



Homogenitätsprüfung von Ringversuchsproben

Besuchen Sie uns auch im Internet:
www.tll.de/ainfo

Impressum

Herausgeber: Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft
Naumburger Str. 98, 07743 Jena
Tel.: (03641) 683-0, Fax: (03641) 683 390
e-Mail: pressestelle@jena.tll.de

2. geänderte Auflage

Autoren: **Dr. Matthias Leiterer, TLL**
Dr. Steffen Uhlig, quo data GmbH

27. Juli 2007

- Nachdruck - auch auszugsweise - nur mit Quellenangabe gestattet. -

Homogenitätsprüfung von Ringversuchsproben

Dr. Matthias Leiterer, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft und PD Dr. Steffen Uhlig, quo data GmbH

1 Allgemeines

In Abhängigkeit von der Probenmatrix und den im Ringversuch zu bestimmenden Parametern sollte eine ausreichend gute Homogenität der Proben angestrebt werden. Zielstellung ist dabei, dass das Ringversuchsergebnis nicht signifikant durch Inhomogenitäten der Probe beeinflusst wird. Die durch zufällige Analysenfehler hervorgerufene Streuung der Labormittelwerte (im Ringversuch ermittelte Vergleichsstandardabweichung) muss für alle Parameter deutlich größer als die durch die Inhomogenität des Probenmaterials bedingte Streuung der Analysenwerte sein.

Für die Prüfung der ausreichenden Homogenität der Ringversuchsproben werden die nachfolgend aufgeführten Verfahren eingesetzt. Die Auswahl des Verfahrens richtet sich dabei nach der Zielstellung des Ringversuchs, der Probenmatrix, der Art und Anzahl der Ringversuchsparameter und der Anzahl der Proben. Die Durchführung und die Ergebnisse der Homogenitätsprüfung müssen umfassend dokumentiert werden.

2 Prüfverfahren

2.1 Prüfung aller oder ausgewählter¹ im Ringversuch zu untersuchenden Parameter hinsichtlich vorgegebener maximaler Abweichungen² (z. B.: Wiederholbarkeit, maximal zulässige Abweichungen des Messverfahrens)

Nach der Homogenisierung, Teilung und Abfüllung der Ringversuchsproben wird von allen Proben je eine Teilprobe entnommen und darin alle bzw. ausgewählte im Ringversuch zu prüfende Parameter bestimmt. Die Analyse eines Parameters muss dabei in einer Messserie (gleiche Kalibration) erfolgen. Die Abweichung der Einzelwerte³ der Teilproben vom ausreißerbereinigten Mittelwert aller Teilproben darf für keine Teilprobe die vorgegebene Toleranzgrenze überschreiten. Wird die maximal zulässige Abweichung für eine oder mehrere Teilproben überschritten, müssen diese Proben ausgesondert und von einer Verwendung im Ringversuch ausgeschlossen werden. Betrifft dies eine größere Anzahl der Proben (z. B. mehr als 10 %), muss die Probenvorbereitung und Homogenisierung unter verbesserten Bedingungen wiederholt werden.

¹ Die Auswahl von ca. 2 bis 3 Leitparametern richtet sich nach den physikalischen bzw. chemischen Eigenschaften sowie der Konzentration des Parameters in der Probe, seiner Repräsentativität für bestimmte Parametergruppen des Ringversuchs, seiner ursprünglichen Zugehörigkeit zu evtl. Mischungskomponenten bei der Herstellung der Probe, der erreichbaren Analysenpräzision sowie dem notwendigen analytischen Aufwand.

² Im Sonderfall kann es sich auch um ein qualitatives Ergebnis handeln (z. B. positiver Nachweis von Salmonellen).

³ Die Einzelwerte der Teilproben können ihrerseits aus Parallel- oder Mehrfachbestimmungen ermittelt werden. Die Standardabweichung der Mehrfachbestimmungen sollte das 0,3-fache der zu erwartenden Vergleichsstandardabweichung nicht überschreiten.

2.2 Prüfung aller oder ausgewählter⁴ im Ringversuch zu untersuchenden Parameter durch einfache Varianzanalyse (vereinfachtes Verfahren⁵)

Nach Teilung und Abfüllung der Ringversuchsproben wird von allen Proben je eine Teilprobe entnommen und darin alle bzw. ausgewählte im Ringversuch zu prüfende Parameter bestimmt. Außerdem werden aus einer Probe mehrere (mindestens 10) Teilproben entnommen und darin die gleichen Parameter analysiert. Die Analyse eines Parameters muss dabei in einer Messserie (gleiche Kalibration) erfolgen.

Ausreißertest

Die Grundgesamtheit der Einzelwerte der aus allen Ringversuchsproben entnommenen Teilproben wird mittels Grubbs-Test⁶ auf Ausreißer geprüft. Werden keine statistischen Ausreißerwerte festgestellt, wird im Anschluss eine Varianzanalyse durchgeführt.

Werden statistische Ausreißer ermittelt, sollte zuerst die Analyse dieser Proben wiederholt werden, um die Analyse als Ursache auszuschließen. Wird auch durch die Nachmessung der Ausreißerwert bestätigt, müssen die betreffenden Ringversuchsproben aus der Grundgesamtheit der Ringversuchsproben entfernt (aussortiert) werden. Diese Proben dürfen nicht mit in den Ringversuch einbezogen werden. Betrifft dies eine größere Anzahl der Proben (z. B. mehr als 10 %), muss die Probenvorbereitung unter verbesserten Bedingungen wiederholt werden.

Im Anschluss an die Aussonderung der Ausreißerproben werden die verbliebenen Analysenwerte unter Einbeziehung der Ergebnisse der Nachmessung als neue Grundgesamtheit einem erneuten Grubbs-Test unterzogen.

Varianzanalyse

Die Varianzen s_2^2 (s_2 = Standardabweichung der Messwerte des Parameters für alle Ringversuchsproben) und s_1^2 (s_1 = Standardabweichung der Messwerte des Parameters für die Teilproben einer Ringversuchsprobe) werden mittels F-Test verglichen. Bei Erfüllung der Nullhypothese $F = s_2^2/s_1^2 < F_{\text{tab}}(P; f_1; f_2)$ ist zwischen der Standardabweichung des Mittelwertes aller Proben und der Standardabweichung des Mittelwertes einer Probe kein signifikanter Unterschied nachweisbar. Dies bedeutet, dass die Streuung der Analysenergebnisse zwischen den Proben und die Streuung der Analysenergebnisse innerhalb einer Probe sich nicht signifikant unterscheiden.

Ist $F > F_{\text{tab}}$, muss die Probenaufbereitung der Ringversuchsproben unter verbesserten Bedingungen wiederholt werden.

Die für den F-Test verwendete Standardabweichung s_2 darf nicht signifikant größer als die vorgegebene Wiederholstandardabweichung des Analysenverfahrens (z.B. Verfahrenskenndaten der genormten Methode) sein und muss deutlich kleiner als die Vergleichsstandardabweichung s_R ($s_2 \approx 3 \cdot s_R$) des Ringversuches sein. Ist dies nicht der Fall, ist eine Auswertung und Bewertung des Ringversuchs für den betreffenden Parameter nicht zulässig.

⁴ Die Auswahl von ca. 2 bis 3 Leitparametern richtet sich nach den physikalischen bzw. chemischen Eigenschaften sowie der Konzentration des Parameters in der Probe, seiner Repräsentativität für bestimmte Parametergruppen des Ringversuchs, seiner ursprünglichen Zugehörigkeit zu evtl. Mischungskomponenten bei der Herstellung der Probe, der erreichbaren Analysengenauigkeit sowie dem notwendigen analytischen Aufwand.

⁵ Die Bezeichnung "vereinfachtes Verfahren" bezieht sich vor allem auf die Auswahl nur einer Ringversuchsprobe zur Ermittlung von s_0 sowie auf den Verzicht der Verwendung weitergehender statistischer Verfahren (z. B. Duncan-Test) zur Charakterisierung des inhomogenen Probenmaterials nach Ablehnung der Nullhypothese $F < F_{\text{tab}}$.

⁶ Die Anwendung des Grubbs-Tests setzt eine Normalverteilung der Daten voraus. Ist diese Voraussetzung nicht gegeben, müssen alternative Testverfahren verwendet, z.B. Log-Transformation.

2.3 Homogenitätstest an ausgewählten Proben

Bei hohem analytischen Aufwand ist es zweckmäßig, nicht alle Ringversuchsproben in die Homogenitätsprüfung einzubeziehen. In diesem Falle sind jedoch wenigstens 10 Proben nach dem Zufallsprinzip auszuwählen und jeweils zweifach zu bestimmen. Dabei ist jeweils die komplette Analyse (Aufschluss/Extraktion und Messung) des betreffenden Parameters zu wiederholen. Mittels einer Varianzanalyse wird dann die Summe der quadrierten Differenzen der beiden Einzelwerte der n Doppelbestimmungen $\sum(\Delta x_1)^2$ mit dem zugehörigen Freiheitsgrad $f_1 = 2$ sowie die Summe der quadrierten Differenzen $\sum(\Delta x_2)^2$ zwischen den einzelnen Mittelwerten der Doppelbestimmungen und dem Gesamtmittelwert mit den zugehörigen Freiheitsgrad $f_2 = n - 1$ ermittelt. Die weiteren Berechnungen erfolgen in drei Schritten.

Zunächst muss überprüft werden, ob die analytische Standardabweichung im untersuchenden Labor unter Wiederholbedingungen s_{an} im Vergleich zur erwarteten Vergleichsstandardabweichung nicht zu groß ist. Anderenfalls kann die Inhomogenitätsabschätzung nicht sinnvoll ausgeführt werden. Die zugehörige Standardabweichung s_{an} ergibt sich nach Gleichung 1.

$$s_{an} = \sqrt{\frac{\sum(\Delta x_1)^2}{2 \cdot n}} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Da die Vergleichsstandardabweichung s_R noch nicht bekannt ist, behilft man sich mit einer Zielstandardabweichung s_{target} . Die Zielstandardabweichung ist in der Regel ein Erfahrungswert für die Vergleichsstandardabweichung aus früheren Ringversuchen. Schritt 1 kann als erfüllt angesehen werden, wenn $s_{an} < 0,5 \cdot s_{target}$. Ist dies nicht der Fall, sollte ein verbessertes, präziseres analytisches Verfahren zur Homogenitätsprüfung verwendet werden.

Im zweiten Schritt wird geprüft, ob eine statistisch signifikante Heterogenität zwischen den Proben vorliegt. Hierzu wird die Prüfgröße F nach Gleichung 2 ermittelt.

$$F = \frac{s_2^2}{s_1^2} = 4 \cdot \frac{\frac{\sum(\Delta x_2)^2}{n-1}}{\frac{\sum(\Delta x_1)^2}{n}} \quad \text{mit } s_1 = s_{an} \quad (\text{Gleichung 2})$$

Solange $F < F_{tab}(P; f_1, f_2)$, sind die Schwankungen der Probenmittelwerte nicht größer, als es aufgrund der analytisch bedingten Messabweichungen zu erwarten gewesen wäre. Ist jedoch F größer als der kritische Wert, muss von inhomogenem Probenmaterial ausgegangen werden.

Im dritten Schritt wird, unabhängig von der Frage nach der statistischen Signifikanz der Probeninhomogenität, ermittelt, welchen Wert die Standardabweichung der Probenmittelwerte s_2 annehmen würde, wenn der analytische Fehler vernachlässigbar wäre. Diese theoretische Standardabweichung wird als Heterogenitätsstandardabweichung $s_{heterogen}$ bezeichnet. Sie wird unter Verwendung von Gleichung 3 ermittelt.

$$s_{heterogen} = \sqrt{\frac{\sum(\Delta x_2)^2}{n-1} - 0,25 \cdot \frac{\sum(\Delta x_1)^2}{n}} \quad (\text{Gleichung 3})$$

Ist der Ausdruck unter der Wurzel negativ, wird die Heterogenitätsstandardabweichung mit 0 angenommen.

Die Heterogenitätsstandardabweichung $s_{\text{heterogen}}$ ist naturgemäß kleiner als die Standardabweichung der Probenmittelwerte s_2 , die zusätzlich zu den Schwankungen der Konzentrationswerte auch noch die zufälligen Messfehler beinhaltet. Im theoretischen Fall vollständig homogener Proben, ist $s_{\text{heterogen}} = 0$. Für die praktische Ringversuchsdurchführung stellt sich die Frage, ob die Heterogenitätsstandardabweichung so klein ist, dass sie weder auf die Z-Scores noch auf die Vergleichsstandardabweichung einen nennenswerten Einfluss hat. Dies kann angenommen werden, wenn die Heterogenitätsstandardabweichung nicht größer als das 0,3-fache der Zielstandardabweichung ist, d. h. wenn $s_{\text{heterogen}} < 0,3 \cdot s_{\text{target}}$ gilt /ISO 13528, 2005/.

Das Ergebnis dieser statistischen Homogenitätsprüfung umfasst drei Aspekte: Die Frage nach der analytischen Laborpräzision, die Frage nach der statistischen Signifikanz der durch die Inhomogenität der Proben hervorgerufenen Unpräzision sowie die Frage nach der Relevanz der Schwankungen der Konzentrationen in den Proben für die Ringversuchsdurchführung. Die folgende Tabelle enthält eine Zusammenstellung möglicher Ergebnisse mit den zugehörigen Interpretationen:

Tabelle: Übersicht zur Fallentscheidung bei der Homogenitätsprüfung mit reduziertem Probenumfang

Schritt 1 $s_{\text{an}} < 0,5 \cdot s_{\text{target}}$	Schritt 2 $F < F_{\text{tab}}$ ($s_{\text{heterogen}}$ nicht signifikant erhöht)	Schritt 3 $s_{\text{heterogen}} < 0,3 \cdot s_{\text{target}}$	Interpretation
nein			In der Regel keine sinnvolle Probenhomogenitätsprüfung möglich.
ja	nein	nein	Signifikante Probeninhomogenität und zu hohe Heterogenitätsstandardabweichung. Proben für den Ringversuch <u>nicht</u> geeignet.
ja	nein	ja	Signifikante Probeninhomogenität, jedoch akzeptable Heterogenitätsstandardabweichung. Proben für den Ringversuch bedingt geeignet. Sofern $s_{\text{heterogen}} > 0,3 \cdot s_R$, muss eine gesonderte Prüfung des Einflusses der Probenheterogenität erfolgen.
ja	ja	nein	Keine signifikante Probeninhomogenität, jedoch inakzeptable Heterogenitätsstandardabweichung. Proben für den Ringversuch <u>nicht</u> geeignet. Eventuell bietet es sich an, die Zahl der Proben für die Homogenitätsprüfung zu erhöhen und dann die statistische Auswertung zu wiederholen
ja	ja	ja	Keine signifikante Probeninhomogenität und akzeptable Heterogenitätsstandardabweichung. Proben für den Ringversuch uneingeschränkt nutzbar.

3 **Datenverwaltung und Auswertesoftware**

Insbesondere, wenn sich während des Ringversuches herausstellt, dass die Ergebnisse eines oder mehrerer Laboratorien sehr stark von den Ergebnissen der übrigen Laboratorien abweichen, oder wenn die Ergebnisse insgesamt eine starke Streuung aufweisen, besteht die Vermutung, dass diese Abweichungen durch die Proben verursacht wurden. Um inhomogenes Probenmaterial als Ursache für entsprechende Abweichungen auszuschließen, ist eine zweifelsfreie Rückverfolgbarkeit der Ergebnisse der Homogenitätsprüfung unerlässlich.

Für die Rückverfolgbarkeit ist der Einsatz einer geeigneten Datenbank, die neben den Ergebnissen selbst auch den Eintrag dieser Daten sowie etwaige Änderungen vollständig dokumentiert, hilfreich.

Für die Durchführung der Berechnungen zur Homogenitätsprüfung ist das Softwareprogramm ProLab Plus⁷ besonders geeignet /ProLab Plus, 2007/.

4 **Literatur**

- /ISO 13528, 2005/ ISO 13528 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, Beuth, Berlin (24.11.2005)
- /ProLab Plus, 2007/ ProLab Plus - Softwareprogramm zur Durchführung und Auswertung von Ringversuchen, quo data GmbH, Dresden (2007), www.quodata.de

⁷ ProLab ist die Referenzsoftware des VDLUFA zur Auswertung von Ringversuchen. Das Programm ProLab Plus ermöglicht die Dokumentation von Tabellen und Grafiken und beinhaltet zusätzlich eine Datenbank, welche eine zweifelsfreie Rückverfolgbarkeit der Ergebnisse sicherstellt.