Der wahre Wert

Anforderungen an die Kalibration von Analysemethoden

Dr. Jürgen Kuballa, GALAB Laboratories GmbH, Geesthacht

Die rechtliche Bewertung von Rückständen in Lebensmitteln setzt voraus, dass der Messwert dem wahren Wert (engl.: true value) entspricht. Doch der wahre Wert einer Größe kann aber aufgrund der Messunsicherheit niemals exakt bestimmt werden. Welche Faktoren beeinflussen aber das Ergebnis und welche Anforderungen ergeben sich daraus für die Kalibration von Analysenmethoden?

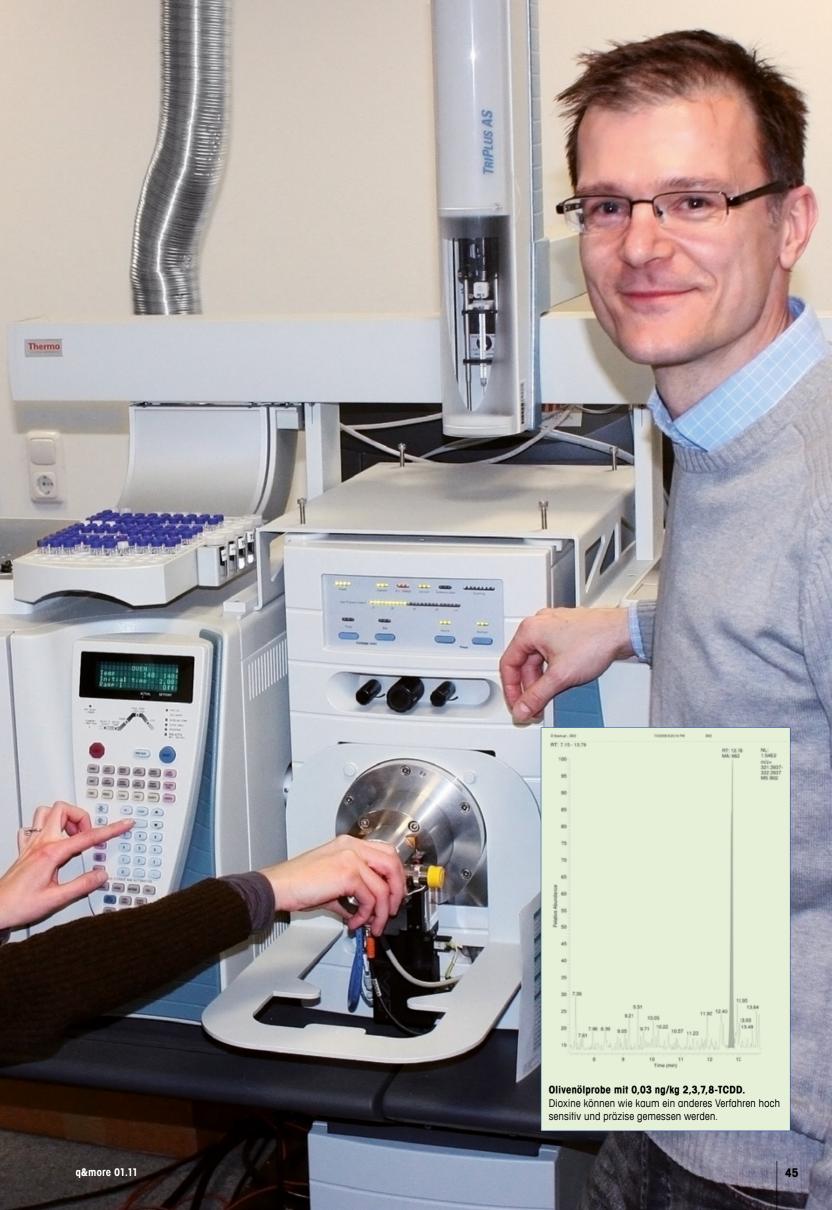
Einflüsse auf das Ergebnis haben neben der Probenvorbereitung und der Matrix die Art der Kalibrierung und der Einsatz von internen, insbesondere isotopenmarkierten Standards. In der Rückstandsanalytik werden interne Standards eingesetzt, um Matrixeinflüsse zu kompensieren. Idealerweise ist die Extraktionsausbeute des internen Standards dem Zielanalyten ähnlich. Die Extraktionsausbeute sollte nach Möglichkeit über 70 % liegen, damit der Einfluss der Matrix auf das Ergebnis gering und die Messunsicherheit klein ist. Die Wiederfindungsrate berechnet sich dann aus dem Verhältnis der gemessenen Konzentration zur Sollkonzentration. Im Falle eines Referenzmaterials wäre dies der zertifizierte Wert.

In der Dioxinanalytik wird für jede Zielsubstanz ein äquivalenter, isotopenmarkierter interner Standard der Probe zugesetzt. Dadurch können Matrixeffekte bei der Probenvorbereitung ideal abgebildet werden. Vor der Messung werden zudem zwei weitere C13-markierte Wiederfindungsstandards zugesetzt.

Tab. 1 Ergebnisse des FAPAS Ringversuchs #0645 Dioxine in "Cod Liver Oil"

Analyte	assigned value ng/kg			# of satisfactory scores	total # of scores	satisfactory %
Ortho-PCBs						
WHO-ortho-PCB-REQ, lower	3,25	3,182	-0,1	18	22	82
WHO-ortho-PCB-REQ, upper	3,25	3,182	-0,1	18	22	82
Non-Ortho-PCBs						
WHO-non-ortho-PCB-TEQ. Lower	8,07	8,64	0,3	21	21	100
WHO-non-ortho-PCB-TEQ. Upper	8,07	8,64	0,3	21	22	95
Dioxins						
WHO-dioxin-TEQ, lower	2,70	2,432	-0,5	24	25	96
WHO-dioxin-TEQ,upper	2,76	2,6	0,3	26	26	100







Jürgen Kuballa, geboren 1964, studierte Chemie an der Universität Köln und promovierte 1996 an der Technischen Universität Hambura-Harburg. Seine Forschungen auf dem Gebiet der analytischen Chemie führte er am GKSS-Forschungszentrum in Geesthacht durch. Während seiner Promotion gründete er zusammen mit Eckard Jantzen die Handelslabor GALAB Laboratories GmbH, deren Geschicke er bis heute mitbestimmt. 1998 gründete er das Biotechnologieunternehmen GALAB Technologies GmbH, das Testsysteme für die Glycobiologie entwickelt. Seit 2000 ist Kuballa aktives Mitglied im Arbeitskreis Tierarzneimittel der GdCh-Fachgruppe Lebensmittelchemie. Seine analytische Expertise ist in nationalen und internationalen Verbänden und öffentlichen Gremien gefragt. Die Forschungsziele sind auf die Entwicklung neuer innovativer Verfahren zur Rückstandanalyse von Lebensmitteln gerichtet.

Diese dienen zur Berechnung der Extraktionsausbeute. Auf diese Weise können hochpräzise und vergleichbare Ergebnisse bis in den pg/kg-Bereich erzielt werden (Abb.). Die Tabelle 1 zeigt das Ergebnis eines Dioxinringversuchs.

Problematisch wird es, wenn keine internen Standards zur Verfügung stehen oder wie bei der Pestizidanalytik die Anzahl der Parameter zu groß ist. Dieser Kompromiss führt zwangsläufig zu größeren Messunsicherheiten in der Analytik. Die SANCO 10684/2009 schreibt daher eine matrixangepasste Kalibrierung vor, die die Probenvorbereitung einschließt. Die Wiederfindungsrate sollte zwischen 70 und 120 % liegen. Den Vorteil dieser Kalibrierung zeigt die Auswertung eines Ringversuches.

Aus der Auswertung von Ringversuchen erhält man den robusten Mittelwert. Im besten Fall sind die Messergebnisse homogen verteilt und die Standardabweichung liegt unter dem nach der Horwitz-Gleichung berechneten Wert. Der Mittelwert entspricht dann, so die vorherrschende Meinung, auch dem wahren Wert. Die tatsächlich dotierte Menge wird manchmal genannt, fließt meistens aber nicht in die Bewertung ein.

Ringversuche gelten als bestanden, wenn der eigens ermittelte Wert innerhalb der doppelten Standardabweichung des Mittelwertes liegt (Z-Score Auswertung). Was jedoch, wenn der eigene Z-Score größer als 2 ist, das Ergebnis aber in der Nähe des dotierten Levels liegt?

Wie stark der Mittelwert (aasigned value) vom dotierten Gehalt abweichen kann, zeigt eine Auswertung des FAPAS-Ringversuchs 19111 Pestizide in Blaubeeren (Tab. 2). Die Mittelwerte liegen bei ca. 80 % des dotierten Levels, für p,p'-DDT sogar nur bei 60 %. Aus den Homogenitätsdaten p,p'-DDT wurde interpretiert, dass sich die Substanz während der Herstellung des Ringversuchmaterials teilweise abgebaut hat. Die eigenen Ergebnisse widersprechen aber dieser Ansicht. Für alle Komponenten einschließlich p,p'-DDT wurde eine Wiederfindung von 100–125 % des dotierten Levels erzielt. Dies legt den Schluss nahe, dass die Komponenten stabil und homogen in der Probe verteilt sind. Wie können diese Daten interpretiert werden und welche Auswirkungen kann dies auf folgende Ringversuche haben?

Die matrixangepasste Kalibrierung ist in der Pestizidanalytik der neue Standard und hat die Kalibrierung gegen Lösemittelstandards ablöst. Auf diese Weise können Matrixeffekte im Ergebnis besser berücksichtigt werden. Es wird daher anzunehmen sein, dass sich der Mittelwert bei Ringversuchen zukünftig dem dotierten Level annähern wird.

juergen.kuballa@galab.de

Tab. 2 Zusammenfassende Auswertung des FAPAS-Ringversuches 19111 Pestizide in Blaubeeren. Neben dem Mittelwert (assigned value) sind auch die dotierten Konzentrationen (Spike Level) angegeben. Die Wifi des Spikes gibt die Wiederfindung zur dotierten Konzentration an. Der Z-Score gibt die Abweichung vom Mittelwert an.

analyte	Spike Level µg/kg	Assigned Value µg/kg	result µg/kg	Z-Score	Wifi des Spikes %	number of satisfactory	total number of scores	Satisfactory %
Cyprodinil	187	142	200	1,9	107	40	48	83
p,p'-DDT	300	187	300	2,9	100	25	39	64
Iprodione	160	133	200	2,3	125	32	40	80
Myclobutanil	37	29,6	40	1,6	108	35	43	81
Pirimicarb	250	203	250	1,2	100	37	43	86

46 q&more 01.11