

## FG VI Futtermitteluntersuchung

---

### Arbeitspapier zur Bestimmung der Messunsicherheit für die NIRS-Analytik

#### 1. Einleitung

Die Messunsicherheit ist in der Analytik z.B. von unerwünschten Stoffen von zentraler Bedeutung für die Interpretation von Analyseergebnissen. Ferner wird eine Angabe dazu oft im Rahmen der Akkreditierung eines Labors gefordert. Eine einfache Übernahme der Berechnung der Messunsicherheit aus anderen Methoden ist für die NIRS-Analytik nicht möglich, da diese immer ein auf eine bestimmte Referenzmethode kalibriertes Verfahren ist.

In Anlehnung an den EURACHEM CITAC Leitfaden „Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen“ [2] wird für die folgenden Fälle

- A) NIRS-Modelle und Validierung mit zertifiziertem Referenzmaterial
- B) NIRS-Modelle und Validierung mit Referenzmethode
- C) NIRS-Modelle mit zentraler Validierung und Ringversuchen (z.B. NIRS-Netzwerk)

je eine Vorgehensweise vorgeschlagen, die in diesem Vorschlag an die Besonderheiten der kalibrierten Verfahren angepasst werden. Ferner werden zwei Vorgehensweisen entsprechend des Positionspapiers der FG VI und VIII im VDLUFA [6] dargelegt:

- D) vorläufige Messunsicherheit unter idealen Wiederholbedingungen
- E) vorläufige Messunsicherheit unter nicht-idealen Wiederholbedingungen

Diese Vorgehensweisen führen nur zu „vorläufigen Messunsicherheiten“.

#### 2. Allgemeines zur Berechnung der Messunsicherheit

Die Messunsicherheit ist eine Eigenschaft eines Messwertes, die den Bereich beschreibt, in dem die Messgröße erwartet wird [1]. Dieser Bereich wird für die verwendete Messmethode und für einen Wertebereich bestimmt, er kann ggf. matrixbezogen sein. Grundlegend wird unterstellt, dass die Messunsicherheit aus den Komponenten Präzision (nicht-systematischer Anteil) und Richtigkeit (systematischer Anteil) besteht und stets der „wahre Wert“ die Zielgröße ist (z.B. durch Nutzung von zertifiziertem Referenzmaterial).

Standardmessunsicherheit:  $U_c = \text{Wurzel} ( U_{RW}^2 + U_b^2 )$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * U_c$  (Faktor 2 für ein 95 % Konfidenzintervall)

mit

$U_b$  = systematische Abweichung der Methode (Richtigkeit)

$U_{RW}$  = zufällige Fehler der Methode (Präzision)

Neben der analytischen Herleitung dieser Faktoren (Bestimmung der Wiederholbarkeit und der Richtigkeit der Messmethode anhand von z.B. Referenzproben) wird unter bestimmten Bedingungen (z.B. normierte Methoden) auch die Ableitung der Messunsicherheit einer Methode aus Ringversuchsdaten gestattet.

## 2.1 „Wahrer Wert“

Zum Verständnis der Messunsicherheit ist es wichtig, den „wahren Wert“ als Zielgröße zu erkennen. Der „wahre Wert“ ist ideeller Natur, das Ziel aller Messungen und in der Regel unbekannt (DIN 1319 [1]). Der „wahre Wert“ ist deshalb auch nicht der Mittelwert von einer bestimmten Anzahl Messungen oder der Mittelwert eines Ringversuchs. Man kann aus praktischen Erwägungen aber den Mittelwert von mehreren Messungen als Näherungswert für den „wahren Wert“ annehmen.

Da die NIRS-Methode ein kalibriertes Verfahren ist, muss deshalb sowohl die Richtigkeit und Präzision der NIRS-Methode im Verhältnis zu ihrer Referenzmethode als auch die Richtigkeit der Referenzmethode berücksichtigt werden. Die Richtigkeit der Referenzmethode ist durch eine externe Validierung (Ringversuchsteilnahme) nachzuweisen bzw. diese bei der Berechnung der Messunsicherheit der NIRS-Methode ausdrücklich zu berücksichtigen.

## 2.2 Nomenklatur

Weil in den unterschiedlichen Chemometrie-Softwarepaketen eine unterschiedliche Notation zur Beschreibung der Fehlerkomponenten genutzt wird, wurde in diesem Dokument auf ISO 12099 zurückgegriffen. In den Anmerkungen wird diese Notation der diverser anderer Software-Pakete gegenübergestellt.

## 3. Bestimmung der Messunsicherheit

### A. NIRS-Modelle und Validierung mit zertifiziertem Referenzmaterial

Bei Nutzung einer „Hausmethode“ schlägt der Leitfaden verschiedene Möglichkeiten zur Überprüfung der Analysenqualität vor. Die Verwendung von zertifiziertem Referenzmaterial (7.7.4 [2]) kann zur Bestimmung der Präzisionsdaten und des systematischen Fehlers genutzt werden. Im Rahmen der NIRS-Analytik wird dieser Schritt (Bestimmung der Richtigkeit und Präzision) in der Validierung erfüllt. Die Kenndaten sind der  $S_{RMSEP}$  (Standardfehler der Vorhersage, gesamter Fehler) mit seinen Komponenten bias (systematischer Anteil) und  $S_{SEP}$  (zufälliger Anteil).

Standardmessunsicherheit:  $U_c = S_{RMSEP}$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * S_{RMSEP}$

Voraussetzung:

1. Datenerhebung für die Validierung über einen längeren Zeitraum
2. die Validierung ist an eigenen Proben im eigenen Labor mit zertifiziertem Referenzmaterial durchzuführen
3. es sind - wie für die NIRS-Validierung gewöhnlich - mehrere Proben zu nehmen, um den  $S_{RMSEP}$  sowie die Komponenten bias und  $S_{SEP}$  absichern zu können

Die Messunsicherheit ist wie der  $S_{RMSEP}$  nur für die Probenart und für den Wertebereich gültig, der durch die Referenzmaterialien repräsentiert wird.

Beispiel A: Berechnung der Messunsicherheit aus den Daten einer Validierung mit zertifiziertem Referenzmaterial

NIRS-Modell	Einheit	NIRS-Validierung			$U_e$
		$S_{RMSEP}$	bias	$S_{SEP}$	
Maissilage					
Rohprotein	g kg <sup>-1</sup> TM	3,2	1,0	3,0	6,4
Rohfaser	g kg <sup>-1</sup> TM	8,2	2,0	8,0	16,4

Das zertifizierte Referenzmaterial wird für gewöhnlich aus Ringversuchen gewonnen. Damit kann sichergestellt werden, dass der „wahre Wert“ der Proben besser getroffen wird, als bei der Verwendung einer Referenzmethode (folgender Abschnitt).

Aus praktischer Sicht kann auch Material aus Ringversuchen dem Zweck der Bestimmung der Messunsicherheit dienen, ohne dass formell eine Zertifizierung des Materials stattgefunden hat.

## B. NIRS-Modelle und Validierung mit einer Referenzmethode

Eine Alternative zur Bestimmung der Messunsicherheit ist die Überprüfung einer Hausmethode mit einer Referenzmethode (7.7.5 [2]), um neben den Präzisionsdaten einen systematischen Fehler zu bestimmen.

Im Rahmen der NIRS-Analytik wird dieser Schritt (Bestimmung der Richtigkeit und Präzision) in der Validierung erfüllt. Die Kenndaten sind der  $S_{RMSEP}$  (Standardfehler der Vorhersage, gesamter Fehler) mit seinen Komponenten bias (systematischer Anteil) und  $S_{SEP}$  (zufälliger Anteil).

Standardmessunsicherheit:  $U_c = S_{RMSEP}$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * S_{RMSEP}$

Dieser Berechnungsweg der Messunsicherheit aus dem  $S_{RMSEP}$  der Validierung wird auch in der Entwurfsfassung zur Überarbeitung der ISO 12099 vorgeschlagen [3].

Voraussetzung:

1. Datenerhebung für die Validierung über einen längeren Zeitraum
2. die Validierung ist an eigenen Proben im eigenen Labor durchzuführen
3. es sind mindestens 10 Proben für die Validierung zu verwenden

Die Messunsicherheit ist wie der  $S_{RMSEP}$  nur für die Probenart und für den Wertebereich gültig, der durch die Validierproben repräsentiert wird.

Die Richtigkeit der für die Berechnung des  $S_{RMSEP}$  genutzten Referenzmethode wird bei diesem Vorgehen unterstellt. Die Richtigkeit der Referenzmethode ( $bias_{ref}$ ) ist mit zertifiziertem Referenzmaterial zu bestimmen. Sollte die Referenzmethode eine fehlende Richtigkeit aufweisen, ist dieses wie folgt bei der Bestimmung des Standardmessunsicherheit zu berücksichtigen:

Standardmessunsicherheit:  $U_c = \text{Wurzel}(S_{RMSEP}^2 + bias_{ref}^2)$ ,

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * U_c$

mit

$bias_{ref}$  = systematischer Fehler der Referenzmethode

Diese Korrektur ist notwendig, weil die Messunsicherheit auf den „wahren Wert“ und nicht auf einen „Referenzwert“ der Proben abzielt. Der zufällige Fehler der Referenzmethode ist im  $S_{RMSEP}$  enthalten und muss nicht weiter berücksichtigt werden. Zur Bestimmung der Richtigkeit der Referenzmethode ist entweder ein zertifiziertes Referenzmaterial gleicher Probenart aus dem Wertebereich der NIRS-Modelle oder der Mittelwert von mindestens 3 anderen zertifizierten Referenzmaterialien zu nutzen.

Beispiel B: Berechnung der Messunsicherheit aus den Daten einer Validierung

NIRS-Modell	Einheit	NIRS-Validierung			Referenzmethode	
		$S_{RMSEP}$	bias	$S_{SEP}$	$bias_{ref}$	$U_e$
Maissilage						
Rohprotein	g kg <sup>-1</sup> TM	3,2	1,0	3,0	2,0	7,5
Rohfaser	g kg <sup>-1</sup> TM	8,2	2,0	8,0	1,5	16,7

### C. NIRS-Modelle mit zentraler Validierung und Ringversuchen

Ausgangspunkt ist die Feststellung (A6.5 [2]), dass die Messunsicherheit für genormte, empirische Methoden aus der Vergleichbarkeit von laborübergreifenden Versuchen abgeleitet werden kann. Voraussetzung: Es sind keine anderen Fehlerquellen im Rahmen der „Ermittlung der Messunsicherheitskomponenten“ (Stufe 3 [2]) gefunden worden und die laborinterne Wiederholbarkeit in dem Labor ist identisch mit der allgemeinen Wiederholbarkeit aus dem laborübergreifenden Versuch.

Standardmessunsicherheit:  $U_c = s_R$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * s_R$ ,

mit

$s_R$  = Vergleichsstandardabweichung aus Ringversuchsdaten (z.B. nach ISO 5725)

Deckungsgleich auch in [4] und [5].

Voraussetzung:

1. keine weiteren bekannten Fehlerquellen
2. laborinterne Wiederholbarkeit identisch mit der aus dem Ringversuch
3. erfolgreiche Teilnahme des Labors an dem Ringversuch
4. mind. 6 Ringversuchsproben

Die Gültigkeit der so berechneten Messunsicherheit ist begrenzt auf das genutzte Modell und die im Ringversuch genutzte Probenart.

Die Richtigkeit der NIRS-Kalibrierung wird bei diesem Vorgehen unterstellt. Ist ein systematischer Fehler der NIRS-Kalibrierung ( $bias_{NIRS}$ ) bekannt, z.B. paralleler Ringversuch mit Referenzmethoden an den gleichen Proben, muss die Messunsicherheit diesen zusätzlich berücksichtigen:

Standardmessunsicherheit:  $U_c = \text{Wurzel}(s_R^2 + bias_{NIRS}^2)$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * U_c$

mit

$bias_{NIRS}$  = systematischer Fehler der NIRS-Methode

Über die verschiedenen Proben der Ringversuche muss der Mittelwert der Vergleichsstandardabweichungen berechnet werden. Dazu wird sachgerecht die Wurzel aus der Summe der quadrierten  $s_R$  geteilt durch die Anzahl der Proben berechnet:

$$s_R = \text{Wurzel}(\sum s_{R_i}^2 / n)$$

mit

$s_R$  = für weitere Berechnungen zu verwendende Vergleichsstandardabweichungen

$s_{R_i}$  = Vergleichsstandardabweichung der  $i$  von  $n$  Proben

Beispiel C: Berechnung der Messunsicherheit aus den Ergebnissen eines Ringversuchs

NIRS-Modell	Einheit	sr	sR	bias <sub>NIRS</sub>	U <sub>e</sub>
Silomais					
Rohprotein	g kg <sup>-1</sup> TM	3,1	4,5	0,0	9,0
Rohfaser	g kg <sup>-1</sup> TM	3,5	7,0	-1,5	14,32

#### D. Vorläufige Messunsicherheit unter idealen Wiederholbedingungen

Im Positionspapier der FG VI und VIII des VDLUFA wird als Variante A vorgeschlagen, die erweiterte Messunsicherheit aus der Wiederholbarkeit einer Messmethode abzuschätzen.

Wiederholbarkeit als Wiederholstandardabweichung:  $U_c = s_r$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 4 * s_r$

mit

$s_r$  = Wiederholstandardabweichung

Die Bestimmung der Wiederholstandardabweichung wird wie gewohnt unter idealen Wiederholbedingungen durchgeführt: mit identischer Methode und Apparatur, in einem kurzen Zeitraum, von einer Person und an einer Probe. Es wird unterstellt, dass idealerweise die Wiederholbarkeit halb so groß wie die Vergleichbarkeit ist [6, Seite 6].

Bei diesem Ansatz bleibt die Richtigkeit der Methode vollends unberücksichtigt. Die so ermittelte Messunsicherheit soll folgerichtig als „vorläufige Messunsicherheit“ bezeichnet werden.

Beispiel D: Berechnung der Messunsicherheit aus der Wiederholbarkeit

NIRS-Modell	Einheit	$s_r$	U <sub>e</sub>
Silomais			
Rohprotein	g kg <sup>-1</sup> TM	3,1	12,4
Rohfaser	g kg <sup>-1</sup> TM	3,5	14,0

### E. Vorläufige Messunsicherheit unter nicht-idealen Wiederholbedingungen

Im Positionspapier der FG VI und VIII des VDLUFA wird als Variante B vorgeschlagen, die erweiterte Messunsicherheit aus der Wiederholbarkeit einer Messmethode ohne ideale Wiederholbedingungen abzuschätzen.

Wiederholbarkeit als Wiederholstandardabweichung:  $U_c = s_r$

erweiterte Messunsicherheit:  $U_e = 2 * s_r$ ,

mit

$s_r$  = Wiederholstandardabweichung

Die Bestimmung der hier genutzten Wiederholstandardabweichung wird wie folgt durchgeführt: mit identischer Methode und Apparatur, über einen langen Zeitraum, von unterschiedlichen Personen, an einer Probe. Es wird unterstellt, dass die so bestimmte Wiederholbarkeit sich der Vergleichbarkeit annähert [6, Seite 6].

Bei diesem Ansatz bleibt die Richtigkeit der Methode vollends unberücksichtigt. Auch die so ermittelte Messunsicherheit soll folgerichtig als „vorläufige Messunsicherheit“ bezeichnet werden.

Beispiel E: Berechnung der Messunsicherheit aus der „Wiederholbarkeit“

NIRS-Modell	Einheit	$s_r$	$U_e$
Silomais			
Rohprotein	g kg <sup>-1</sup> TM	4,1	8,2
Rohfaser	g kg <sup>-1</sup> TM	6,6	13,2

### 4. Praktische Erwägungen

In der NIRS-Analytik genutzte Standardproben, die in der Küvette fixiert sind, eignen sich nicht für die Bestimmung der Messunsicherheit nach Verfahren D und E, weil der Faktor Küvettenneubefüllung nicht berücksichtigt würde.

## 5. Literatur

- [1] DIN 1319: „Grundlagen der Messtechnik“ (1995)
- [2] EURACHEM: CITAC Leitfaden „Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen“ (Feb. 2004)
- [3] ISO DIN 12099: "Animal feeding stuffs, cereals and milled cereal products — Guidelines for the application of near infrared spectrometry“ Working draft, vom 2015-03-12 (2015)
- [4] UBA: Angabe der Messunsicherheit bei chemischen Bodenuntersuchungen für den Vollzug der Bundes-Bodenschutz- und Altlasten-Verordnung (2008).
- [5] VDLUFA: Ermittlung der Messunsicherheit. Methode E 5 in Methodenbuch Band I (6. Teillieferung 2011).
- [6] VDLUFA: Position der Fachgruppen VI und VIII des VDLUFA zur Angabe der Messunsicherheit und Wiederfindungsrate gemäß VO (EG) Nr. 152/2009. Stand 2012-05-10.

## 6. Anmerkung

Die Notation für die Fehlergrößen und -komponenten in diesem Dokument ist an ISO 12099 angelehnt. Es gilt:

Komponente	ISO 12099	Unscrambler/ Calibration Workshop	Opus	ISI/WinISI/ UCal
<u>Modellerstellungsphase:</u>				
Fehler in der Kreuzvalidierung	$S_{SECV}$			SECV
<u>Validierung:</u>				
gesamter Fehler	$S_{RMSEP}$	RMSEP	RMSEP	SEP
systematischer Fehler, Richtigkeit	bias	bias	bias	bias
zufälliger Fehler, Präzision	$S_{SEP}$	SEP		SEP(C)