgehend abdecken.

— den technisch realisierbaren Möglichkeiten

Die verfügbaren Messgeräte ermöglichen oft die Wahl eines weiten linearen Arbeitsbereichs (z. T. über mehrere Dekaden). Andererseits ist es erforderlich, dass Anzeigewerte an der unteren Bereichsgrenze zumindest eine Unterscheidung von den Anzeigewerten des Verfahrensblindwertes ergeben. Eine untere Arbeitsbereichsgrenze ist nur dann sinnvoll, wenn sie größer gleich der Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 dieses Verfahrens ist. Außerdem sollen Verdünnungs- und Konzentrierungsschritte bequem und fehlerfrei realisierbar sein.

— der Linearität des funktionalen Zusammenhanges zwischen den Anzeigewerten und den Gehalten.

6.3 Abschätzung des linearen Arbeitsbereichs

Zur Prüfung der Linearität eines Arbeitsbereichs, der eine oder mehrere Dekaden überstreicht, hat sich folgendes Vorgehen, das auf der ersten Ableitung der Kalibrierfunktion beruht, bewährt:

Mindestens sechs Kalibrierlösungen mit unterschiedlichen Gehalten (x_i) ansetzen und die entsprechenden Anzeigewerte (y_i) bestimmen. Anschließend werden zum einen die Messpunkte, zum anderen die Punkt-zu-Punkt-Steigungen in ein Diagramm eingetragen und der lineare Arbeitsbereich visuell abgeschätzt (siehe 6.3.1).

Hierbei können die Gehalte äquidistante Abstände haben, auf geometrischen Reihen (z. B. 1; 2; 4; 8; ...) oder im Falle der Prüfung erwartungsgemäß großer linearer Messbereiche, wie z. B. in der ICP-MS, auf 10er-Potenzen beruhen.

Eine Mehrfachbestimmung erhöht hierbei die Sicherheit der Aussage.

Für viele Messverfahren, die ein lineares Verhalten über 2 bis 5 Dekaden zeigen, ist eine Gehaltsreihe (x_i) der Form ... 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5; 10; 20; 50; 100; ... gut geeignet.

ANMERKUNG Bei der vorgeschlagenen Form der Gehaltsreihe liegen die Gehaltsmesspunkte auf einer logarithmischen Skala in annähernd äquidistanten Abständen. Statt z. B. der Gehaltsreihe [... 0,2; 2; 20; ...] kann auch die Gehaltsreihe [... 0,25; 2,5; 25; ...] verwendet werden.

6.3.1 Visuelle Prüfung der Messdaten

Prüfung mittels x - y -Diagramm:

Die Messpunkte werden in einem Gehalts-Anzeigewert-Diagramm eingetragen und der Verlauf der Messpunkte visuell beurteilt.

ANMERKUNG Bei der Verwendung eines Tabellenkalkulationsprogramms kann die ergänzende Darstellung einer linearen Ausgleichsfunktion und vergleichend einer Ausgleichsfunktion 2. Grades (unter Angabe des Korrelationskoeffizienten oder des Bestimmtheitsmaßes) hilfreich sein.

6.3.2 Abschätzung des linearen Bereichs durch Ermittlung der Punkt-zu-Punkt-Steigung

- Zur Abschätzung des linearen Arbeitsbereichs aus den Datenpaaren von je 2 aufeinander folgenden Messpunkten abschnittsweise die Steigung b_i berechnen.

Im Falle einer linearen Kalibrierfunktion ist eine konstante Steigung zu erwarten. Da mit einem möglichen nichtlinearen Teilbereich zu rechnen ist, sollte an Stelle des arithmetischen Mittelwertes der Median der Steigungswerte verwendet werden. Die abschnittsweise berechneten Steigungen sollten im Falle eines linearen Arbeitsbereichs um den Median streuen. Ein nichtlinearer Bereich am Anfang oder am Ende fällt durch systematisch zunehmende oder fallende Abweichungen vom Median der Steigungen b_m auf.

- Zur Auswertung die Differenzen ($\Delta b_{i-m} = b_i - b_m$) der Steigungen b_i zum Median der Steigungen b_m in einem Diagramm auftragen.

Ist das Verfahren über den gewählten Arbeitsbereich linear, sind die Differenzen um den Wert Null normal verteilt (schwanken unsystematisch um Null). Auftretende Trends weisen auf einen nichtlinearen Zusammenhang zwischen Gehalt und Anzeigewert hin.

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

Im Anhang B wird das Verfahren anhand von Beispielen dargestellt.

ANMERKUNG 1 Besonders bei nicht äquidistant verteilten Messpunkten können einzelne Punkte visuell zu einer Fehleinschätzung hinsichtlich der Linearität führen. Durch die Hinzunahme weiterer Messpunkte kann die Grenze des linearen Messbereichs genauer spezifiziert werden.

In Anhang C ist als Alternative zur Abschätzung des linearen Bereichs durch Ermittlung der Punkt-zu-Punkt-Steigung die Prüfung des linearen Arbeitsbereichs mithilfe des empirischen Krümmungstests beschrieben. Beide Verfahren führen zu demselben Ergebnis.

ANMERKUNG 2 Ein Excel-Arbeitsblatt zur Prüfung des linearen Arbeitsbereichs steht auf der Homepage der Wasserchemischen Gesellschaft - Fachgruppe in der Gesellschaft Deutscher Chemiker e.V. (GDCh) - zum Download zur Verfügung. Darin sind auch verschiedene Beispieldatensätze enthalten.

7 Kalibrierstrategien

7.1 Allgemeines

Die für eine Substanz ermittelte Kalibrierfunktion gilt nur für den abgedeckten Arbeitsbereich. Sie ist außerdem abhängig vom Betriebszustand des Messgerätes und muss in jeder Untersuchungsserie geprüft werden (siehe Abschnitt 8). Die Kalibrierfunktion ist gültig, solange die Anforderungen an die Messunsicherheit erfüllt sind.

Die Messunsicherheit von Analyseergebnissen beinhaltet die Beiträge von zufälliger und systematischer Abweichung. Die Ermittlung der Messunsicherheit anhand von Qualitätssicherungsdaten ist in DIN ISO 11352 beschrieben. Die Kalibrierung selbst bringt einen Beitrag zu den zufälligen und den systematischen Abweichungen ein, je nachdem wie viele Kalibrierniveaus mit wie vielen Parallelbestimmungen ausgeführt werden, oder inwieweit schon bei der Kalibrierung eine Korrektur von matrixbedingten systematischen Abweichungen erfolgt oder nicht. Demzufolge kann je nach erforderlicher Messunsicherheit bei den Analysen die Auswahl mehr oder weniger aufwendiger Kalibrierstrategien erfolgen. Im gleichen Zusammenhang werden in dieser Norm keine festen Vorgaben zur Anzahl der Kalibrierniveaus, Anzahl der Standardadditionen oder der Parallelbestimmungen gemacht.

Für die Aufstellung der Kalibrierfunktionen werden fünf Arbeitsweisen beschrieben:

- a) Kalibrierung des Messverfahrens mit externem Standard;
- b) Kalibrierung des Messverfahrens mit internem Standard;
- c) Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit externem Standard;
- d) Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit internem Standard;
- e) Kalibrierung nach dem Verfahren der Standardaddition.

Dabei können folgende Möglichkeiten zum Arbeitsbereich und zur Anzahl der Kalibrierniveaus genutzt werden:

- Bei Ein-Punkt-Kalibrierung ein Gehaltsniveau am oberen Ende des Arbeitsbereichs wählen. Blindwerte müssen vernachlässigbar sein.
- Sind Blindwerte nicht zu vernachlässigen oder schwankend, mindestens ein weiteres Gehaltsniveau nahe dem unteren Ende des Arbeitsbereichs messen und den Nullpunkt bei der Berechnung der Kalibrierfunktion nicht mit einschließen.
- Bei Mehrpunktekalisierung die Gehaltsniveaus über den Kalibrierbereich verteilen.
- Bei Ein- und Zwei-Punkte-Kalibrierung mindestens drei Messungen auf jedem Gehaltsniveau durchführen.

Das geringste Gehaltsniveau des Kalibrierbereichs muss größer gleich der Bestimmungsgrenze sein. Die Ermittlung der Nachweisgrenze und Bestimmungsgrenze erfolgt nach dokumentierten Verfahren, z. B. nach DIN 38402-60 oder DIN 32645.

In Tabelle 1 sind die Rahmenbedingungen und Anwendungsbereiche der verschiedenen Kalibrierstrategien zusammengefasst.

ANMERKUNG In einigen Softwarepaketen wird für große Arbeitsbereiche die Möglichkeit der Wichtung mit $1/x$ angeboten, um gegebenenfalls die Richtigkeit im unteren Teil des Arbeitsbereichs zu verbessern. Im informativen Anhang D ist dieses Wichtungsverfahren mit den Berechnungsformeln dargestellt.

Tabelle 1 — Übersicht der verschiedenen Kalibrierstrategien (1 von 2)

Kalibrierverfahren	Abschnitt	Eigenschaften/ Rahmenbedingungen	Bevorzugter Anwendungsbereich
a) Kalibrierung des Messverfahrens mit externem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate des Analyten	7.3	— matrixfreie Kalibrierlösung; — Abszisse: Gehaltswerte; — Ordinate: Anzeigewerte; — Gehaltswert der Probe wird ungeachtet der Matrix der Probe aus dem Anzeigewert der Probe und der Kalibrierfunktion bestimmt; — Matrixeinfluss oder verfahrensbedingte Einflüsse werden über die Wiederfindungsrate aufgestockter realer oder synthetischer Proben korrigiert, sofern notwendig.	Analyseverfahren, bei denen aufgrund von Erfahrungen aus Normungsverfahren oder laborinternen Validierungen bekannt ist, dass die Wiederfindungsraten weitgehend konstant sind.
b) Kalibrierung des Messverfahrens mit internem Standard, mit Bestimmung der Wiederfindungsrate des internen Standards	7.4	— Matrixfreie Kalibrierlösung mit internem Standard; — Abszisse: Quotient des Gehalts des Analyten in der Kalibrierlösung durch den Gehalt des internen Standards in der Kalibrierlösung; — Ordinate: Quotient des zugehörigen Anzeigewerts der Standardsubstanz durch den Anzeigewert des internen Standards; — Gehaltswert der Probe wird ermittelt aus dem Quotienten der Anzeigewerte des Analyten und des internen Standards und der Kalibrierfunktion; — Durch das Zusetzen des internen Standards zur Probe vor der Probenaufarbeitung werden Matrixeinflüsse korrigiert.	Analyseverfahren, bei denen die Matrices bei der Probenvorbereitung verschiedener Proben in nicht zu vernachlässigendem und nicht vorhersagbarem Maße die Messergebnisse beeinflussen.

Tabelle 1 (2 von 2)

Kalibrierverfahren	Abschnitt	Eigenschaften/ Rahmenbedingungen	Bevorzugter Anwendungsbereich
c) Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit externem Standard	7.5	— synthetische Proben oder analytfreie reale Proben werden mit Analyt zur Herstellung von Kalibrierproben aufgestockt und dem gesamten Verfahren unterzogen; — Abszisse: Gehaltswerte; — Ordinate: Anzeigewerte; — Gehaltswert der Probe wird ungeachtet der Matrix der Probe aus dem Anzeigewert der Probe und der Kalibrierfunktion bestimmt; — Matrixeinfluss wird über Wiederfindungsrate aufgestockter Proben korrigiert.	Analyseverfahren, bei denen aufgrund von Erfahrungen aus Normungsverfahren oder laborinternen Validierungen bekannt ist, dass matrixbedingte Störungen vorhanden sind, diese sich jedoch in Betrag und Richtung in der Regel gleichartig auf die Anzeigewerte auswirken.
d) Kalibrierung des Gesamtverfahrens mit internem Standard	7.6	— zur Herstellung von Kalibrierproben werden synthetische oder analytfreie reale Proben mit Analyt aufgestockt und mit internem Standard dotiert und diese Proben dann dem gesamten Verfahren unterzogen; — Abszisse: Quotient des Gehalts des Analyten in der Kalibrierprobe durch den Gehalt des internen Standards in der Kalibrierprobe; — Ordinate: Quotient des zugehörigen Anzeigewerts der Standardsubstanz durch den Anzeigewert des internen Standards; — Durch das Zusetzen des internen Standards zur Probe vor der Probenaufarbeitung werden Matrixeinflüsse korrigiert.	Analyseverfahren, bei denen die Matrices bei der Probenvorbereitung verschiedener Proben in nicht zu vernachlässigendem und nicht vorhersagbarem Maße die Messergebnisse beeinflussen. Analyseverfahren, bei denen der Analyt bei der Probenvorbereitung in eine andere Form überführt wird, die nicht als Standardsubstanz verfügbar ist.
e) Kalibrierung nach dem Verfahren der Standardaddition	7.7	— Die Probe selbst wird zur Herstellung der Kalibrierproben durch Aufstocken mit Analyt verwendet; — Abszisse: Aufstockungsgehalte; — Ordinate: zugehörige Anzeigewerte; — Gehaltswert der Probe wird durch Division des Anzeigewerts der nicht aufgestockten Probe durch die Steigung der Kalibrierfunktion ermittelt.	Analyseverfahren, von denen bekannt ist, dass jede Matrix signifikant und in nicht vorhersagbarer Weise den Anzeigewert beeinflusst.

7.2 Berechnung der Kalibrierfunktion

Aus den Kalibrierdatenpaaren (x_i und y_i) werden nach den Regeln der einfachen linearen Regression die Koeffizienten a und b der Kalibriergeraden berechnet, die den linearen Zusammenhang zwischen dem Gehalt x als unabhängige Veränderliche und dem Anzeigewert y als abhängige Veränderliche beschreibt.

Bei der Anwendung der einfachen linearen Regression werden die Unsicherheiten der Gehalte vernachlässigt.

Die Kalibrierfunktion resultiert nur aus solchen Daten, denen ein durch die Standardgehalte (x_1 bis x_N) bestimmter Arbeitsbereich zugrunde liegt, d. h., es erfolgt keine Subtraktion des Blindwertes von den einzelnen Anzeigewerten.

Die Kalibrierfunktion lautet somit:

$$y = a + b \cdot x \quad (1)$$

Dabei ist

- y der Anzeigewert;
- a der Achsenabschnitt der Kalibriergeraden;
- b die Steigung der Kalibriergeraden;
- x der Gehalt des Analyten.

Die Koeffizienten der Kalibrierfunktion ergeben sich nach folgenden Gleichungen:

Steigung der Kalibrierfunktion:

$$b = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

Dabei ist

- x_i der Gehalt des Analyten in der Kalibrierlösung i ;
- $\bar{x}$ der Mittelwert der Gehalte x_i ;
- y_i der Anzeigewert der Kalibrierlösung i ;
- $\bar{y}$ der Mittelwert der Anzeigewerte y_i .

Ordinatenabschnitt

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x} \quad (3)$$

Daraus ergibt sich die allgemeine Auswertefunktion, die ggf. entsprechend den Kalibrierstrategien angepasst werden muss:

$$x = \frac{(y - a)}{b} \quad (4)$$