

1.2 Messunsicherheit

Jeder gemessene Wert x einer physikalischen Größe ist stets mit einer **Messunsicherheit** behaftet und stellt somit nur einen Schätzwert für den prinzipiell unbekanntem wahren Wert μ dar.

Aufgabe des Analytikers ist es, zu dem Schätzwert eine Messunsicherheit Δx anzugeben, derart, dass der wahre Wert in dem durch die Messunsicherheit definierten Intervall vermutet werden kann.

Messunsicherheit ist kein Negativkriterium, kein Mangel an Analysen-Leistung.

Leitsatz: **"Ein Analyseergebnis ohne Angabe eines Fehlers ist wertlos."**

Jede Messung ist prinzipiell fehlerhaft.

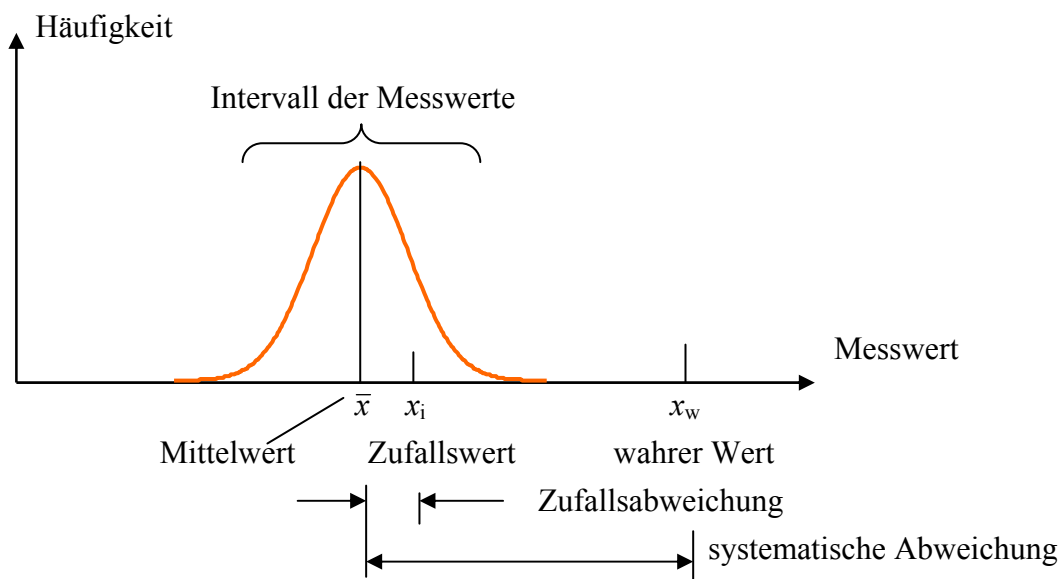
Zwei (drei) Arten von Fehlern:

- **Zufallsfehler** betreffen die **Reproduzierbarkeit**
Zufällige (statistische) Abweichungen beschreiben die Reproduzierbarkeit eines Messergebnisses bei Mehrfachmessungen (\rightarrow).
- **Systematische Fehler**, betreffen die **Richtigkeit**
Systematische Abweichungen haben ihre Ursache z. B. in einer fehlerhaften Kalibrierung der Messgeräte oder unsachgemäßem Vorgehen bei der Probennahme / Probenaufbereitung (\rightarrow).
- **Fehlergrenzen von Messgeräten**
Fehlergrenzen von Messgeräten stellen vereinbarte Höchstbeträge für Abweichungen der Anzeige vom Sollwert dar, die aus Schwankungen bei der Herstellung der Messgeräte herrühren. Sie sind i. a. durch die Eichordnung bzw. durch DIN-Vorschriften festgelegt.

Zufällige Fehler ergeben ein unsicheres Analyseergebnis.

Systematische Fehler ergeben ein falsches Analyseergebnis.

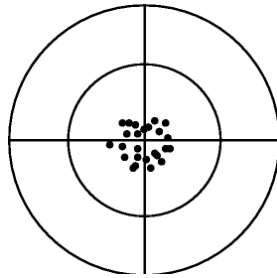
Häufigkeit der Messwerte (zufällige und systematische Abweichungen)



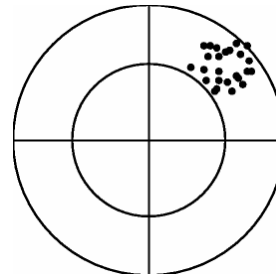
Genauigkeit einer Messung

Die Begriffe Reproduzierbarkeit (Zufallsfehler) und Richtigkeit (systematische Fehler) können graphisch mit dem **Schießscheibendiagramm** verdeutlicht werden.

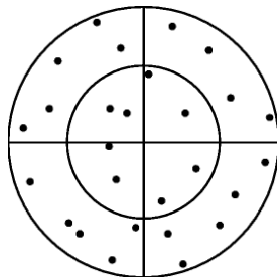
reproduzierbar
und
richtig



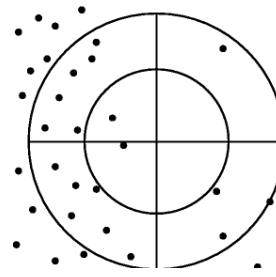
reproduzierbar
aber
falsch



schlecht
reproduzierbar
aber richtig



schlecht
reproduzierbar
und falsch



Präzision (reproduzierbar) + Richtigkeit = Genauigkeit

Systematische Abweichungen

Ungenauigkeiten der Messinstrumente, fehlerhafte Kalibrierung.

Wiederholung verkleinert nicht den systematischen Fehler.

Abweichung der Messwerte immer nur nach einer Seite vom wahren Wert.

Grundsätzlich falsches Ergebnis

Ursachen: z. B. logische Denkfehler, falsche Konzentrationen von Kalibrierlösungen, Kalibrierfehler, Kontaminationen oder Verluste, Matrixeffekte

Erkennen systematischer Fehler: nur auf experimentellem Wege möglich, Austausch von Messinstrumenten / Ringanalysen / Ringversuche

1.2.1 Statistische Behandlung von Zufallsabweichungen (→ VL Statistik / Versuchsplanung)

Zufallsfehler sind (zufällige = statistische) positive und negative Abweichungen um einen bestimmten Mittelwert. Streuen die Messwerte einer Messreihe in beiden Richtungen symmetrisch um den Mittelwert, dann liegt eine Normalverteilung vor, und man kann mit Hilfe des Normalverteilungsgesetzes Wahrscheinlichkeitsaussagen über die Genauigkeit der Messungen machen.

Zufallsfehler z. B. aus Ableseungenauigkeiten, aus Temperaturschwankungen oder elektronischem Rauschen.

1.2.1.1 Theorie (sehr große Anzahl von Messungen)

Wird eine physikalische Größe n -mal gemessen, wobei n eine sehr große Zahl sein soll ($n \rightarrow \infty$), und sind die einzelnen Messwerte x_i (Beobachtungswerte) um einen Mittelwert normalverteilt, dann bilden die Beobachtungswerte eine Grundgesamtheit, die durch das **Normalverteilungsgesetz** (Gauß-Verteilung) beschrieben werden kann. Aus dem Normalverteilungsgesetz erhält man die für die Verteilung charakteristischen Größen (statistischen Kennwerte) zu:

(x_i Einzelmesswert, n Wiederholungen)

$$\mu = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$$\sigma = \lim_{n \rightarrow \infty} \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}$$

Erwartungswert der statistischen Grundgesamtheit von Daten x , die prinzipiell existieren.
Wahrer Mittelwert der Gesamtheit x

Varianz oder
Standardabweichung der Grundgesamtheit

Die Standardabweichung (Varianz) ist ein Maß für die Unsicherheit des einzelnen Messwerts x_i , bzw. des Messverfahrens. Mit der Standardabweichung lässt sich ein **Vertrauensbereich** angeben, innerhalb dessen der wahre Werte mit einem vorgegebenen Grad an Wahrscheinlichkeit (**Vertrauensniveau P**) liegt. Die so definierten Grenzen werden **Vertrauensgrenzen CL** (confidence limit) genannt.

So darf man z. B. für $P = 0,683$ mit 68,3 %-iger Sicherheit annehmen, dass der wahre Wert μ innerhalb des Intervalls $x_i \pm \sigma$ für jede beliebige Einzelmessung x_i der Grundgesamtheit liegt, oder bei $P = 0,955$ mit 95,5 %-iger Wahrscheinlichkeit innerhalb des Intervalls $x_i \pm 2\sigma$, also:

$$CL \text{ für } \mu \rightarrow x_i \pm z\sigma \quad \text{Vertrauensgrenzen für } \mu \text{ bei einer Einzelmessung} \quad (1.1)$$

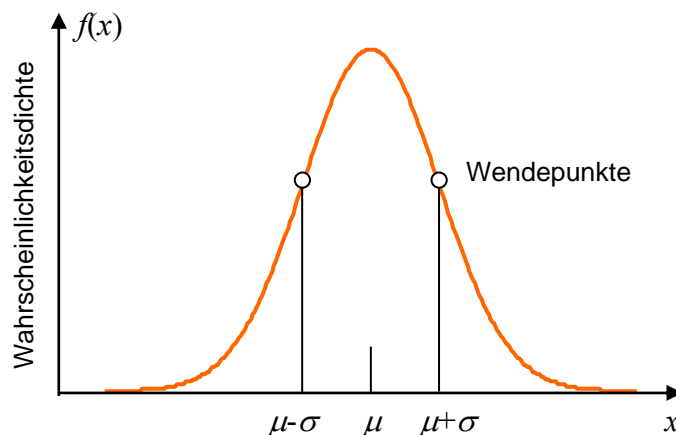
z ist ein tabellierter Wert für das gewählte Vertrauensniveau (z hat z. B. den Wert 1 für das Vertrauensniveau von 68,3 %, den Wert 2 für das Vertrauensniveau 95,5 %).

Gaußsche Verteilungsfunktion, Normalverteilung

Durch die Gaußsche Verteilungsfunktion wird theoretisch die Verteilung von Messwerten mit rein zufälliger, d. h. statistisch verteilter Streuung beschrieben.

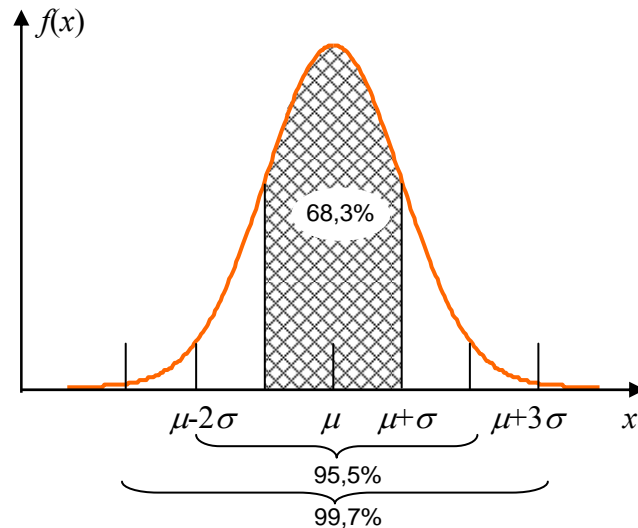
Der Erwartungswert μ ist identisch mit dem Maximum der Gaußschen Verteilungsfunktion $f(x)$.

Die Standardabweichung σ der Gaußschen Verteilungsfunktion ist identisch mit dem Abstand der Wendepunkte der Verteilungsfunktion vom Maximum.



$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (\text{normiert})$$

Aus dem Integral über die Gaußsche Verteilungsfunktion ist ein quantitativer Wert für die Wahrscheinlichkeit, einen Messwert innerhalb eines bestimmten Bereiches anzutreffen, ablesbar.



Es gelten folgende Aussagen:

Im Bereich

von	$\mu - \sigma$	bis	$\mu + \sigma$	sind 68,3 %	aller Messwerte zu finden
von	$\mu - 2\sigma$	bis	$\mu + 2\sigma$	sind 95,5 %	aller Messwerte zu finden
von	$\mu - 3\sigma$	bis	$\mu + 3\sigma$	sind 99,7 %	aller Messwerte zu finden

Die Wahrscheinlichkeit einen Einzelmesswert im Bereich

von	$\mu - \sigma$	bis	$\mu + \sigma$	zu erhalten	beträgt 68,3 %
von	$\mu - 2\sigma$	bis	$\mu + 2\sigma$	zu erhalten	beträgt 95,5 %
von	$\mu - 3\sigma$	bis	$\mu + 3\sigma$	zu erhalten	beträgt 99,7 %

1.2.1.2 Praxis (endliche Anzahl von Messungen)

In der Praxis hat man es üblicherweise nur mit einer geringen Zahl von Messwerten zu tun. Man spricht dann von einer **Stichprobe**. Die Gesetze der Statistik gelten exakt nur für Grundgesamtheiten (unendlich viele Messwerte). Ist die Stichprobe von Messdaten jedoch repräsentativ für die Grundgesamtheit, dann kann man auch mit ihr Wahrscheinlichkeitsaussagen über die Genauigkeiten der Messungen machen.

Für eine Stichprobe ergeben sich untenstehende Ausdrücke für den

Mittelwert \bar{x} (wahrscheinlichster Wert, Schätzwert für μ) und für die Standardabweichung s_x (Streuung der Messwerte, Schätzwert für σ).

Da mit einer Stichprobe nur eine endliche Anzahl von Messwerten vorliegt, ist es aber prinzipiell nicht möglich, den wahren Wert μ und dessen Standardabweichung (Varianz) σ zu bestimmen.

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

Arithmetischer Mittelwert der Stichprobe
Wahrscheinlichster Wert für x
Schätzwert für den wahren oder Erwartungswert μ

$$s_x = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Streuung der Einzelmesswerte (Stichprobe)
(„Standardabweichung“ ist nicht ganz korrekt)
Mittlerer Fehler der Einzelmessung x_i
 s_x ist charakteristisch für das Messverfahren
($s_x \rightarrow \sigma = \text{const}$ für $n \rightarrow \infty$)

Führt man mehrere Stichproben mit der gleichen Messgröße x durch, dann erhält man für jede Stichprobe einen etwas anderen Mittelwert \bar{x} , d. h., auch die Mittelwerte streuen. Sind die Messwerte normalverteilt, dann kann man auch für den Mittelwert eine Standardabweichung $s_{\bar{x}}$ angeben:

$$s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Streuung des Mittelwertes
„empirische Streuung“ des Mittelwertes
(geht gegen Null für $n \rightarrow \infty$)

Vertrauensbereich, Vertrauensgrenze (CL = confidence limit)

Der **Vertrauensbereich** (auch Vertrauensintervall genannt) ist ein Maß für die Zuverlässigkeit des Einzelwertes x_i (oder Mittelwertes \bar{x}). Er bestimmt den Bereich um den Einzelwert x_i (oder Mittelwert \bar{x}), innerhalb dessen der wahre Wert μ mit einer bestimmten statistischen Sicherheit (**Vertrauensniveau P**), liegt (siehe oben).

Liegen sehr viele Messungen vor (n groß) darf man schreiben:

$$\text{CL für } \mu \rightarrow x_i \pm z s_x$$

Vertrauensgrenzen für μ bei Einzelmessung
Vertrauensbereich für μ bei Einzelmessung $[x_i - z s_x; x_i + z s_x]$
(μ liegt im Intervall zwischen $x_i - z s_x$ und $x_i + z s_x$)
Unsicherheit der Einzelmessung $\Delta x_i = \pm z s_x$

$$\text{CL für } \mu \rightarrow \bar{x} \pm z \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Vertrauensgrenze für μ bei Mittelwertbestimmung
Vertrauensbereich für μ bei Mittelwertbestimmung $[\bar{x} - z \frac{s_x}{\sqrt{n}}; \bar{x} + z \frac{s_x}{\sqrt{n}}]$
Unsicherheit des Mittelwertes $\Delta \bar{x} = \pm z s_x / \sqrt{n}$

Die obigen Beziehungen gelten streng nur für die stat. Gesamtheit.

Liegen nur wenige Messwerte vor, oder wurde nur eine Stichprobe genommen, muss davon ausgegangen werden, dass die „Standardabweichung“ s_x sich merklich von der Standardabweichung σ der Grundgesamtheit unterscheidet.

Dem begegnet man, indem man in der obigen Gleichungen den Faktor z für das jeweilige Vertrauensniveau P durch den Faktor t ersetzt (t -Faktor; Student-Faktor). Der t -Faktor ist vom Vertrauensniveau P und von der Anzahl der Messungen n abhängig.

Es ergibt sich ein durch Dehnung korrigiertes Vertrauensintervall, mit dessen Hilfe sich wieder genaue Wahrscheinlichkeitsangaben formulieren lassen.

$$\pm t \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

“korrigiertes“ Vertrauensintervall für Mittelwerte

$t =$ **Studentfaktor**

t ist tabelliert und hängt vom Vertrauensniveau P (68%, 95% etc.) und der Anzahl der Freiheitsgrade ($n-1$) ab; n ist die Zahl der Einzelmesswerte.

$$\bar{x} \pm t \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Vertrauensgrenze CL für μ

$$\mu \rightarrow \bar{x} \pm t_{P,n} \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Unsicherheit des Mittelwertes

Bereich in dem der wahre Wert μ mit der bestimmten stat. Sicherheit P liegt.

Freiheitsgrad n - 1	Vertrauensniveau P						
	50	90	95	98	99	99.5	99.9
1	1.000	6.314	12.706	31.821	63.657	127.32	636.619
2	0.816	2.920	4.303	6.965	9.925	14.089	31.598
3	0.765	2.353	3.182	4.541	5.841	7.453	12.924
4	0.741	2.132	2.776	3.747	4.604	5.598	8.610
5	0.727	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	6.869
6	0.718	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.959
7	0.711	1.895	2.365	2.998	3.500	4.029	5.408
8	0.706	1.860	2.306	2.896	3.355	3.832	5.041
9	0.703	1.833	2.262	2.821	3.250	3.690	4.781
10	0.700	1.812	2.228	2.764	3.169	3.581	4.587
15	0.691	1.753	2.131	2.602	2.947	3.252	4.073
20	0.687	1.725	2.086	2.528	2.845	3.153	3.850
25	0.684	1.708	2.068	2.485	2.787	3.078	3.725
30	0.683	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.646
40	0.681	1.684	2.021	2.423	2.704	2.971	3.551
60	0.679	1.671	2.000	2.390	2.660	2.915	3.460
120	0.677	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.373
∞	0.674	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.291

Tabelle: Werte für den t -Faktor nach Student

Beispiel: Berechnung des Vertrauensintervalls

Der Kohlenhydratgehalt eines Glycoproteins (ein Protein mit gebundenen Zuckermolekülen) wird in Wiederholungsanalysen bestimmt. Es werden 12,6; 11,9; 13,0; 12,7; und 12,5 gr Kohlenhydrat pro 100 gr Protein gefunden. Wie groß sind die Vertrauensintervalle für den Kohlenhydratgehalt bei 50% (90%) Wahrscheinlichkeit (Vertrauensniveau) ?

$$\bar{x} = \frac{1}{5} \sum_{i=1}^5 x_i = 12,54 \text{ gr} \quad ; \quad s_x = \sqrt{\frac{1}{4} \sum_{i=1}^5 (x_i - 12,54)^2} = 0,4 \text{ gr}$$

$$\mu = \bar{x} \pm t \frac{s_x}{\sqrt{n}} = (12,54 \pm \frac{0,741 \cdot 0,4}{\sqrt{5}}) \text{ gr} = (12,54 \pm 0,13) \text{ gr}$$

1.3 Kalibrierung

1.3.1 Überblick

In der Regel wird in der Instrumentellen Analytik eine Probe mit unbekanntem Gehalt des Analyten mit einer Reihe von Kalibrierproben verglichen. Die Kalibrierproben weisen entweder unterschiedliche, aber bekannte Gehalte des Analyten auf („**Kalibrierung mit einfachen Standards**“) oder enthalten unterschiedliche, zur Originalprobe addierte Mengen des Analyten („**Kalibrierung nach dem Standard-Additionsverfahren**“).

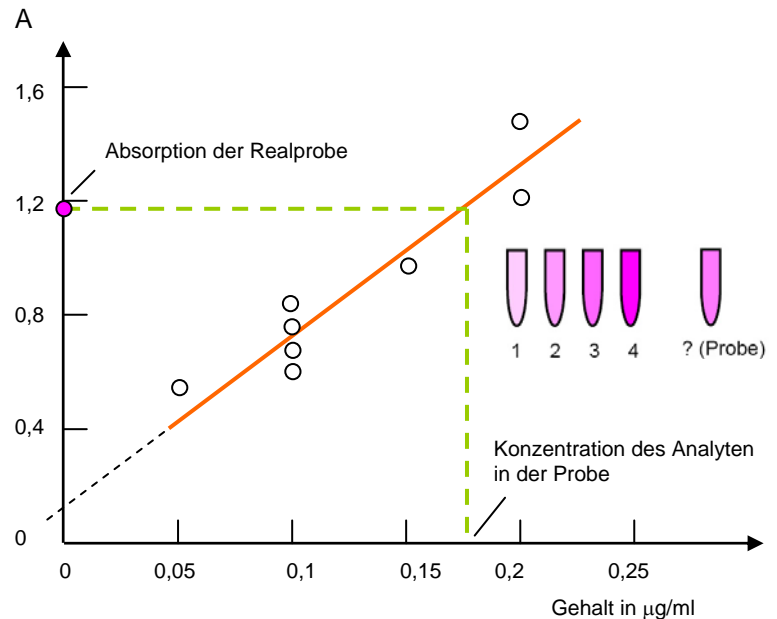
Methode 1: **einfache Standards** (äußere Standards)

Lösung des Analyten in reinem Lösungsmittel.

Es werden (mindestens 3) Kalibrierlösungen hergestellt, die den zu quantifizierenden Analyten in ähnlicher Konzentration enthalten wie die Analysenlösung (Realprobe). Die Konzentration der Analysenlösung soll zwischen der höchst- und der niedrigst-konzentrierten Kalibrierlösung liegen.

Die Kalibrierlösungen und die Realprobe werden vermessen.

Mittels linearer Regression wird eine Ausgleichsgerade erstellt, mit der die Konzentration des Analyten bestimmt werden kann.



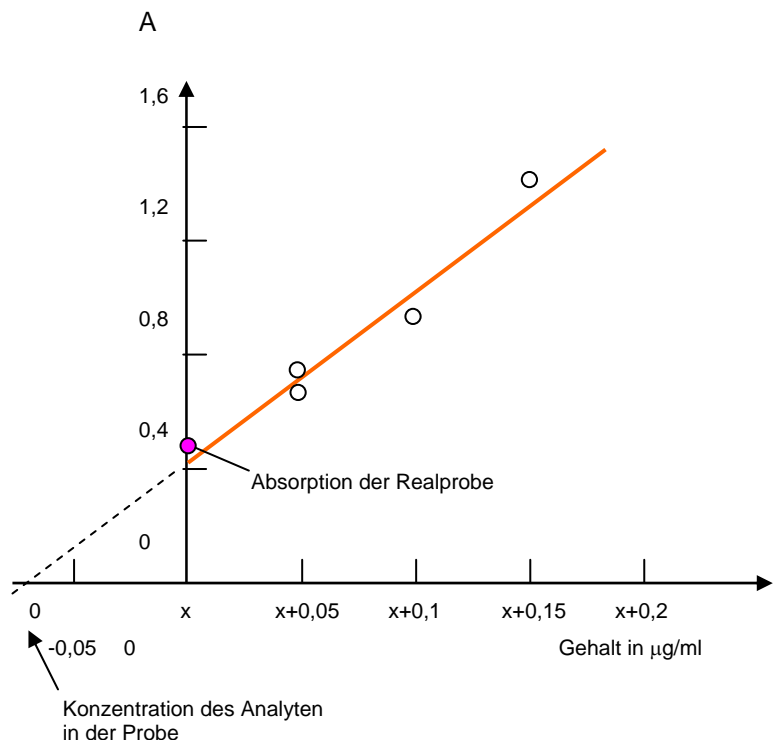
Methode 2: **Standardaddition**

In (mindestens 3) gleich große Messkolben werden jeweils identische Volumina der Analysenlösung gegeben. Dann gibt man in jeden Kolben unterschiedliche, aber bekannte Volumina derselben Kalibrierlösung und füllt schließlich alle Kolben mit reinem Lösungsmittel zum gleichen Gesamtvolumen auf.

Die Proben werden vermessen.

Aus den Messwerten wird eine Regressionsgerade ermittelt.

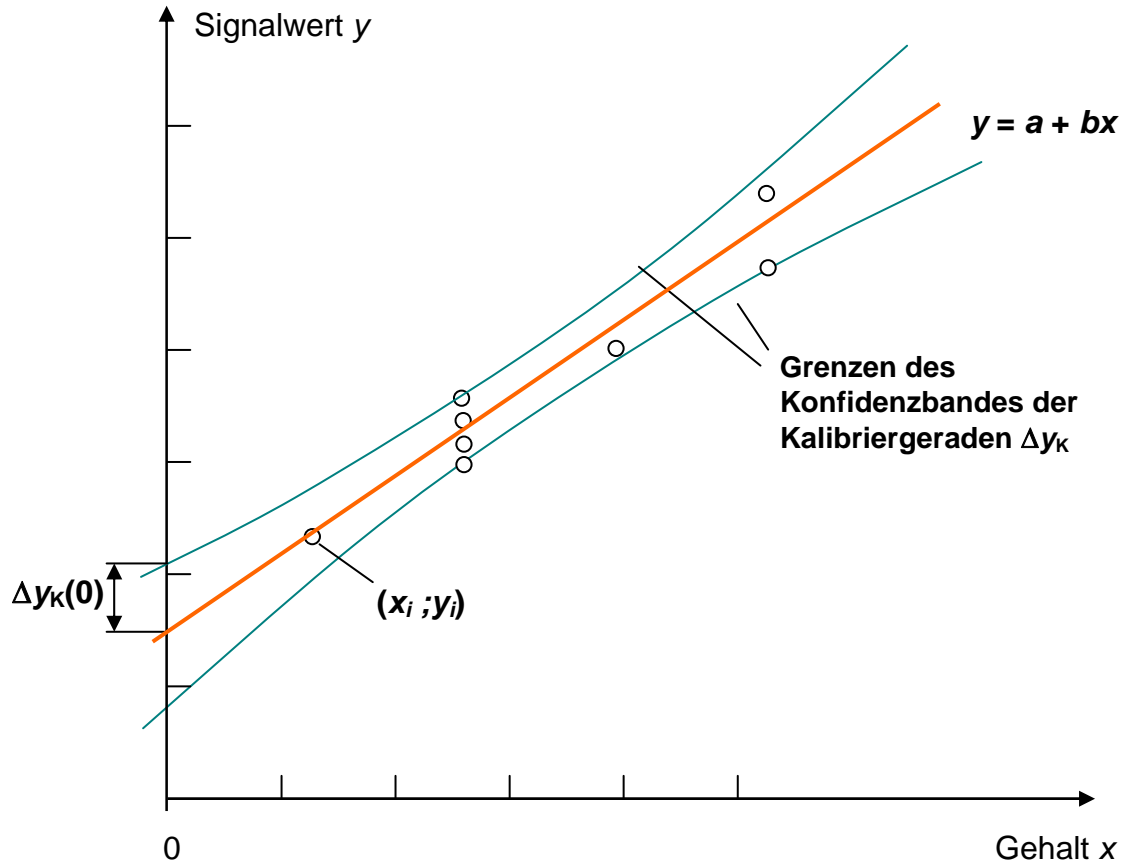
Der Schnittpunkt mit der x-Achse ergibt die gesuchte Konzentration.



(Methode 3: **Innere Standards**)

1.3.2 Die Kalibriergerade

Bei der Kalibrierung mit einfachen Standards wird aus den (x_i, y_i) -Wertepaaren, die durch Analyse der Kalibrierproben erhalten wurden, eine lineare Kalibriergerade erstellt.



Die lineare Kalibrierkurve (Regressionsgerade) wird beschrieben durch:

$$y = a + bx$$

Die Kenngrößen a und b errechnen sich aus den n Wertepaaren (x_i, y_i) zu:

$$b = \frac{R_{xy}}{Q_{xx}}; \quad a = \bar{y} - b\bar{x}$$

mit den Abkürzungen:

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i; \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (= \text{Schwerpunkte bzw. Mittelwerte der } x\text{- und } y\text{-Werte})$$

$$Q_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2; \quad Q_{yy} = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2; \quad R_{xy} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$$

a) Güte der Kalibrierung / Präzision der Kalibriergeraden

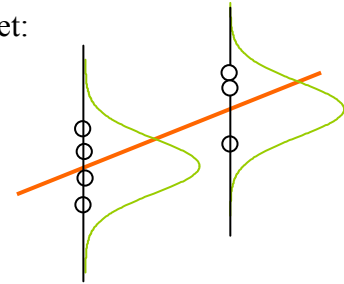
Die Messwerte y_i streuen um die Kalibriergerade. Nimmt man für die Streuung der y_i -Werte Normalverteilung an, unabhängig davon, an welcher Stelle x sie gemessen werden, lässt sich eine sog. **Reststandardabweichung T** angeben, die die Präzision der Kalibrierung ausdrückt.

Die Reststandardabweichung ist damit ein Maß für die Streuung der Messwerte y_i in y -Richtung um die Regressionsgerade.

T ist in der Bedeutung vergleichbar mit der Varianz σ bzw. mit der Standardabweichung s_x von Einzelmesswerten (siehe 1.2) und ist charakteristisch für das Analyseverfahren.

Die Reststandardabweichung T wird nach folgender Formel berechnet:

$$T = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n [y_i - (bx_i + a)]^2}{\mu}} = \sqrt{\frac{Q_{yy} - \frac{R_{xy}^2}{Q_{xx}}}{\mu}}$$



(Wurzel aus der Quadratsumme der Residuen, $Res_i = y_i - (bx_i + a)$)

Mit Hilfe der Reststandardabweichung können die

Vertrauensgrenzen der Steigung b und des Ordinatenabschnittes a (nicht zu verwechseln mit der Standardabweichung von Achsenabschnitt und Steigung s_a und s_b) ermittelt werden. Weiter lässt sich unter der obigen Voraussetzung ein **Konfidenzband der Kalibriergeraden Δy_K** angeben.

- Vertrauensgrenze der Steigung b

$$\Delta b = \pm t_{\mu,\alpha} T \sqrt{\frac{1}{Q_{xx}}}$$

- Vertrauensgrenze des Ordinatenabschnittes a

$$\Delta a = \pm t_{\mu,\alpha} T \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}}$$

- Konfidenzband der Kalibriergerade

$$\Delta y_K(x) = \pm t_{\mu,\alpha} T \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x - \bar{x})^2}{Q_{xx}}}$$

$$\alpha = 1 - P$$

Freiheitsgrade $\mu = n-2$	Signifikanzniveau α	
	0,05	0,01
1	12,70	63,70
2	4,30	9,92
3	3,18	5,84
4	2,78	4,60
5	2,57	4,03
6	2,45	3,71
7	2,36	3,50
8	2,31	3,36
9	2,26	3,25
10	2,23	3,17
∞	1,96	2,58

Die Werte für $t_{\mu,\alpha}$ werden aus nebenstehender Tabelle entnommen.

Anmerkungen:

- Die Steigungsunsicherheit hat anschaulich zur Folge, dass an den Rändern der Kalibrierkurve ein größeres Unsicherheitsintervall entsteht und gibt damit eine anschauliche Erklärung für die Hyperbelform des Konfidenzbandes.
- Das Konfidenzband Δy_K unterscheidet sich von einem "Konfidenzband" $[\pm (t_{\mu,\alpha} T) / \sqrt{n}]$, das sich durch einfache Verbindung der Konfidenzintervalle an den Punkten x_i auf der Basis einer t -Verteilung ergäbe. Das Konfidenzband Δy_K enthält einen zusätzlichen x -abhängigen Term.
- Mit Δy_K ist nicht der Bereich zu erwartender y_i -Werte gegeben. Mit dem Konfidenzband Δy_K wird die Ausgleichsgerade geschätzt. Die wahre Kalibrierkurve liegt zwischen zwei Hyperbeln.
- Der konkrete Messwert \hat{y} der Probe in der Probenauswertungsphase stellt einen Wert aus dem Streubereich T dar.

b) Toleranzbereich für die Realprobe (Prognoseintervall)

Die Kalibriergerade wird in der Auswertungsphase benutzt, um aus dem gemessenen Signalwert \hat{y} den Gehaltswert \hat{x} der Realprobe zu bestimmen (bzw. die entsprechenden Mittelwerte $\hat{\bar{y}}; \hat{\bar{x}}$ bei m Parallelmessungen).

$$\hat{x} = \frac{\hat{y} - a}{b}$$

Dies ist eine Schätzung der Konzentration des Analyten, da sowohl \hat{y} als Messwert einer Streuung unterworfen ist, als auch a und b Unsicherheiten aufweisen. (Die Unsicherheiten von a und b kommen auch im Konfidenzband der Kalibriermessungen x_i, y_i zum Ausdruck).

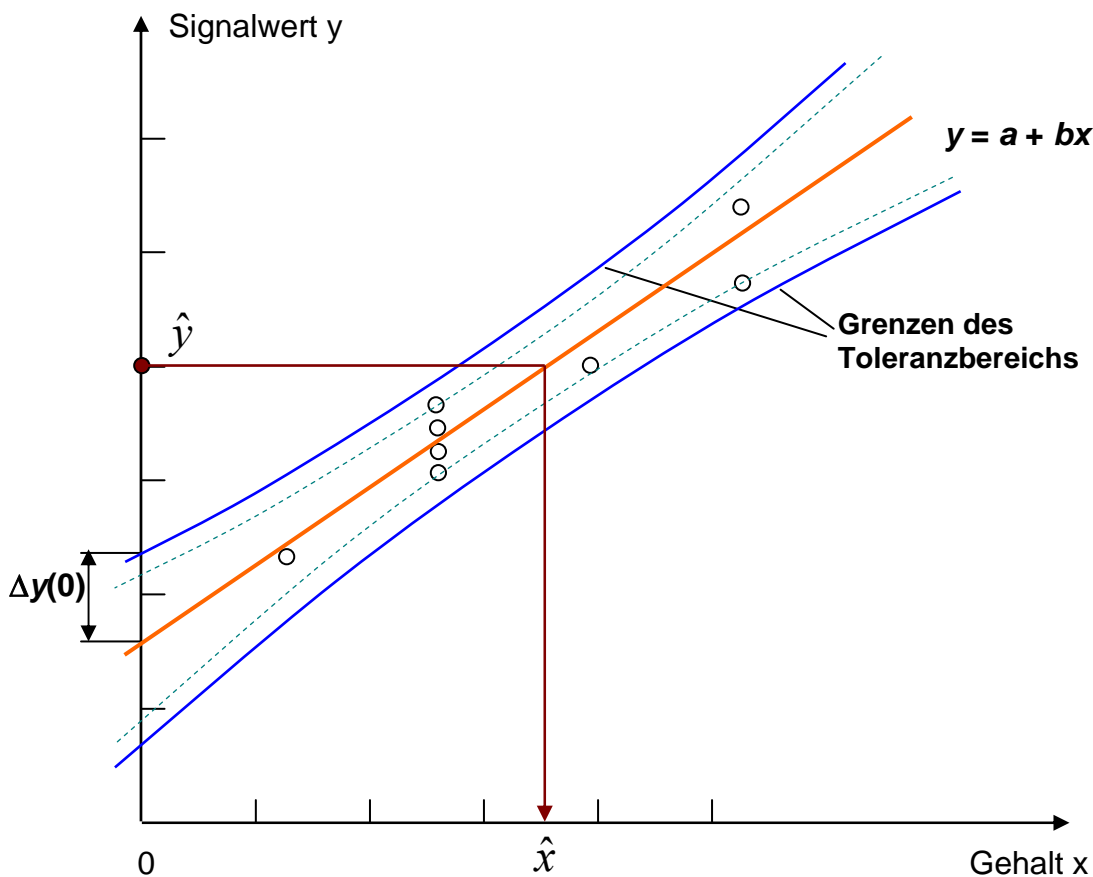
Der Fehler, der dabei gemacht wird, setzt sich also aus der stat. Unsicherheit bei der Ermittlung der Kalibriergerade und der Streuung von \hat{y} als zufällige Messgröße zusammen. Die Addition dieser Unsicherheiten nach dem Gaußschen Fehlerfortpflanzungsgesetz führt im Ergebnis zu einer Vergrößerung des Konfidenzbandes der Kalibriergeraden, den man **Toleranzbereich** nennt.

$$\Delta y(x) = \pm t_{\mu, \alpha} T \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(x - \bar{x})^2}{Q_{xx}}}$$

Toleranzbereich

m - Zahl der Parallelmessungen der Realprobe
 n - Gesamtzahl der Kalibriermessungen

Der Toleranzbereich wird auch als **Prognoseintervall** (Prediction Intervall) bezeichnet.



Anmerkung: Der x -abhängige Term trägt in der Regel jedoch nicht mehr als 10% bis 20% zum Gesamtwert von $|\Delta y(x)|$ bei. Er kann in erster Näherung vernachlässigt werden und durch den Faktor 1.2 ersetzt werden:

$$\Delta y = \pm 1,2 \cdot t_{\mu, \alpha} T \sqrt{1 + \frac{1}{n}}$$

1.3.3 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

In der DIN 32 645 sind die charakteristischen Beurteilungsgrößen Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze analytischer Verfahren definiert.

In der Praxis kann aber mit stark vereinfachten Festlegungen gearbeitet werden.

Nachweisgrenze:

Die Nachweisgrenze ist eine Entscheidungsgrenze für das Vorhandensein/Nichtvorhandensein des Analyten in der Probe. Derjenige Gehalt des Analyten, für den die Wahrscheinlichkeit ihn nicht zu finden, obwohl er vorhanden ist, gleich 0,5 (β -Fehler) ist, heißt Nachweisgrenze x_{NG} .

Bedeutung: Analysiert man Proben mit einem Gehalt x_{NG} , wird in 50 % der Fälle der Messwert über und in 50 % der Fälle der Messwert unter der Nachweisgrenze liegen.

Die relative Ergebnisunsicherheit ist dann 100 % .

$$\frac{\Delta x}{x_{NG}} = 1 \quad \text{bzw. } 100\%$$

Es gibt zwei Möglichkeiten zur Bestimmung der Nachweisgrenze:

1) Leerprobenmethode:

Die Nachweisgrenze ergibt sich aus der Standardabweichung mehrerer Messungen einer Blindprobe, die den Analyten nicht enthält.

2) Kalibriergeradenmethode:

Die Nachweisgrenze ergibt sich aus dem Toleranzbereich der Kalibriergeraden, die als Regressionsgerade aus den Messwerten einer Reihe von Standards mit bekannten Konzentrationen des Analyten errechnet wird. Die Methode gilt auch für die Kalibrierung mittels Standardaddition.

Erfassungsgrenze:

Bei einer Probe mit dem Gehalt x_{NG} (Nachweisgrenze) kann nur in 50 % der Fälle ein Nachweis geführt werden. Als Erfassungsgrenze x_{EG} definiert man denjenigen Gehalt des Analyten, für den die Wahrscheinlichkeit ihn nicht zu finden, obwohl er vorhanden, gleich $\beta = \alpha = 0,05$ ist.

Mit dieser Vereinbarung ergibt sich

$$x_{EG} = 2x_{NG}$$

Die Erfassungsgrenze x_{EG} gibt dann den Mindestgehalt des Analyten in der Probe an, der mit einer bestimmten Wahrscheinlichkeit $(1-\alpha)$ nachgewiesen werden kann (z.B. $1-0,05 = 95\%$)¹.

Bestimmungsgrenze:

Die relative Ergebnisunsicherheit ist an der Erfassungsgrenze sehr hoch.

$$\frac{\Delta x}{x_{EG}} = \frac{\Delta x}{2x_{NG}} = 0,5 \quad \text{bzw. } 50\%$$

Eine quantitative Angabe für den Gehalt des Analyten gilt erst dann als sicher, wenn sich sein Messwert signifikant von der Erfassungsgrenze unterscheidet. Derjenige Gehalt des Analyten, für den die relative Messunsicherheit $1/k$ ($k > 2$) beträgt, heißt Bestimmungsgrenze x_{BG} .

$$\boxed{\frac{\Delta x_{BG}}{x_{BG}} = \frac{1}{k}} \quad \text{üblich ist } k = 3 ; \text{ damit gilt weiter. } \frac{1}{3} = \frac{\Delta x}{3x_{NG}} = \frac{\Delta x_{BG}}{x_{BG}} \quad \Rightarrow x_{BG} = 3 x_{NG}$$

¹ Üblich in der Analytik ist ein Vertrauensniveau von 95 %, d.h. ein Signifikanzniveau $\alpha = 1 - 0,95 = 0,05$. Nur dann, wenn eine Fehlentscheidung folgenreich wäre, wird mit dem Vertrauensniveau 99% ($\alpha = 0,01$) gearbeitet.

Ergänzung: Zur Definition von Nachweisgrenze x_{NG} , Erfassungsgrenze x_{EG} und Bestimmungsgrenze x_{BG} nach DIN 32 645

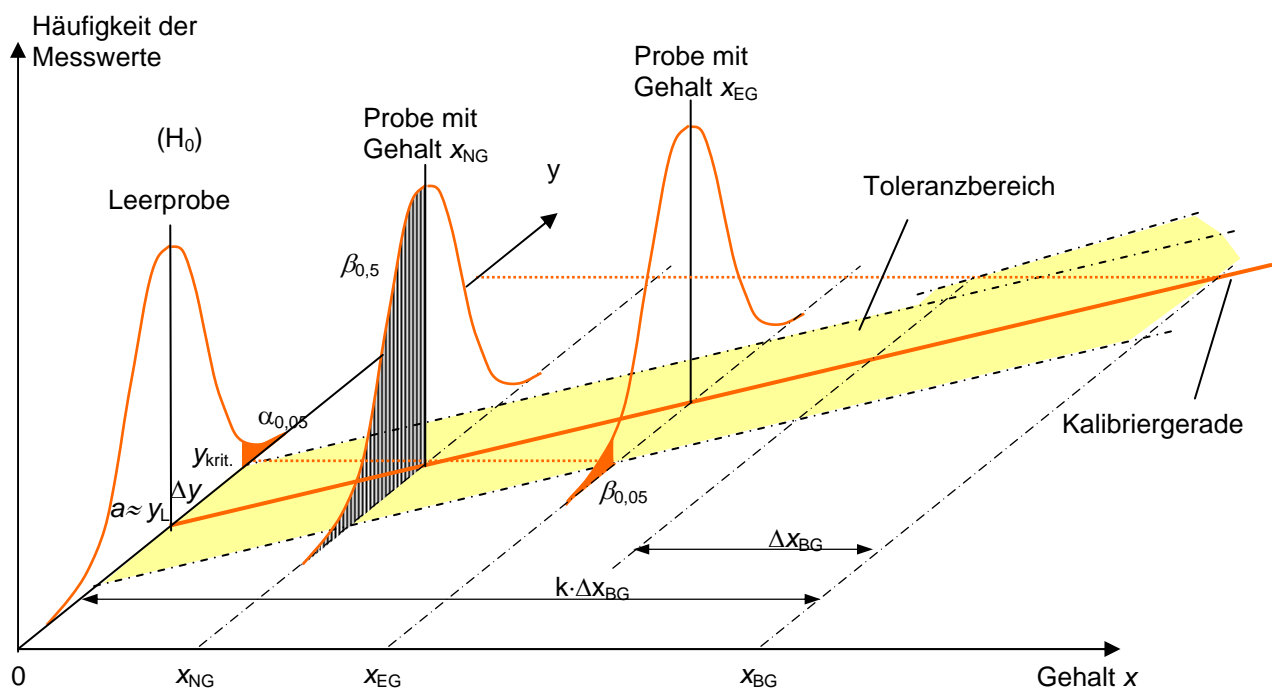
Die **Nachweisgrenze** x_{NG} ist die kleinste Menge Gehalt des Analyten, die mit einem α -Fehler (Fehler 1. Art - irrtümliches Verwerfen der Nullhypothese H_0 - falsch positiv) von 5% und einem β -Fehler (Fehler 2. Art - irrtümliches Beibehalten der Nullhypothese H_0 - falsch negativ) von 50% nachgewiesen werden kann.

α - Fehler: 5%-ige Wahrscheinlichkeit, dass der Analyt gefunden wird, obwohl er nicht vorhanden ist.
(Messwert deutet auf eine Probe mit Gehalt hin)
(Leerprobe H_0 -Hypothese)

β - Fehler: 50%-ige Wahrscheinlichkeit, dass der Analyt nicht gefunden wird, obwohl er vorhanden ist (Probe mit Gehalt x_{NG} - H_1 -Hypothese)

Die **Erfassungsgrenze** x_{EG} ist die kleinste Menge Gehalt des Analyten in der Probe, die mit einem α - Fehler von 5 % und einem β -Fehler von 5 % (qualitativ) nachgewiesen werden kann. Die Erfassungsgrenze errechnet sich damit aus dem doppelten Wert der Nachweisgrenze (Skizze).

Die **Bestimmungsgrenze** x_{BG} ist die kleinste Menge Gehalt in der Probe, die bei gegebener statistischer Sicherheit $(1-\alpha)$ und maximal zugelassener relativer Abweichung $1/k$ quantitativ bestimmbar ist.



- $y_{\text{krit.}}$ kritischer Wert der Messgröße
- a Ordinatenabschnitt der Kalibrierfunktion
- y_L Leerwert (Blindwert)
- Δy Breite des einseitigen Prognoseintervalls (Toleranzbereich)
 - $\Delta y = \Delta y$ (Kalibriergeradenmethode)
 - $\Delta y = \Delta \bar{y}_L$ (Leerwertmethode)
- Δx_{BG} Halbe Breite des zweiseitigen Prognosebandes an der Bestimmungsgrenze
- $1/k$ relative Ergebnisunsicherheit zur Charakterisierung der Bestimmungsgrenze

1) Leerprobenmethode zur Bestimmung von x_{NG} , x_{EG} , x_{BG}

x ist der Gehalt des Analyten in einer Probe (Leerprobe: $x = 0$).

y_i ist der Messwert einer Probe (Leerwert: $y_i(x = 0) = y_{L,i}$).

$b = \Delta y / \Delta x$ ist die aus Kalibrierdaten bekannte Empfindlichkeit (Steigung).

Eine Leerprobe wird n -mal vermessen.

Aus den n Werten $y_{0,i}$ wird der Mittelwert \bar{y}_L und die Standardabweichung s_L errechnet:

$$\bar{y}_L = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_{L,i} \quad s_L = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (y_{L,i} - \bar{y}_L)^2}$$

Mit der Standardabweichung s_L ergibt sich dann für ein bestimmtes Signifikanzniveau α ein (Prognose-)Intervall $\Delta \bar{y}_L$, innerhalb dessen der Leerwert \bar{y}_L mit der Wahrscheinlichkeit $(1-\alpha)$ zu finden ist.

$$\Delta \bar{y}_L = s_L \cdot t_{v,\alpha} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}} \quad \text{mit } v = n - 1 ;$$

Freiheitsgrade $v = n-1$	Signifikanzniveau α	
	0,05	0,01
1	12,70	63,70
2	4,30	9,92
3	3,18	5,84
4	2,78	4,60
5	2,57	4,03
6	2,45	3,71
7	2,36	3,50
8	2,31	3,36
9	2,26	3,25
10	2,23	3,17
∞	1,96	2,58

Die Nachweisgrenze ergibt sich dann aus der Kalibriergeraden als der Gehalt, dessen Messwert zum sog. kritischen Wert $y_{krit} = \bar{y}_L + \Delta \bar{y}_L$ gehört.

Eine Auflösung der Kalibrierfunktion $y = a + bx$ ($y_{krit} = \bar{y}_0 + b x_{NG}$) nach x_{NG} ergibt:

$$x_{NG} = \frac{s_L}{b} \cdot t_{v,\alpha} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}} \quad \text{Vereinfacht wird häufig verwendet: } x_{NG} \approx 3 \frac{s_L}{b}$$

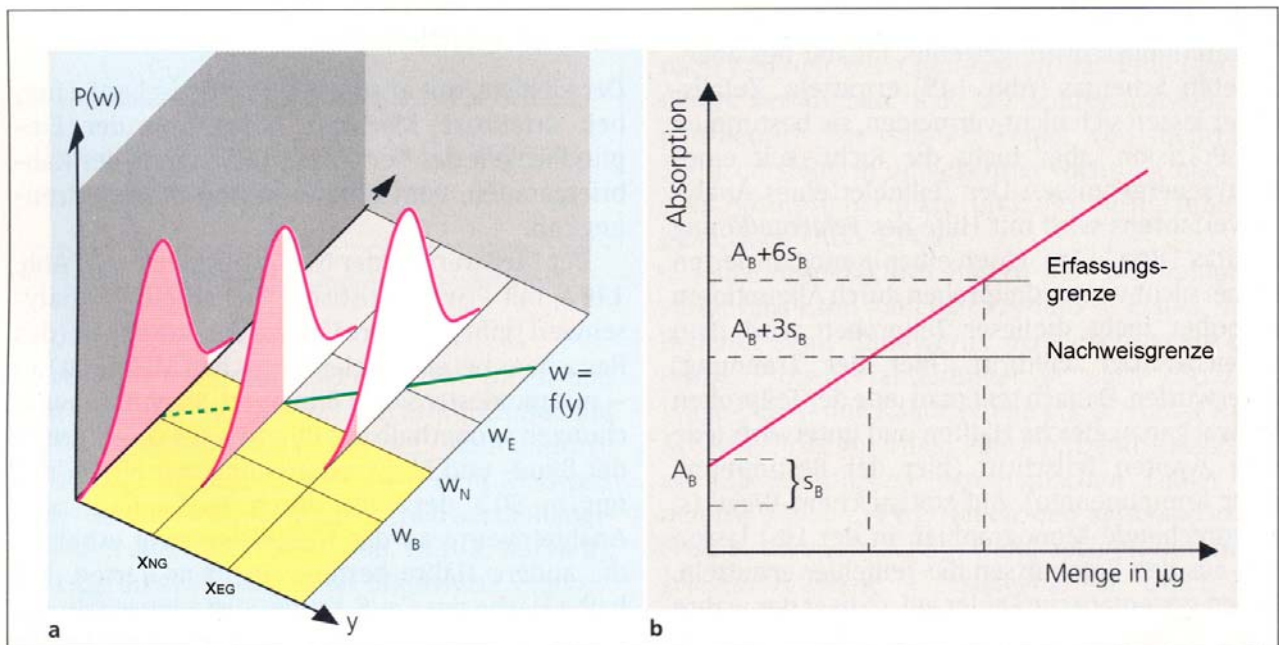


Abb.: Zur Bestimmung der Nachweisgrenze mit der Leerprobenmethode

- (a) alle Werte, die man mit einer Konzentration x_{NG} erhält, liegen zu 50% unter und zu 50% über der Nachweisgr.
- (b) da Δx_{NG} und x_{NG} selbst 3 Standardabweichungen betragen (vereinfacht), ist der relative Fehler 100%.
- (c) alle Werte, die man mit einer Konzentration x_{EG} erhält, liegen dann zu (95 %) über der Nachweisgrenze, bzw. über dem Streubereich des Blindwertes in y -Richtung.

2) Kalibriergeradenmethode (einfache Standards) zur Bestimmung von x_{NG} , x_{EG} , x_{BG}

Die Kalibriergeradenmethode unterscheidet sich von der Leerprobenmethode durch die Art, wie der kritische Wert y_{krit} ermittelt wird.

$$\bar{y}_L \rightarrow a$$

$$\Delta\bar{y}_L \rightarrow \Delta a$$

An die Stelle des Prognoseintervalls $\Delta\bar{y}_L$ tritt das Prognoseintervall Δa , das sich aus dem Toleranzbereich errechnen lässt:

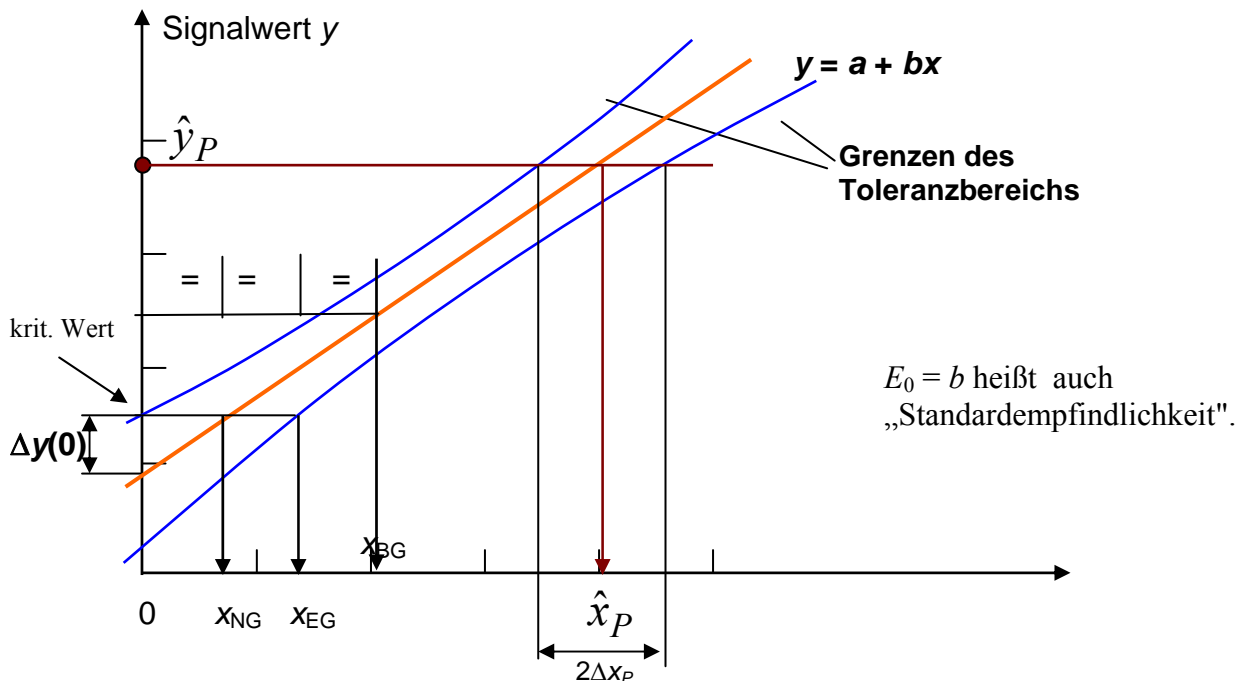
$$\Delta a = \Delta y(0) = t_{\mu, \alpha} T \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \cong 1,2 \cdot t_{\mu, \alpha} T \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}}$$

Die Nachweisgrenze ergibt sich dann wieder mit der Kalibrierfunktion.

$$x_{NG} \approx \frac{\Delta a}{b} \approx \frac{1,2}{b} \cdot t_{\mu, \alpha} T \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}}$$

Kalibrierung mit einfachen Standards kann angewendet werden, wenn

- die Matrix der Standards mit der Matrix der Analysenprobe weitestgehend übereinstimmt und
- das Messsignal der Leerprobe \bar{y}_L als konzentrationsunabhängiges Untergrundsignal von den Messsignalen aller Kalibrierproben und der unbekannt Probe subtrahiert werden kann.



Angabe des Messwertes mit Unsicherheit

Bei einmaliger Messung (Messwert y_p) der unbekannt Probe ergibt sich x_p als: $x_p = \frac{y_p - a}{b}$;

$$x = x_p \pm \Delta x_p$$

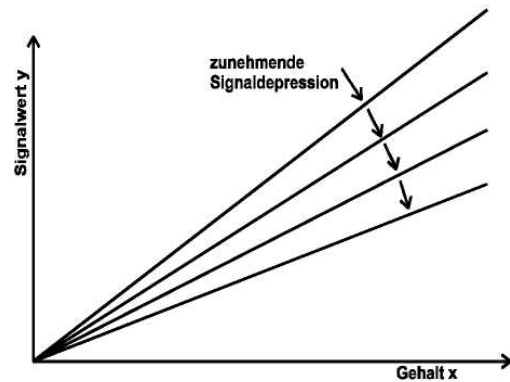
Für die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze gilt (mit der lin. Näherung für Δy):

$$x_{NG} \sim |\Delta x_p|; \quad x_{EG} \sim 2 |\Delta x_p|; \quad x_{BG} \sim 3 |\Delta x_p|$$

Wenn die **Matrix** der Standards und diejenige der Analysenprobe verschieden sind, können unterschiedliche chemische oder physikalische Effekte die Kalibrierfunktion beeinflussen.

Absorptionseigenschaften können z.B. von der Umgebung (Matrix) abhängen.

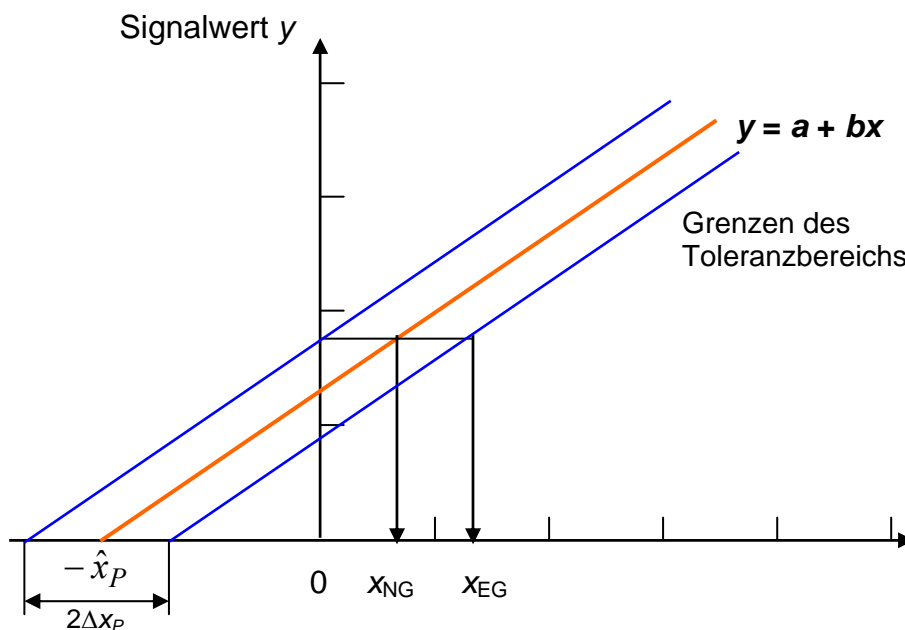
Oft ist die Matrix der Analysenprobe komplexer als die der Standards. In der Regel kommt es in diesem Fall mit zunehmenden Matrixeinflüssen zu einer konzentrationsunabhängigen relativen Depression des Messsignals.



⇒ Additionsmethode zur Verminderung der Matrixeffekte

3) Kalibriergeradenmethode (Standardaddition) zur Bestimmung von x_{NG} , x_{EG} , x_{BG}

Addiert man zur Originalprobe stufenweise zunehmende Mengen des Analyten, so kann die Steigung $\Delta y/\Delta x$ ermittelt werden. Aus dem von der Steigung unabhängigen Schnittpunkt der Regressionsgeraden mit der Abszisse kann dann der Gehalt der Originalprobe bestimmt werden.



Die "Empfindlichkeit" $b = E$ ist in der Regel kleiner als die „Standardempfindlichkeit“ E_0 . Der Quotient $R_F = E/E_0 < 1$ heißt "Wiederfindungsrate".

Die stufenweise addierten Mengen sollten etwa die Größe x_P aufweisen.

Die Größenordnung von x_P muss also durch Vorversuche ermittelt werden.

Die Konzentration der Probe x_P ergibt sich als $x_P = \frac{a}{b}$

Die Unsicherheit $\Delta x_P (= x_{NG})$ folgt wieder aus dem Toleranzbereich Δy :

$$\Delta x_P \approx \frac{\Delta y}{b} \approx \pm \frac{1,2}{b} \cdot t_{\mu, \alpha} T \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n}}$$

Für die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze gilt wieder annähernd:

$$x_{NG} \sim |\Delta x_P| ; \quad x_{EG} \sim 2 |\Delta x_P| ; \quad x_{BG} \sim 3 |\Delta x_P|$$

Ergänzung: Relative Depression des Messsignal bei Matrixeinfluss

Die folgende Überlegung soll zeigen, dass mit der Kalibriergeradenmethode der Einfluss aufgrund von Signaldepression kompensiert werden kann, während er bei der Kalibrierung mit einfachen Standards zu Fehlern führt.

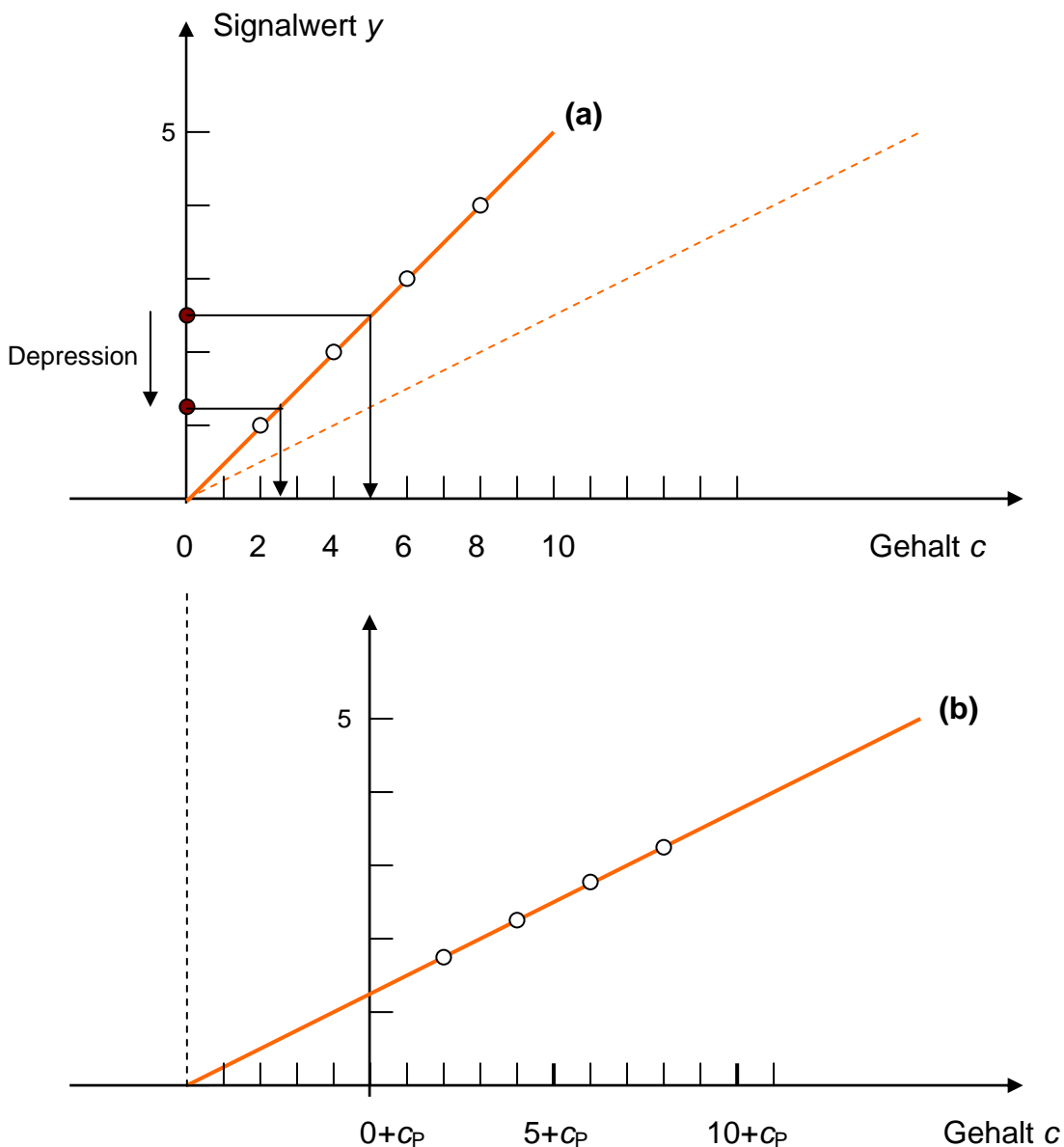
- Messung von Standards (S_1 bis S_4 mit Konzentrationen c_1 bis c_5) nach der Kalibrierung mit "einfachen Standards" ergibt die Kalibrierkurve (a).
- Messung von Kalibrierproben nach der "Kalibriergeradenmethode" bei einer relativen Signaldepression um den Faktor 2 ergibt die Kalibrierkurve (b).
Die Konzentrationen c'_1 bis c'_4 sind dabei $c'_1 = c_1 + c_p$ usw.

Bestimmung mit einfachen Standards:

- Wird die Bestimmung einer Probe ohne Matrixeinfluss vorgenommen und wird der Signalwert $y_p = 2,5$ gemessen, ergibt sich für c der "richtige" Wert $c_p = 5$.
- Wird eine Probe mit Matrixeinflüssen gemessen und die Konzentration mit dieser Kalibriergeraden (a) bestimmt, ergibt sich der "falsche" Wert $c_{p,\text{falsch}} = 2,5$.

Bestimmung mit Kalibriergeradenmethode:

- Wird dagegen der Gehalt mit der Kalibriergeraden (b), also mit der Kalibriergeradenmethode bestimmt, ergibt sich der richtige Wert.



4) Kalibriergeradenmethode (Innere Standards) zur Bestimmung von x_{NG} , x_{EG} , x_{BG}

Das Messsignal eines Analyten ist oft von gerätespezifischen oder matrixabhängigen Parametern beeinflusst, z.B.:

- Schwankungen bei der Probenvorbereitung (z.B. Verlust von Probenmaterial, Verflüchtigung des Lösungsmittels etc.)
- Gerätedrift wegen Temperaturänderungen etc.

Zur Probe und zu allen Standards wird dann ein Stoff als "Innerer Standard" in jeweils gleicher Menge x_{IS} dazugegeben. Er muss folgende Bedingungen erfüllen.

- darf in der ursprünglichen Probe nicht vorhanden sein
- physikalische und chemische Eigenschaften ähneln weitgehend denen des Analyten
- Messsignal von Analyt und Innerem Standard simultan bestimmbar mit der gleichen Methode
- Messsignal des Inneren Standards darf nicht mit dem Signal des Analyten interferieren (z.B. Absorption bei einer anderen Wellenlänge)
- Empfindlichkeit von Innerem Standard und Analyt etwa gleich groß (lineares Ansprechverhalten der analytischen Methode gegenüber Analyt und Innerem Standard)

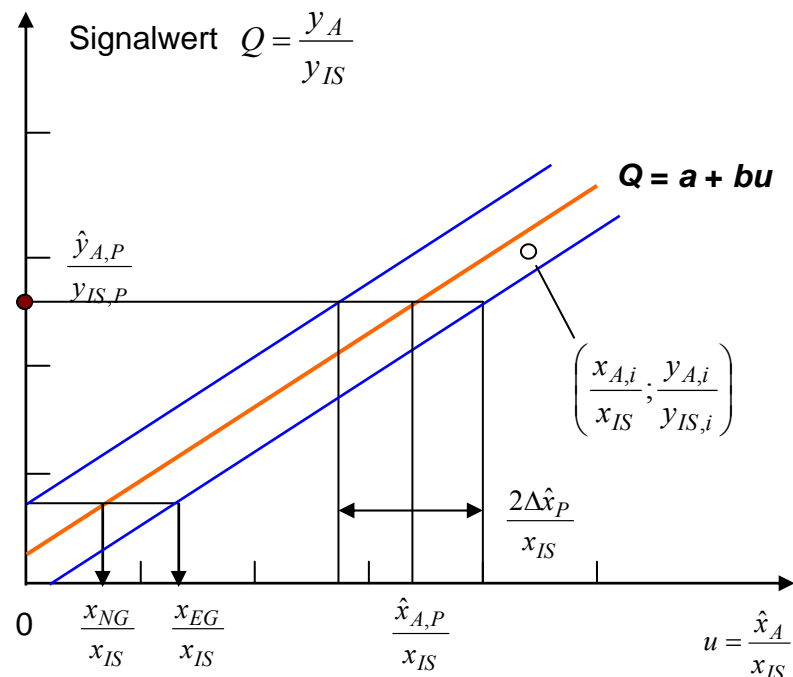
Unter diesen Voraussetzungen ändern sich dann z.B. Schwankungen in der Absorption von Analyt und Innerem Standard in gleicher Weise und können entsprechend kompensiert werden (z.B. durch Quotientenbildung). Als Interne Standards werden daher häufig homologe "Verwandte" des Analyten oder substituierte Analytmoleküle verwendet.

Die Kalibrierfunktion erhält man aus dem Signalverhältnis (Analyt y_A / Innerer Standard y_{IS}) der Kalibrierproben. Die Auftragung der Quotienten $Q_i = y_{A,i}/y_{IS,i}$ über dem Gehalt $x_{A,i}/x_{IS}$ ergibt die Kalibriergerade (x_{IS} ist für alle Proben i gleich).

$$Q = a + bu = a + b \frac{x_A}{x_{IS}}$$

Der Gehalt $x_{A,P}$ ergibt sich dann zu:

$$\hat{x}_{A,P} = \frac{x_{IS}}{b} \left(\frac{\hat{y}_{A,P}}{y_{IS,P}} - a \right)$$



Für die Unsicherheiten von x_P und für die Nachweisgrenze x_{NG} gelten analoge Gleichungen wie bei der Kalibrierung mit einfachen Standards.