

SHTOJCA

KRITERET E PERFORMANCËS, KËRKESAT DHE PROCEDURAT TJERA PËR METODAT ANALITIKE

1. PËRKUFIZIMET

- 1.1. Saktësia nënkupton shkallen më të afërt të përputhjes në mes të rezultateve të testimit dhe vlerës së pranuar referente. Ajo përcaktohet me përcaktimin e vërtetësisë dhe precizitetit.
- 1.2. Gabimi alfa (α) nënkupton probabilitetin që mostra e testuar është në përputhshmëri , edhe pse janë fituar matje jo të përputhshme (vendim i rremë jo i përputhshëm).
- 1.3. Analit nënkupton substancën e cila duhet të detektohet, identifikohet dhe/ose të matet sasia e tij si dhe derivatet e tij të cilat paraqiten gjatë analizës.
- 1.4. Gabimi beta (β) nënkupton probabilitetin që mostra e testuar është me të vërtetë jo e përputhshme, edhe pse janë fituar matje të përputhshme (vendim i rremë i përputhshëm).
- 1.5. Devijimi i matjes nënkupton dallimin në mes rezultatit të pritur të testimit dhe vlerës së pranuar referente .
- 1.6. Standardi i kalibrimit nënkupton mjetin matës që paraqet sasinë e substancës së testuar, në mënyrë që të ndërlihdh vlerën e saj me bazën referente.
- 1.7. Material i certifikuar referent (CRM) nënkupton materialin te cilit i është përcaktuar përmbajtja e analitit specifik.
- 1.8. Ko-kromatografia nënkupton procedurën në të cilën ekstrakti, para hapit të kromatografisë, ndahet në dy pjesë. Pjesa e parë i nënshtrohet kromatografisë ashtu siç është. Pjesa e dytë përzihet me analitin standard i cili testohet. Pastaj kjo përzierje gjithashtu i nënshtrohet kromatografisë. Sasia e shtuar e analitit standard duhet të jetë e ngjashme me sasinë e vlerësuar të analitit në ekstrakt. Qëllimi i metodës është që të përmirësohet identifikimi i analitit gjatë përdorimit të metodave kromatografike, sidomos kur nuk mund të përdoret standardi i brendshëm i duhur.
- 1.9. Testimi krahasues nënkupton analizën e mostrës së njëjtë me të njëjtën metodë, në mënyrë që të përcaktohet performanca e metodës. Testimi përfshin gabimin e rastësishëm gjatë matjes dhe devijimin matës të laboratorëve.
- 1.10. Metoda konfirmative nënkupton metodën që jep të dhëna të plota apo të dhëna shtesë në bazë të së cilave substanca e caktuar mund të identifikohet qartë dhe nëse është e nevojshme, edhe t'i përcaktohet sasia sipas nivelit të interesit.
- 1.11. Kufiri i vendimit ($CC\alpha$) nënkupton kufirin ku dhe mbi të cilin mund të përfundohet, me probabilitet gabimi α , se mostra është jo e përputhshme.
- 1.12. Aftësia e detektimit ($CC\beta$) nënkupton përmbajtjen më të vogël të substancave që mund të detektohen, identifikohen dhe/ose të matet sasia në mostër me probabilitet gabimi " β ". Në rastin e substancave për të cilat është përcaktuar kufiri i lejuar , aftësia e detektimit është përqendrimi më i ulët të cilin një metodë është në gjendje të detektoj, në mostrat të cilat me të vërtetë janë të kontaminuara, me siguri statistikore $1-\beta$.Në rastin e substancave ku është përcaktuar kufiri i lejuar , kjo do të thotë se aftësia e detektimit është përqendrimi në të cilin metoda është në gjendje të detektoj përqendrimin në kufi të lejuar, me siguri statistikore $1-\beta$.
- 1.13. Mostra e pasuruar nënkupton mostrën e pasuruar me sasi të njohur të analitit e cila duhet të detektohet.
- 1.14. Krahasimi ndër-laboratorik nënkupton organizimin, zbatimin dhe vlerësimin e testimit të së njëjtës mostër në dy ose më shumë laboratorë në kushte të paracaktuara, në mënyrë që të caktohet performanca e testimit. Varësisht qëllimit, testimi mund të kategorizohet si testim krahasues apo kontrolli i cilësisë së punës së laboratorëve.
- 1.15. Standardi i brendshëm (IS) nënkupton substancën e cila nuk është e përmbajtur në mostër, vetitë fiziko-kimike të së cilës janë të ngjashme me cilësitë e analitit i cili duhet të identifikohet dhe i cili i shtohet në çdo mostër dhe çdo standard të kalibrimit.
- 1.16. Mostra laboratorike nënkupton mostrën e përgatitur për tu dërguar në laborator me qëllim të ekzaminimit dhe testimit.

- 1.17. Niveli i interesit nënkupton përqendrimin e substancës ose analitit në mostër i cili është i rëndësishëm që të përcaktohet në përputhshmëri me legjislacionin në fuqi.
- 1.18. Minimumi i kërkuar i limitit të performancës (MRPL) nënkupton përmbajtjen minimale të analitit në mostër, e cila duhet detektuar dhe konfirmuar. Kjo shërben për të harmonizuar performancën analitike të metodave për substancat për të cilat nuk është përcaktuar kufiri i lejuar.
- 1.19. Karakteristikat e performances nënkuptojnë cilësinë funksionale që mund t'i dedikohet metodës analitike. Kjo për shembull, mund të jetë specificiteti, saktësia, vërtetësia, preciziteti, përsëritshmëria, riprodhueshmëria, shfrytëzueshmëria, aftësia e detektimit dhe robusti.
- 1.20. Kriteret e performancës nënkuptojnë kërkesat në aspektin e performancës sipas të cilave mund të vlerësohet se metoda analitike është e përshtatshme dhe jep rezultate të besueshme.
- 1.21. Kufiri i lejuar nënkupton kufirin më të lartë të mbetjeve, nivelin maksimal ose tolerancën tjetër maksimale për substancat e përcaktuara nga legjislacionet e shteteve të tjera.
- 1.22. Preciziteti nënkupton shkallën e përputhjes mes rezultateve të testeve të pavarura të fituara sipas kushteve të parapara (paraprakisht të caktuara). Preciziteti zakonisht shprehet si pasaktësi dhe llogaritet si devijim standard i rezultateve të testimit. Sa më i vogël preciziteti, aq më i madh është devijimi standard .
- 1.23. Testimi i cilësisë së punës së laboratorit nënkupton analizën e të njëjtës mostër, gjatë të cilës laboratorët mund të zbatojnë metodën sipas përzgjedhjes së tyre, me kusht që këto metoda të zbatohen në kushte të zakonshme. Testimi duhet të kryhet në përputhje me udhëzimet e ISO 43-1 dhe 43-2 dhe mund të shërbejë për të vlerësuar riprodhueshmërinë (reproducibility) e metodave.
- 1.24. Metoda kualitative nënkupton metodën analitike e cila identifikon substancën në bazë të vetive të saja kimike, biologjike dhe fizike.
- 1.25. Metoda kuantitative nënkupton metodën analitike e cila përcakton sasinë ose përbërjen e masës së ndonjë substance në mënyrë që mund të shprehet me vlera numerike në njësi të caktuara.
- 1.26. Prova e verbër me reagjentë nënkupton aplikimin e tërë procesit analitik, por pa mostër testimi për analizë ose duke përdorur sasi të barabartë të tretesit të përshtatshëm në vend të mostrave të testimit për analizë.
- 1.27. Shfrytëzueshmëria (recovery) nënkupton përqindjen e përqendrimit real të substancës së ndarë gjatë procedurës analitike. Nëse materiali i vërtetuar referent nuk ekziston, atëherë përcaktohet gjatë validimit.
- 1.28. Materiali referent nënkupton materialin që ka një ose më shumë karakteristika të vërtetuara me metodë të validuar, ashtu që mund të përdoret për të kalibruar instrumentin ose për të vërtetuar metodën e matjes.
- 1.29. Përsëritshmëria (repeatability) nënkupton precizitetin nën kushtet e përsëritshmërisë.
- 1.30. Kushtet e përsëritshmërisë nënkuptojnë kushtet ku i njëjti analist, duke përdorur të njëjtën pajisje në të njëjtin laborator, arrin rezultate të pavarura të testimit duke aplikuar të njëjtën metodë në mostra identike të testimit.
- 1.31. Riprodhueshmëria (reproducibility) nënkupton saktësinë në kushte të riprodhueshmërisë.
- 1.32. Kushtet e riprodhueshmërisë nënkuptojnë kushtet në të cilat analistët e ndryshëm, duke përdorur pajisje të ndryshme në laboratorët e ndryshme, arrijnë rezultate të testimit duke aplikuar të njëjtën metodë në mostra identike të testimit.
- 1.33. Robusti (ruggedness) nënkupton ndryshueshmërinë e metodës analitike në ndryshimet e kushteve të testimit, që mund të shprehet si listë e mostrave, analitëve, kushteve të ruajtjes (magazinit), kushteve mjedisore dhe/ose kushteve të përgatitjes së mostrave sipas të cilave metoda mund të aplikohet ashtu siç është ose me ndryshime të vogla të caktuara. Të gjitha kushtet e testimit që në praktikë mund t'i nënshtrohen ndryshimeve (për shembull, qëndrueshmëria e reagjentëve, përbërja e mostrës, pH, temperatura) duhet të dëshmojnë të gjitha ndryshimet të cilat mund të ndikojnë në rezultatin e analizave.

1.34. Prova e verbër me mostër nënkupton aplikimin e tërë metodës analitike në nën-mostrën për analizën që është marrë nga mostra e cila nuk përmban analit.

1.35. Metodatat orientuese (screening method) nënkuptojnë metodatat që aplikohen për të zbuluar praninë e ndonjë substance ose llojit të substancave sipas nivelit të interesit. Këto metoda janë karakterizuar me aftësi për të përpunuar një numër të madh mostrash dhe përdoren për të rishikuar një numër të madh të mostrave me qëllim të detektimit të rezultateve potenciale jo të përputhshme. Janë të projektuara në mënyrë të veçantë që të shmangen rezultatit të rremë të përputhshëm.

1.36. Testimi i brendshëm laboratorik (validimi i brendshëm) nënkupton studim analitik që përfshinë një laborator të vetëm duke përdorur një metodë, për të analizuar materiale të njëjta apo të ndryshme të testimit, në kushte të ndryshme dhe gjatë intervaleve të arsyeshme dhe të gjata kohore.

1.37. Specificiteti (specificity) nënkupton aftësinë e metodës për të bërë dallimin në mes të analitit i cili matet prej substancave të tjera. Kjo veti është në funksion të teknikes matëse të përshkruar, por mund të ndryshon varësisht nga lloji i përbërësve apo i matriksit.

1.38. Shtimi i standardit (standard addition) nënkupton procedurën gjatë së cilës mostra për testim ndahet në dy (ose më shumë) nën-mostrat për analizë. Njëra nën-mostër analizohet si e tillë, ndërsa nën-mostrës së dytë, para analizës i shtohet sasia e njohur e standardit. Sasia e analitit standard e cila i shtohet duhet të jetë dy deri në pesë herë më e madhe se sasia e vlerësuar e analitit në mostër. Qëllimi i procedurës është që të përcaktohet përbërja e analitit në mostër, duke marrë parasysh përdorimin e procedurës analitike.

1.39. Standardi nënkupton analitin me përmbajtje, pastërti të njohur dhe të certifikuar që përdoret si material referent për analizë.

1.40. Substanca nënkupton materien me përbërje të veçantë ose të caktuar kimike dhe metabolitet e saj.

1.41. Nën-mostra për analizë nënkupton sasinë e materialit të marrë nga mostra për testim në të cilën kryhet eksperimenti ose e cila vëzhgohet.

1.42. Mostra për testim nënkupton mostrën e cila është përgatitur nga mostra laboratorike dhe nga e cila do të merren nën-mostrat për analizë.

1.43. Vërtetësia (trueness) nënkupton shkallën e përputhjes mes vlerës mesatare të fituar nga një seri e madhe e rezultateve të testimit dhe vlerës së pranuar referente. Vërtetësia zakonisht shprehet si devijim matës.

1.44. Njësitë nënkuptojnë njësitë e përshkruara në ISO 31 (20) dhe në Direktivën 71/354/EC.

1.45. Validimi nënkupton vërtetimin, me anë të testeve dhe sigurimit të provave reale, që kërkesat specifike sa i përket aplikimit të parashikuar janë përmbushur.

1.46. Riprodhueshmëria (reproducibility) brenda laboratorit nënkupton precizitetin e arritur në të njëjtin laborator në kushte të parapara (paraprakisht të vendosura), (në lidhje me, për shembull, metodën, materialin që testohet, analistët, mjedisin) në intervale të arsyeshme të gjata kohore.

2. KRITERET E PERFORMANCËS DHE KËRKESAT TJERA PËR METODAT E ANALIZËS

Metodat analitike ose kombinimet e metodave të ndryshme nga ato që janë më poshtë të përshkruara mund të shfrytëzohen si metoda orientuese (screening) ose konfirmative, nëse mund të dëshkohet se i plotësojnë kërkesat përkatëse të përcaktuara me këtë Vendim.

2.1. KËRKESAT E PËRGJITHSHME

2.1.1. Trajtimi i mostrave

Mostrat duhet të merren, trajtohen dhe përpunohen në atë mënyrë që të mundësohet maksimalisht detektimi i substancave. Procedurat e trajtimit të mostrave duhet të parandalojnë mundësinë e kontaminimit ose humbjes së rastësishme të analitit.

2.1.2. Performanca e testimeve

2.1.2.1. Shfrytëzueshmëria (recovery)

Nëse përdoret faktori i caktuar i korrigjimit të shfrytëzueshmërisë, shfrytëzueshmëria përcaktohet gjatë analizës së mostrave për çdo seri të mostrave. Nëse shfrytëzueshmëria është brenda kufijve, atëherë mund të përdoret faktori i caktuar i korrigjimit. Përndryshe, përdoret faktori i shfrytëzimit që fitohet nga seria e caktuar e mostrave, vetëm nëse nuk aplikohet faktori i caktuar i shfrytëzimit të analitit në mostër, gjatë së cilit për përcaktimin kuantitativ të analitit në mostër aplikohet procedura e shtimit të standardit (shih 3.5) ose ndonjë standardi të brendshëm.

2.1.2.2. Specificiteti

Me anë të metodës, duhet të bëhet i mundshëm dallimi në mes të analitit dhe substancave tjera, në kushte eksperimentale. Duhet të sigurohet një vlerësim se deri në çfarëmasë kjo është e mundshme. Duhet të zbatohen strategjitë për të shmangur çdo ndërhyrje të parashikuar me substanca gjatë aplikimit të strategjisë së teknikës matëse të përshkruar, për shembull, homologet, analoget, metabolitet e mbetjeve që testohen. Më e rëndësishme është që të testohet ndërhyrja që mund ta shkaktojë përbërësit e matriksit.

2.2. METODAT ORIENTUESE – SCREENING

Në pajtim me Udhëzimin Administrativ MA-NR. 26/2005 “Mbi masat për monitorimin e materieve të caktuara dhe mbetjeve të tyre në kafshët e gjalla dhe në produktet me prejardhje shtazore”, metodat orientuese janë vetëm ato teknika analitike për të cilat mund të dëshmohet në mënyrë të dokumentuar dhe të gjurmueshme që janë të validuara dhe që përqindja e rezultateve të përputhshme të rreme (false compliant) është më e vogël se 5% (gabimi β).

Në rast kur kemi rezultat të dyshuar jo të përputhshëm, ky rezultat duhet të vërtetohet me metoda konfirmative.

2.3. METODAT KONFIRMATIVE PËR MBETJET ORGANIKE DHE KONTAMINANTËT

Metodat konfirmative për mbetjet organike apo kontaminantët duhet të japin informacione mbi strukturën kimike të analitit. Prandaj, metodat që bazohen vetëm në analizën kromatografike pa aplikimin e detektimit spektrometrik, nuk janë të përshtatshme në vetvete për aplikim si metoda konfirmative. Megjithatë, nëse ndonjë procesi i mungon specificiteti, specificiteti i dëshiruar duhet të arrihet me procedurë analitike që përbëhet nga kombinimet përkatëse të pastrimit (clean up), ndarjes kromatografike dhe detektimit spektrometrik. Metodatat në vijim, gjegjësisht kombinimi i metodave, konsiderohen të përshtatshme për identifikimin e mbetjeve organike ose kontaminantëve të grupit të substancave të përmendura më poshtë :

Tabela 1.
Metodat e përshtatshme konfirmative për mbetjet organike ose kontaminantëve

Procedura e matjes	Substancat: Shtojca I Udhëzimit Administrativ MA-NR. 26/2005	Kufizimet
LC ose GC me detektimin e spektrometrisë në masë	Grupet A dhe B	Vetëm nëse pasohen me ndarje kromatografike të lidhur(on-line) ose të ndarë (off-line). Vetëm nëse përdoren teknika të skanimit të plotë të masës (<i>fullscan</i>) ose përdoren të paktën 3 (grupi B) ose 4 (grupi A) pika identifikuese për veprimet që nuk e incizojnë spektrin e plotë të masës
LC ose GC me detektim me anë të rrezatimit spektrometrik infra të kuq	Grupet A dhe B	Duhet të plotësohen kërkesat e veçanta për spektrometrinë e absorbimit të rrezatimit infra të kuq
LC- skanim i plotë (<i>full-scan</i>) DAD	Grupi B	Duhet të plotësohen kërkesat e veçanta për spektrometrinë e absorbimit të rrezatimit ultra vjollcë.
LC- fluorescente	Grupi B	Vetëm për molekulat që shfaqin fluorescencë natyrale dhe molekulat që shfaqin karakteristika fluorescente pas transformimit apo derivatizimit.
2-D TLC – <i>fullscan</i> UV/VIS	Grupi B	HPTLC-ja dy-dimensionale dhe ko-kromatografia janë obligative.
GC- Detektimi me kapje të elektroneve	Grupi B	Vetëm nëse përdoren dy kolona me polarizim të ndryshëm
LC-imunogrami	Grupi B	Vetëm nëse përdoren të paktën dy sisteme të ndryshme kromatografike ose e dyta, metoda e pavarur e detektimit.
LC-UV / VIS (gjatësia njëvalore)	Grupi B	Vetëm nëse përdoren të paktën dy sisteme të ndryshme kromatografike ose e dyta, metoda e pavarur e detektimit.

2.3.1. Kriteret e përbashkëta të performancës dhe kërkesat

Metodat konfirmative japin informata mbi strukturën kimike të analitit. Nëse më shumë komponime japin të njëjtin rezultat, metoda konfirmative nuk është në gjendje të bëjë dallimin në mes të këtyre kompozimeve. Metodat që bazohen vetëm në analizën kromatografike pa përdorimin e detektimit spektrometrik vetvetiu nuk janë të përshtatshme për përdorim si metoda konfirmative.

Nëse në metodë përdoret standardi i brendshëm i duhur, ai i shtohet mostrës testuese për analizë në fillim të procesit të ekstraktimit (nxjerrjes) sipas disponueshmërisë, duhet të përdoren forma izotopike të qëndrueshme të analitit të cilat janë veçanërisht të përshtatshme për detektimin spektrometrik të masës, ose komponimet që kanë strukturë të ngjashme me analitin.

Nëse nuk mund të përdoret standardi i brendshëm i përshtatshëm, identifikimi i analitit konfirmohet me ko-kromatografi. Në këtë rast, duhet të merret vetëm një pik ku lartësia e pikut ose hapësira duhet të jetë e barabartë me sasinë e shtuar të analitit .

Për kromatografinë me gaz (GC) ose kromatografinë me lëng (LC), gjerësia e pikut në gjysmën e lartësisë maksimale duhet të jetë në mes 90-110 % të shtrirjes së gjerësisë origjinale dhe koha e paraqitjes së pikut(retention time) duhet të jetë në një tolerancë prej 5%. Për metodat e kromatografisë në shtresë të hollë (TLC), rritet vetëm njolla për të cilën supozohet të jetë analiti nuk guxon të paraqitet njolla e re dhe pamja vizuale nuk duhet të ndryshojë.

Materiali referent apo i pasuruar që përmban sasi të njohura të analitit brenda kufirit të lejuar ose kufirit të vendimit (mostra kontrolluese jo e përputhshme) ose afër tyre si dhe materialet kontrolluese të përputhshme dhe prova e verbër me reagjentë (reagent blank), duhet t'i nënshtrohen gjithë procedurës në të njëjtën kohë me secilën seri të mostrave të analizuar të testimit. Radhitja e injektimit të ekstraktit në instrumentin analitik është si në vijim: prova e verbër me reagjent, mostra kontrolluese (standardi) e përputhshme, mostra ose mostrat që duhet të konfirmohen, prap mostra kontrolluese (standardi) e përputhshme dhe në fund mostra kontrolluese (standardi) jo e përputhshme. Çdo ndryshim i kësaj radhitjeje duhet të arsyetohet.

2.3.2. Kriteret shtesë të performancës dhe kërkesat tjera për metodat sasiore (kuantitative) të analizës

2.3.2.1. Vërtetësia (trueness) e metodave sasiore

Në rastin e analizave të përsëritura të një materiali referent të certifikuar, devijimi i riprodhueshmërisë, i cili është përcaktuar në mënyrë eksperimentale dhe i korrigjuar, nënkupton fraksionin e masës nga vlera e certifikuar e cila duhet të jetë brenda kufijve të mëposhtëm:

Tabela 2.

Vërtetësia minimale e metodave sasiore

Pjesa e masës	Kufijtë
$\leq 1 \mu\text{g/kg}$	- 50 % deri + 20 %
$> 1 \mu\text{g/kg}$ deri $10 \mu\text{g/kg}$	- 30 % deri + 10 %
$\geq 10 \mu\text{g/kg}$	- 20 % deri + 10 %

Nëse nuk ekzistojnë materiale referente të certifikuara (CRM), vërtetësia e matjeve mund të vlerësohet me shfrytëzimin e shtesës së sasisë së njohur të analitit në një matrikstë verbër . Të dhënat e korrigjuara me vlerën mesatare të shfrytëzueshmërisë janë të pranueshme vetëm nëse janë brenda kufijve të përcaktuara në tabelën 2.

2.3.2.2. Preciziteti i metodave sasiore (kuantitative)

Koeficienti i variacionit ndër-laboratorik (CV) për analizat e përsëritura të materialit referent apo të pasuruar, në kushtet e riprodhueshmërisë, nuk duhet të jetë më i madh se niveli i llogaritur me ekuacionin e Horwitz-it. Ekuacioni është:

$$CV = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

ku C është fraksioni i masës i shprehur si fuqi (eksponent) me bazën 10 (p. sh. $1 \text{ mg/g} = 10^{-3}$). Shembujt janë paraqitur në tabelën 3.

Tabela 3.

Shembujt e koeficientit të variacionit (CV) të riprodhueshmërisë (reproducibility) për metodat sasiore në fraksione të caktuara sipas masës së analitit

Pjesa e masës	CV e riprodhueshmërisë (%)
1 µg/kg	○*
10 µg/kg	○*
100 µg/kg	23
1 000 µg/kg	16

(*) për fraksionet e masës më të ulta se 100 µg/kg aplikim i ekuacioni të Horwitz-it, jep vlera të papranueshme të larta. Prandaj CV për përqendrim më të ulët se 100 µg/kg duhet të jetë sa më i ulët i mundshëm.

Për analizat e kryera në kushtet e përsëritshmërisë, CV (koeficienti i variacionit) brenda laboratorit zakonisht do të duhej të ishte në mes të gjysmës dhe dy të tretave të vlerave të mësipërme. Për analizat e kryera nën kushtet brenda laboratorit, CV nuk guxon të jetë më i madh se CV i riprodhueshmërisë.

Tek substancat për të cilat është vërtetuar kufiri i lejuar, metoda duhet të arrijë riprodhueshmërinë brenda laboratorit e cila nuk është më e madhe se CV e riprodhueshmërisë relevante tek përqendrimi prej $0,5 \times$ kufiri i lejuar.

2.3.3. Kriteret e performancës dhe kërkesat e tjera për detektimin me anë të spektrometrisë në masë

Metodat e spektrometrisë në masë mund të merren në konsideratë si metoda konfirmative vetëm nëse përcjellin ndarjet kromatografike të lidhura (*on-line*) ose të ndara (*off-line*).

2.3.3.1. Ndarja kromatografike

Për procedurat e GC-MS-së, ndarja me anë të kromatografisë me gaz kryhet me përdorimin e kolonave kapilare. Për procedurat LC-MS-së, ndarja kromatografike kryhet duke përdorur kolona përkatëse të LC-së. Për çdo rast, koha retencionit (retencion time) minimale e pranueshme për analitet që testohen duhet të jetë e barabartë me dyfishin e kohës të retencionit që korrespondon me vëllimin e zbrazët të kolonës. Koha e relative e retencionit së analitit për nën-mostrën për analiza duhet të përputhet me kohën e retencionit të standardit të kalibrimit brenda një intervali të caktuar kohor të retencionit. Intervali kohor i retencionit duhet të jetë në proporcion me aftësinë ndarëse të sistemit kromatografik. Proporcioni i kohës së retencionit të analistëve duhet të korrespondojë me kohën e retencionit të standardit të brendshëm, p.sh., koha relative e retencionit të analitit në krahasim me tretësirën e kalibrimit duhet të ketë tolerancë prej $\pm 0,5 \%$ për GC i $\pm 2,5 \%$ për LC.

2.3.3.2. Detektimi me anë të spektrometrisë në masë

Detektimi me anë të spektrometrisë në masë duhet të kryhet me përdorimin e teknikave MS, siç është incizimi i plotë i spektrave të masës (*fullscan*) ose monitorimi i joneve të përzgjedhura (SIM), si dhe krahasimi i teknikave të MS-MSⁿ, siç është monitorimi i reaksioneve të përzgjedhura (SRM) ose teknikat tjera të përshtatshme të MS ose MS-MSⁿ në kombinim me mënyrat e përshtatshme të jonizimit. Tek spektrometria në masë me rezolucion të lartë (HRMS), rezolucioni në përgjithësi duhet të jetë më i madh se 10 000 për rangun e plotë të masës në një interval prej 10 %.

Incizimi i plotë i spektrave të masës (*fullscan*): Kur bëhet determinimi me spektrometrinë në masë me incizimin e spektrave të plotë të masës, në spektër është obligative të jenë prezent të gjitha jonet diagnostikuese të matura [joni molekular, jonet

molekularekarakteristike të adukteve (jonet e shtuara), jonet karakteristike të fragmenteve dhe të gjitha jonet e izotopeve të tyre] me një intensitet relativ prej më shumë se 10 % në spektrin referent të standardit të kalibrimit.

Monitorimi i joneve të përzgjedhura (SIM): Kur behet determinimi me anë të spektrometrisë në masë me fragmentografi, joni molekular do të duhej të ishte një nga jonet diagnostikuese të përzgjedhur (joni molekular, aduktet karakteristike të joneve molekulare, jonet karakteristike të fragmenteve dhe të gjitha jonet izotope të tyre). Jonet e përzgjedhura diagnostikuese nuk do të duhej të ishin ekskluzivisht nga pjesa e njëjtë e molekulës. Raporti në mes të sinjalit dhe zhurmës (signal – to noise) për secilin jon diagnostikues duhet të jetë $\geq 3:1$.

Incizimi i plotë i spektrave të masës (*fullscan*) dhe monitorimii joneve të përzgjedhur (SIM): Intensitetet relative të joneve të detektuar, të shprehura si një përqindje e intensitetit të jonit më intensiv ose e jonit tranzit, duhet të korrespondoj me intensitetin e standardit të kalibrimit, qoftë nga tretësira e standardit të kalibrimit ose mostra të pasuruara me analit me përqendrim të njohur (spiked), në përqendrime të krahasueshme, të matura në të njëjtat kushte, me tolerancat si në vijim:

Tabela 4.

Tolerancat maksimale të lejuara për intensitetin relativ të joneve në teknika të ndryshme të spektrometrisë në masë

Intensiteti relativ (% e pikut bazë)	EI-GC-MS (relativ)	CI-GC-MS, GC-MS ⁿ LC-MS, LC-MS ⁿ (relativ)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % do 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % do 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 %	± 50 %

Interpretimi i të dhënave të arritura nga spektrometria në masë: Intensiteti relativ i joneve determinuara dhe/ose çifteve të joneve prekursor/produkt duhet të identifikohet duke bërë krahasimin e spektrave ose duke integruar sinjalet e gjurmëve të një mase. Kurdo që përdoret korigjimi në prapavijë (*background*), ai duhet të zbatohet njëjtë në të gjithë grumbullin e të dhënave (shih 2.3.1., paragrafi 4.) dhe duhet të jetë i specifikuar në mënyrë të qartë.

Incizimi i spektrave të plotë të masës (*fullscan*): Kur bëhet regjistrimi i spektrave të plotë të masës në një spektrometri të masës, atëherë duhet të jenë të pranishëm së paku katër jone të intensitetit relativ prej $\geq 10\%$ të pikut bazë. Joni molekular duhet të përfshihet nëse është i pranishëm në spektrin referent me intensitet prej $\geq 10\%$. Së paku katër jone duhet të jenë brenda tolerancave maksimale të lejuara për intensitetin relativ të joneve (Tabela 5). Për këtë rast na shërben edhe hulumtimi i librarisë në kompjuter. Në këtë rast, krahasimi i të dhënave të spektrit të masës në mes të mostrave për testim dhe tretësirës kalibruese duhet të jetë më i lartë nga faktori kritik i përputhjes. Ky faktor duhet të determinohet gjatë procesit të validimit për çdo analit, në bazë të spektrave për të cilët plotësohen kriteret e përshkuara më poshtë. Duhet të kontrollohet ndryshueshmëria e spektrave të shkaktuar nga matriksi dhe performanca e detektorëve.

Monitorimin e joneve të përzgjedhura (SIM): Nëse fragmentet e masës maten me teknika të tjera përveç incizimit të plotë të spektrave të masës (*fullscan*), për të interpretuar të dhënat zbatohet një sistem i pikave identifikuese. Për konfirmimin e substancave të shënuara në grupin A Shtojca Udhëzimit Administrativ MA-NR. 26/2005 mbi masat për monitorimin e materieve të caktuara dhe mbetjeve të tyre në kafshët e gjalla dhe në produktet me prejardhje shtazore, i nevojiten së paku 4 pika identifikuese. Për konfirmimin e substancave të shënuara në grupin B në Shtojcën I. Udhëzimit Administrativ MA-NR. 26/2005 mbi masat për

monitorimin e materieve të caktuara dhe mbetjeve të tyre në kafshët e gjalla dhe në produktet me prejardhje shtazore i nevojiten së paku 3 pika identifikuese. Tabela e mëposhtme tregon numrin e pikave identifikuese që mund t'i fitojë çdo teknikë themelore e spektrometrisë së masës. Megjithatë, për të fituar pikën identifikuese për konfirmim dhe për të llogaritur numrin e përgjithshëm të pikave identifikuese:

- (a) duhet të matet raporti (rate) i së paku një joni; dhe
- (b) të gjithë raportet relevante të matura të joneve duhet të plotësojnë kriteret e mësipërme; dhe
- (c) mund të kombinohen maksimalisht tri teknika ndarëse të komponimeve për të arritur një numër minimal të pikave identifikuese.

Tabela 5.

Relacionet në mes të llojeve klasave të fragmenteve të masave dhe pikave të fituara identifikuese

Teknika spektrometrisë në masë	Pikat identifikuese të fituara me jonin
Spektrometria në masë e rezolucionit të ulët	1,0
MR-MS ⁿ joni prekursor	1,0
LR- MS ⁿ produktet e tranzicionit	1,5
HRMS	2,0
HR- MS ⁿ joni prekursor	2,0
HR- MS ⁿ produktet e tranzicionit	2,5

- (1) Secili jon mund të numërohet vetëm një herë.
- (2) GC-MS me jonizim me ndikim të elektroneve konsiderohet të jetë një teknikë e ndryshme prej GC-MS me jonizimin kimik.
- (3) Për të rritur numrin e pikave identifikuese, mund të përdoren analitë të ndryshëm vetëm nëse në derivate vjen deri tek reaksionet e ndryshme kimike.
- (4) Për substancat e grupit A të Shtojcës I të Udhëzimit Administrativ MA-NR. 26/2005 "Mbi masat për monitorimin e materieve të caktuara dhe mbetjeve të tyre në kafshët e gjalla dhe në produktet me prejardhje shtazore", nëse gjatë procedurës analitike zbatohet njëra prej këtyre teknikave: HPLC në kombinim me incizimin e plotë të spektrave të masës (fullscan) DAD (*diode array detection*) me incizimin e spektrave të plotë; HPLC në kombinim me detektorin fluoreshent; HPLC në kombinim me imunogramin; kromatografia dy-dimensionale e shtresës së hollë (TLC) në kombinim me detektorin spektrometrik; këto teknika mund të kontribuojnë maksimalisht me një pikë identifikuese, me kusht që të plotësohen të gjitha kriteret që do të zbatohen për këto teknika.
- (5) Produktet e krijuara gjatë kalimit përfshijnë pasardhësit e gjeneratës së parë dhe pasardhësit e gjeneratës së dytë.

Tabela 6.

Shembujt nga numri i pikave identifikuese të cilat fitohen nga teknikat e ndryshme dhe kombinimet e tyre (n = numër i plotë)

Teknika/teknikat	Numri i joneve	Pikat identifikuese
GC-MS (EI ose CI)	N	n
GC-MS (EI dhe CI)	2 (EI) + 2 (CI)	4
GC-MS (EI ose CI) 2 derivate	2 (derivat A) + 2 (derivat B)	4
LC-MS	N	n
GC-MS-MS	1 prekursor dhe 2 pasardhës të gjeneratës së parë	4
LC-MS-MS	1 prekursor dhe 2 pasardhës të gjeneratës së parë	4
GC-MS-MS	2 jone prekursor, secili me nga një pasardhës të gjeneratës së parë	5
LC-MS-MS	2 jone prekursor, secili me nga një pasardhës të gjeneratës së parë	5
LC-MS-MS-MS	1 prekursor, 1 pasardhës të gjeneratës së parë dhe 2 pasardhës të gjeneratës së dytë	5,5
HRMS	N	2 n
GC-MS dhe LC-MS	2 + 2	4
GC-MS dhe HRMS	2 + 1	4

2.3.4. Kriteret e performancës dhe kërkesat e tjera për kromatografi në kombinim me detektimin infra të kuq

Piket përkatëse: piket përkatëse janë maksimumet e absorbimit në spektrin infra të kuq të standardit të kalibrimit që përmbushin kërkesat e mëposhtme:

2.3.4.1. Detektimet infra të kuqe

Maksimumi i absorbimit: duhet të jetë në intervalin e gjatësisë valore 4 000-500 cm⁻¹

Intensiteti i absorbimit: nuk guxon të jetë më i vogël se:

- (a) Një absorbancë specifike molare prej 40 krahasuar me nivelin bazë të pikut; ose nga
- (b) Një absorbancë relative prej 12,5 % nga absorbimet e pikut më intensiv në zonën 4 000-500 cm⁻¹

nëse të dyja maten në raport me absorbimin zero, dhe 5 % prej absorbimit të pikut më intensiv në zonën prej 4 000-500 cm⁻¹ nëse të dyja maten në krahasim me nivelin bazë të pikut.

Shënim: Edhe pse piket e përshtatshme në lidhje me (a) mund të jenë të preferuara nga pikëpamja teorike, ato në lidhje me (b) janë më të lehta për t'u përcaktuara në praktikë.

Numri i pikeve në spektrin infra kuq të analitit, frekuenca e të cilëve korrespondon me piket në spektrin e standardit të kalibrimit, është vendosur brenda një kufiri prej ± 1 cm⁻¹.

2.3.4.2. Interpretimi i të dhënave të spektrit infra të kuq

Absorbimi duhet të jetë i pranishëm në të gjitha zonat e spektrit të analitit i cili korrespondon me pikun përkatës në spektrin referent të standardit të kalibrimit. Një minimum prej gjashtë pikeve të përshtatshme është e nevojshme në spektrin infra të kuq të standardit të kalibrimit. Nëse ekzistojnë më pak se gjashtë pike të duhura (7), spektri përkatës nuk mund të përdoret si spektër referent. „Rezultati”, psh për qindja e pikeve përkatëse të gjetura në spektrin infra të kuq të analitëve, duhet të jetë të paktën 50. Nëse për pikun përkatës nuk ekziston përputhje adekuate, zona përkatëse e spektrit të analitit korrespondon me praninë e pikut të të njëjtit nivel. Metoda mund të aplikohet vetëm në piket e absorbimit në spektrin e mostrave, intensiteti i të cilit është të paktën trefishë sa zhurma prej pikut në pik.

2.3.5 Kriteret e performancës dhe kërkesat e tjera për detektimin e analitit duke përdorur kromatografinë e lëngët (LC) me teknikat e tjera të detektimit

2.3.5.1. Ndarja kromatografike

Duhet të përdoret një standardi i brendshëm, nëse një material i përshtatshëm për këtë qëllim është në dispozicion. Ky duhet, sipas mundësisë, të jetë një standard i cili ka kohën e retencionit të afërt me kohën e retencionit të analitit. Analiti duhet të shfaqet në kohën e retencionit e cila është tipike për standardin kalibruar korrespondues, në kushte të njëjta eksperimentale. Koha minimale e retencionit, e pranueshme për një analit, duhet të jetë dy herë sa koha e retencionit që korrespondon me vëllimin e zbrazët të kolonës. Raporti në mes të kohës së retencionit të analitit dhe kohës së retencionit të standardit të brendshëm, duhet të jetë me një tolerancë prej $\pm 2,5\%$ psh : koha relative e retencionit të analitit, duhet të jetë e njëjtë me kohën e retencionit të standardit të kalibrimit në matriksin përkatës.

2.3.5.2. Detektimi UV/VIS me skanim të plotë (full-scan)

Duhet të plotësohen kriteret e performancës për metodat e kromatografisë së lëngët (LC). Maksimumet e absorbimit në spektrin e analitit duhet të jenë në të njëjtën gjatësi valore me ato të standardit të kalibrimit, brenda një tolerance të determinuar me rezolucionin e sistemit të detektimit. Kur detektimi bëhet me ndihmën e DAD (Diode array detection), toleranca është zakonisht brenda ± 2 nm. Për pjesët e dy spektrave absorbanca relative e të cilëve është $\geq 10\%$, spektri i analitit mbi 220 nm nuk duhet dukshëm të ndryshojë nga spektri i standardit të kalibrimit. Ky kriter është përmbushur, kur së pari, nëse maksimumet e njëjta janë prezentë dhe së dyti, kur ndryshimi në mes të dy spektrave në asnjë pik nuk është vërejtur se është më i madh 10 % e absorbimit të standardit të kalibrimit. Në rast të kërkimit në librari elektronike në kompjuter, në bazën e të dhënave dhe krahasimeve, krahasimi i të dhënave spektrale në mostrat e testimit me ato të tretësirës së kalibrimit duhet të kaloj faktorin kritik të përputhjes. Ky faktor duhet të determinohet gjatë procesit të validimit për çdo analit, në bazë të spektrit të tij, për të cilin kriteret e përshkuara më lartë janë përmbushur. Duhet të kontrollohet variabiliteti i spektrave i shkaktuar nga matriksi dhe performanca e detektorit.

2.3.5.3. Kriteret e performancës për detektimin fluorometrik

Duhet të plotësohen kriteret e performancës për metodat e kromatografisë së lëngët (LC). Kjo i referohet molekulave që shfaqin fluoreshencë natyrore dhe molekulave që shfaqin fluoreshencë pas transformimit apo derivatizimit. Selektimi i të gjatësive valore të eksitimit dhe emetimit në kombinim me kushtet kromatografike duhet të bëhet në atë mënyrë që të minimizohet sasia e komponentëve në ekstraktet e mostrave të verbëra. Maksimumi i pikut më të afërt në kromatogram duhet të ndahet nga pikë i analitit të caktuar së paku me një pik të plotë me gjerësi 10 % nga lartësia maksimale e pikut të analitit.

2.3.5.4. Kriteret e performancës për determinimin e analitit përmes imunogramit - LC

Imunogrami- LC nuk është i përshtatshëm për përdorimi metodë konfirmative.

Duhet të plotësohen kriteret relevante për metodat e kromatografisë së lëngët.

Parametrat e kontrollit të cilësisë të përcaktuar paraprakisht, të tilla si lidhëse jo-specifike, lidhja relative e mostrave për kontroll, vlera e absorbimit të mostrave të verbëra, duhet të jenë brenda kufijve të arritura gjatë validimit të testimit.

Imunogrami duhet të ndërtohet nga të paktën pesë fraksione.

Çdo fraksion duhet të jetë më pak se gjysma e gjerësisë së pikut.

Fraksioni me përmbajtje maksimale të analitit duhet të jetë i njëjtë për mostrën e dyshuar, për mostrën e kontrollit jo të përputhshme dhe standardin.

2.3.5.5. Përcaktimi i analitit me kromatografi të lëngët(LC) me UV/VIS detektim (gjatësi valore të vetme)

Kromatografia e lëngët (LC) me UV/VIS detektim (gjatësi valore të vetme) nuk është e përshtatshme si e vetme të përdoret si metodë konfirmative.

Maksimumi i pikut më të afërt në kromatogram duhet të ndahet nga piku i analitit të caktuar me një gjerësi së paku sa një pik i plotë në 10 % nga lartësia maksimale e pikut të analitit.

2.3.6. Kriteret e performancës dhe kërkesat e tjera për determinimin e analitit me anë të aplikimit 2-D TLC me kombinim me detektimin spektrometrik me skanim të plotë UV/VIS

Kromatografia dy dimensionale e shtresës së hollë të efikasitetit të lartë (HPTLC) dhe ko-kromatografia janë të detyrueshme.

Vlerat RF të analitëve duhet të përputhen me vlerat RF të standardit me tolerancë prej $\pm 5\%$. Shfaqja vizuale e analitit nuk guxon të ndryshojë nga shfaqja vizuale e standardit.

Tek njollat e së njëjtës ngjyrë, qendra e njollës më të afërt duhet të jetë e ndarë nga qendra e njollës së analitit për të paktën sa gjysma e shumës së diametrit të njollës.

Spektri i analitit nuk guxon të ketë dallim vizual nga spektri i standardit, siç është përshkruar për detektimin UV/VIS me incizimin e spektrit me skanim të plotë.

Në rast të kërkimit në librari elektronike në kompjuter, në bazën e të dhënave dhe krahasimit, krahasimi i të dhënave spektrale në mostrat e testimit me ato të tretësirës së kalibrimit duhet të kalojë faktorin kritik të përputhjes. Ky faktor duhet të determinohet gjatë procesit të validimit për çdo analit, në bazë të spektrit të tij për të cilin kriteret e përshkruara më lartë janë përmbushur. Duhet të kontrollohet variabiliteti i spektrave i shkaktuar nga matriksi dhe performanca e detektorit.

2.3.7. Kriteret e performancës dhe kërkesat për determinimin e analitit me kromatografi të gaztë (GC) me detektimin me kapje të elektroneve (ECD)

Duhet të përdoret një standard i brendshëm, nëse një material i përshtatshëm për këtë qëllim është në dispozicion. Ky duhet, sipas mundësisë të jetë një standard i cili ka kohën e retencionit të afërt me atë të analitit. Analiti duhet të shfaqet në kohën e retencionit e cila është tipike për standardin kalibruar korrespondues në kushte të njëjta eksperimentale. Koha minimale e retencionit e pranueshme për një analit duhet të jetë dy herë sa koha e retencionit që korrespondon me vëllimin e zbrazët të kolonës. Raporti në mes të kohës së retencionit të analitit dhe kohës së retencionit të standardit të brendshëm, psh: koha relative e retencionit të analitit, duhet të jetë e njëjtë me kohën e retencionit të standardit të kalibrimit në matriksin e përkatës, me tolerancë prej $\pm 0,5\%$. Maksimumi i pikut më të afërt në kromatogram duhet të ndahet nga piku i analitit të caktuar me gjerësi së paku sa një pik të plotë në 10 % nga lartësia maksimale e pikut të analitit. Për informacione shtesë mund të përdoret ko-kromatografia.

2.4. METODAT KONFIRMATIVE PËR ELEMENTET KIMIKE

Analizat konfirmative për elementet kimike duhet të bazohen në konceptin e identifikimit të qartë dhe të saktë si dhe përcaktimin sasior dhe preciz, me anë të provave fiziko-kimike që janë unike për elementin përkatës në nivel të interesit (p. sh. Karakteristikë e elementeve mund të jetë gjatësia valore e rrezatimit të emetuar ose absorbuar, masat atomike).

Metodat e më poshtme ose kombinimet e metodave konsiderohen të përshtatshme për identifikimin e elementeve kimike.

Tabela 7.
Metodat konfirmative të përshtatshme për elementet kimike

Teknika	Parametri i matur
Voltametria diferenciale e pulsit me nxjerrje anodike	Sinjali elektrik
Spektrometria e absorbimit atomik	
Flaka	Gjatësia valore e absorbimit
Gjenerimi i hidrureve	Gjatësia valore e absorbimit
Avulli i ftohtë	Gjatësia valore e absorbimit
Atomizimi elektrotermik (furra grafite)	Gjatësia valore e absorbimit
Spektrometria e emetimit atomik	
Plazma induktive e lidhur	Gjatësia valore e emisionit
Spektrometria në masë	
Plazma induktive e lidhur	Raporti i masës - ngarkesë

2.4.1. Kriteret e përbashkëta të performancës dhe kërkesat tjera për metodat konfirmative

Materiali referent apo i pasuruar që përmban sasi të njohur të analitit afër ose brenda limitit maksimal të lejuar ose limitit të vendimit (mostra kontrolluese jo e përputhshme) si dhe materialet kontrolluese të përputhshme dhe prova e verbër me reagjentë, duhet të nënshtrohen të gjithë procedurës në të njëjtën kohë me secilën seri të mostrave të analizuarra të testimit. Radhitja e injektimit të ekstraktit në instrumentin analitik është si në vijim: prova e verbër me reagjent, mostra kontrolluese e përputhshme, mostra ose mostrat që konfirmohen, mostra e kontrolluese e përputhshme edhe së fundmi mostra kontrolluese jo e përputhshme. Çdo ndryshim i kësaj radhitje duhet të arsyetohet.

Në përgjithësi, shumica e teknikave analitike kërkojnë tretje të plotë të matriksit organik për të përfituar tretësirën për determinimin e analitit. Kjo mund të arrihet duke përdorur procedurat mikrovalore të mineralizimit të analitit të cilat zvogëlojnë rrezikun e humbjes ose kontaminimit të analitit që na intereson. Për këtë qëllim duhet të përdoren enë prej tefloni të dekontaminuara të cilësisë së lartë. Nëse aplikohen metoda të tjera siç janë: tretje e lagësht apo e thatë, duhet të mbahen dëshmi të dokumentuara për të përjashtuar humbje potenciale apo fenomenin të kontaminimit. Procedurat ndarëse (p.sh ekstraktimi) mundet që në rrethana të caktuara të zgjidhen si një alternativë për tretjen dhe ndarjen e analitit nga komponentët e matriksit ose për të përqendruar analitin, në mënyrë që ta bëjë atë të përshtatshëm për futje në pajisje analitike.

Për sa i përket kalibrimit, qoftë i jashtëm apo i bazuar në metodën e standardeve shtesë, duhet patur kujdes që mos të tejkalohet radha e punës që është vendosur për analizë. Në rast të kalibrimit të jashtëm, standardet e kalibrimit duhet të përgatiten domosdoshmërisht në tretje, që sa më shumë që është e mundur të përputhet me përbërjen e tretësirës së mostrës. Nëse kërkohen rrethana specifike analitike, aplikohet edhe korigjimi në prapavijë.

2.4.2. Kriteret shtesë të performancës dhe kërkesat e tjera për metodat sasiore të analizave

2.4.2.1. Vërtetësia e metodave sasiore

Në rast të analizave të përsëritura të një materiali referent të certifikuar për elementet kimike, devijimi i mesatares së përmbajtjes së determinuar, që është vërtetuar në mënyrë eksperimentale, nuk duhet të jetë jashtë kufirit prej $\pm 10\%$. Nëse nuk ekziston materiali referent i certifikuar, është e pranueshme që vërtetësia e matjeve është vlerësuar nëpërmjet shfrytëzueshmërisë së shtimit të sasisë së njohur të elementit në mostrën e panjohur. Ndryshe nga përmbajtja analitike, elementi i shtuar nuk është kimikisht i lidhur me matriksin real dhe për këtë arsye rezultatet e arritura nga kjo qasje kanë vlefshmëri më të vogël se sa ato që arrihen nëpërmjet përdorimit të CRM. Të dhënat e shfrytëzueshmërisë janë të pranueshme vetëm kur ato janë brenda kufirit $\pm 10\%$ të vlerës së synuar.

2.4.2.2. Saktësia e metodave sasiore

Në rast të analizave të përsëritura të mostrave të kryera brenda laboratorit në kushte të riprodhueshmërisë, koeficienti i variacionit (CV) brenda-laboratorik nuk duhet të kalojë vlerat e mëposhtme:

Tabela 8.

CV për metodat sasiore në intervalin e fraksionit të masës së elementit

Fraksioni i masës	CV (%)
$\geq 10 \mu\text{g/kg}$ deri $100 \mu\text{g/kg}$	20
$\geq 100 \mu\text{g/kg}$ deri $1\,000 \mu\text{g/kg}$	15
$\geq 1\,000 \mu\text{g/kg}$	10

2.4.3. Kërkesat specifike për voltametrinë diferenciale të pulsit me nxjerrje anodike (DPASV)

Është e rëndësishme të veçantë që substancat organike në mostër të shkatërrohen plotësisht para se të fillojë përcaktimi i DPASV. Në voltamogram nuk guxon të shihet asnjë sinjal i gjerë për shkak të pranisë së materialeve organike. Komponenti i matriksit inorganik mund të ndikojë në lartësinë e pikut DPASV. Prandaj, përcaktimi sasior duhet të bëhet me metodën e shtimit të standardeve. Lloji tipik i tretësirës së mostrës voltamogramme duhet të dorëzohen së bashku me metodën.

2.4.4. Kërkesat specifike për spektrometrinë e absorbimit atomik (AAS)

Kjo teknikë në parim shërben për përcaktimin e një elementi prandaj kërkon optimizimin e parametrave eksperimentale varësisht nga elementi i caktuar që determinohet në mënyrë eksperimentale. Sa herë që kjo është e mundur, rezultatet duhet të kontrollohen në mënyrë cilësore dhe sasiore me ndihmën e linjave alternative absorbuese (do të ishte ideale të përzgjidhen dy linja të ndryshme). Standardi i kalibrimit duhet të përgatitet në tretësirën e matriksit përbërja e së cilës duhet të jetë sa më e ngjashme me përbërjen e tretësirës së mostrës që matet (p. sh. përqendrimi i acidit ose përbërja e modifikuesit). Në mënyrë që të minimizohen vlerat blank, të gjithë reagjentët duhet të jenë në shkallën më të lartë të pastërtisë. Në varësi nga metoda e avullimit dhe/ose atomizmi i mostrës, mund të dallohen lloje të ndryshme të spektrometrisë së absorbimit atomik.

2.4.4.1. Kërkesat specifike për spektrometrinë e absorbimit atomik në flakë

Parametrat e Instrumentit duhet të optimizohen për secilin element. Sidomos duhet të kontrollohet përbërja e gazit dhe shpejtësia e rrjedhjes. Për t'i shmangur interferencat e

shkaktuara nga absorbimi i mjedisit duhet të përdoret korrektori me një korigjim të vazhdueshëm. Në rastin e matriksit të panjohur, duhet të vërtetohet nëse ka nevojë për korrigjim në prapavijë.

2.4.4.2 Kërkesat specifike për spektrometrinë e absorbimit atomik me furrë grafitë

Kontaminimi në laborator shpesh ndikon në saktësinë kur punojmë në nivele të ultra -gjurmë në furrën grafitë. Prandaj, para trajtimit të mostrës dhe standardit duhet të përdoren reagjent të pastërtisë së lartë, ujë i dejonizuar dhe materiale prej plastikës inerte. Parametrat e Instrumentit duhet të optimizohen për secilin element. Posaçërisht duhet të kontrollohen kushtet e para përpunimit dhe të atomizimit (temperatura, koha), si dhe modifikimi i matriksit.

Puna nën kushtet të atomizimit izotermik (p. sh. gypi i nxehur i grafitit tërthor me vendosjen e platformës *L'vov* (8) zvogëlon efektin e matriksit në drejtim të atomizimit të analitëve. Kombinimi me modifikimin e matriksit dhe me korigjimin e Zeeman-it në prapavijë (9), lejon përcaktimin e sasisë duke përdorur një lakore të kalibrimit e cila bazohet në matjen e tretjeve standarde ujore.

2.4.5. Kërkesat specifike për spektrometrinë e absorbimit atomik për gjenerimin e hidrureve

Komponimet organike që përmbajnë elemente të tilla si arseni, bismuthi, germaniumi, plumbi, antimoni, seleni, kallaji dhe teluri mund të jenë shumë të qëndrueshme dhe mund të kërkojnë shpërbërje oksidative, për të marrë rezultate të sakta për përqindjen totale të elementit. Prandaj rekomandohet shpërbërja mikrovalore ose djegia me presion të lartë në kushte të fuqishme oksiduese. Vëmendja më e madhe duhet t'i kushtohet konvertimit të plotë dhe riprodhues të elementeve në hidrure përkatëse.

Formimi i hidrurit të arsenit në tretësirën e acidit klorhidrik me NaBH_4 varet nga gjendja e oksidimit të arsenit (As (III) formimi i shpejt, As (V) periudhë më e gjatë e formimit). Për të shmangur humbjen e ndjeshmërisë në përcaktimin e As (V) me ndihmën e teknikës injektim-rrjedhëse, e cila është për shkak të kohës së shkurtër të reagimit në këtë sistem, As (V) duhet të reduktohet në As (III) pas shpërbërjes oksiduese. Për këtë qëllim janë të përshtatshëm joduri i kaliumit /acidi askorbik ose cisteina. Në të njëjtën mënyrë duhet të trajtohen mostrat e verbra, tretësirat kalibruese dhe tretësirat e mostrave. Duke punuar me një sistem në grup kjo lejon përcaktimin e dy llojeve të arsenit AS (III) dhe As (V) pa ndikuar në saktësi. Për shkak të formimit të vonuar të hidrurit të As (V), kalibrimi do të kryhet me integrimin e zonës së pikut. Parametrat e instrumentit duhet të optimizohen. Rrjedhja e gazit i cili e bartë hidrurin në atomizator është shumë i rëndësishëm dhe duhet të kontrollohet.

2.4.6. Kërkesat specifike për spektrometrinë e absorbimit atomik me avull të ftohtë

Avulli i ftohtë përdoret vetëm në rastin e merkurit (Hg). Për shkak të humbjeve të merkurit elementar të shkaktuara nga avullimi dhe absorbimi, kërkohet kujdes i veçantë gjatë gjithë kohës së analizës. Duhet shmangur me kujdes kontaminimin me reagjent apo nga mjedisi. Komponimet organike që përmbajnë merkur kërkojnë dekompozim oksidues, për të marrë të dhëna të sakta mbi përqindjen totale të merkurit. Për dekompozim duhet të përdoren përbërje të mbyllura me tretje me mikrovalë ose djegie me presion të lartë. Pajisjet që kanë rënë në kontakt me merkurin duhet të pastrohen me kujdes.

Krahasimi i teknikës rrjedhëse injektuese ofron disa përparësi. Për kufijtë më të ulët të vendimit rekomandohet absorbimi elementar i merkurit në absorbues prej ari/platini dhe pastaj desorpcioni termik (aftësia e substancës që analizohet që të kalojë bashkë me fazën mobile). Kontakti i adsorbuesve ose i qelizës me lagështi çrregullon matjen dhe duhet të shmanget.

2.4.7. Kërkesat specifike për induktivitet të kombinuar me spektrometrinë e emisionit atomik plazma (ICP-AES)

Induktiviteti i kombinuar me spektrometrinë e emisionit atomik plazma është metodë multi-element që mundëson matjen e njëkohshme të elementeve të ndryshme. Për të aplikuar metodën ICP-AES, mostrat së pari duhet të përpunohen në mënyrë që të dekompozohet matriksi organik. Për këtë qëllim aplikohen sistemet e mbyllura të përpunimit me mikrovalë ose të djegia me presion të lartë. Që analiza ICP-AES të jetë efektive, me rëndësi të veçantë janë kalibrimet e instrumenteve dhe përzgjedhja e elementeve ose e gjatësisë valore. Për kalibrimin e instrumenteve, në rastet e lakoreve lineare të kalibrimit, zakonisht është e nevojshme të matet tretësira e kalibrimit vetëm për katër përqendrime, sepse lakoret e kalibrimit të metodës ICP-AES janë zakonisht lineare përgjatë katër deri në gjashtë radhë të madhësisë së përqendrimit. Kalibrimi i sistemit ICP-AES kryesisht bëhet me standardin multi-element i cili duhet të përgatitet në tretësirën që përmban të njëjtin acid tretës matës. Sa i përket lakores lineare, duhet të kontrollohen përqendrimet e elementeve.

Përzgjedhja e gjatësive valore për matjen e emetimeve prej analiti duhet të jetë e përshtatur për determinimin e përqendrimeve të elementeve të përcaktuara. Nëse përqendrimi i analiteve është jashtë fushës së veprimit të një linje të emetimit, duhet të zbatohet linja tjetër e emetimit. Së pari zgjidhet linja më e ndjeshme e emetimit (pa pengesa), pastaj një linjë më pak e ndjeshme. Tek analiza në kufij të detektimit, ose në afërsi të këtij kufiri, zakonisht është më së miri të përzgjidhet linja më e ndjeshme për analitin përkatës. Ndërhyrjet spektrale ose ndërhyrjet në prapavijë krijojnë ndërhyrjet më të mëdha tek metoda ICP-AES. Janë të mundshme ndërhyrjet, për shembull, zhvendosje e thjeshtë e mjedisit, një zhvendosje e pjerrët e mjedisit, mbivendosje direkte e spektrit dhe zhvendosje komplekse e mjedisit. Secila nga këto interferenca ka shkaqet dhe korigjimet e veta. Varësisht nga matriksi korigjohen interferencat dhe optimizohen parametrat e punës. Disa ndërhyrje mund të shmangen me hollimin ose përshtatjen e matriksit. Në çdo grup të mostrave të analizuar të testimit, duhet të përpunohen edhe materiali referent edhe i fortifikuar që përmbajnë sasi të njohur të një apo më shumë analitëve. Gjithashtu mostra e verbër duhet të trajtohet në të njëjtën mënyrë. Për testimin e devijimit, standardi duhet të kontrollohet, për shembull, pas 10 mostrave. Të gjithë reagjentët dhe plazma e gazit duhet të jenë të pastërtisë më të lartë të mundshme.

2.4.8. Kërkesat specifike për induktivitet të kombinuar me spektrometrinë e masës (ICP-MS)

Përcaktimi i elementeve të rralla, të mesatares së masës atomike, siç janë kromi, bakri dhe nikeli mund t'i nënshtrohen ndërhyrjeve të fuqishme nga jonet tjera isobarike ose/dhe nga jonet poli atomike. Kjo mund të pengohet vetëm nëse fuqia e shkrirjes është së paku 7 000-8 000. Vështirësitë që lidhen me teknikat MS përfshijnë devijimin e punës së instrumentit, efektet e matriksit dhe interferencat e joneve molekulare ($m/z < 80$). Për të përmirësuar devijimin e punës së instrumenteve dhe efektet të matriksit, nevojitet standardizimi i brendshëm i shumëfishtë i cili e mbulon një seri të njëjtë të masave të cilat mund të determinohen.

Para matjes me anë të metodës ICP-MS, është i nevojshëm dekompozimi total i substancave organike në mostra. Si tek spektrometria e absorbimit atomik (AAS), elementet avulluese p.sh. jodi, duhet të barten pas dekompozimit në enë të mbyllura në gjendje oksiduese. Ndërhyrjet më të fuqishme shkaktohen me kombinimin e joneve molekulare të argonit (gazi plazmatik), hidrogjenit, karbonit, azotit dhe oksigjenit (acidet si substanca tretëse, papastërtia e gazit plazmatik si dhe gazrave të tërhequra nga atmosfera) si dhe me matriksin e mostrës. Për t'i shmangur interferencat, kërkohet degradimi i plotë, matjet e ambientit si dhe përzgjedhja e përshtatshme e masave analitike ndonjëherë të lidhura me sinjalin e detektorit të zvogëluar (kufiri më i dobët i detektimit) dhe acidit si substancë tretëse, p.sh. acidi nitrik.

Për t'i determinuar elementet, duhet të përjashtohen interferencat nëpërmjet përzgjedhjes së masave analitike, duke përfshirë konfirmimin e raporteve izotopike. Për çdo matje, me ndihmën e standardit të brendshëm, duhet të verifikohet përgjigja e instrumentit në kuptim të Fano faktorit.

2. VALIDIMI

Validimi duhet të demonstroj që metoda analitike përputhet me kriteret e zbatueshme për karakteristikat e performancës përkatëse.

Qëllime të ndryshme të kontrollit kërkojnë kategoritë e ndryshme të metodave. Tabela e mëposhtme tregon cilat karakteristika duhet të verifikohen për çdo lloj të metodës.

Tabela 9.
Klasifikimi i metodave analitike sipas karakteristikave të performancës të cilat duhet të përcaktohen.

		Limiti i detektimit CC β	Limiti i vendimit CC α	Vërtetësia/Shfrytëzueshmëria	Preciziteti	Selektiviteti/Specificiteti	Aplikimi/Robusti/Qëndrueshmëria
Metoda kualitative	S	+	-	-	-	+	+
	C	+	+	-	-	+	+
Metodat kuantitative	S	+	-	-	+	+	+
	C	+	+	+	+	+	+

S = metodat orientuese; C = metodat konfirmative; + = përcaktimi është i obligueshëm

3.1. PROCEDURAT E VALIDIMIT

Ky kapitull na jep shembuj dhe/ose udhëzime për procedurat e validimit të metodave analitike. Mund të aplikohen edhe procedurat e tjera për të treguar se metoda analitike përmbush kriteret e performancës, me kusht që të ofrojnë nivelin e njëjtë dhe kualitetin e informatave.

Validimi, gjithashtu mund të bëhet me kryerjen e analizave ndër-laboratorike siç përcaktohet edhe nga Codex Alimentarius, ISO ose IUPAC (12), ose nëpërmjet metodave alternative siç janë studimet në një laborator të vetëm, përkatësisht validimi i brendshëm (13)(14). Kjo pjesë përqendrohet në studime brenda në një laborator të vetëm (miratimi i brendshëm) nëpërmjet qasjes modulare. Kjo procedurë përbëhet nga:

1. përmbledhja e karakteristikave të përbashkëta të cilat janë të pavarura nga modeli i aplikuar i validimit; dhe.
2. më shumë modele specifike- procedura të varura , siç përshkruhet në tabelën 10.

Tabela 10.
Parametrat e performancës model-të pavarura dhe model-të varura

Validimi			
Parametrat e performancës model-të pavarura		Parametrat e performancës model-të varura	
Karakteristikat përbashkëta performancës (3.1.1.)	e të	Procedura konvencionale e validimit (3.1.2.)	Procedura e brendshme e validimit (3.1.3.)
Specificiteti		Shfrytëzueshmëria	Shfrytëzueshmëria
Vërtetësia		Përsëritshmëria	Përsëritshmëria
Robusti: ndryshime të vogla	të	Riprodhueshmëria brenda laboratorit	Riprodhueshmëria brenda laboratorit
Qëndrueshmëria		Riprodhueshmëria	Riprodhueshmëria
		Limiti i vendimit($CC\alpha$)	Limiti i vendimit($CC\alpha$)
		Aftësia e detektimit ($CC\beta$)	Aftësia e detektimit ($CC\beta$)
		Lakoret e kalibrimit	Lakoret e kalibrimit
		Robusti: ndryshime më të mëdha	Robusti

3.1.1. Parametrat e performancës model-të pavarura

Pa marrë parasysh se cilën procedurë të validimit zgjedhim, duhet të përcaktohen karakteristikat vijuese të performancës. Për të zvogëluar vëllimin e punës, mund të aplikohet procedura e hartuar me kujdes dhe me saktësi statistikore në të cilën kombinohen eksperimentet e kryera me qëllim të determinimit të parametrave të ndryshëm.

3.1.1.1. Specificiteti

Për metodat analitike është me rëndësi mundësia e dallimit në mes analitëve dhe substancave të afërta me ta (izomerët, metabolitët, produktet e degradimit, substancat endogjene, komponentët e matriksit etj.). Kërkohe kryerja e dy procedurave për t'i verifikuar interferencat.

Prandaj, përzgjidhen substanca të cilat mund të shkaktojnë interferencë dhe duhet të analizohen mostrat e verbëra relevante për të detektuar ekzistimin e interferencave të mundshme dhe për të vlerësuar efektin e tyre:

- përzgjidhni një varg të komponimeve kimike të përafërta (metabolit, derivate etj.) ose substanca të tjera të ngjashme që gjenden në komponentin e interesit dhe që mund të jenë të pranishme në mostër;
- analizoni numrin reprezentativ të mostrave të verbëra ($n \geq 20$) dhe verifikoni nëse ka ndonjë interferencë (sinjalet, piket, gjurmët e joneve) në zonën e interesit në të cilën presim shfaqjen e analitëve;
- përveç kësaj, mostrat reprezentative të verbëra duhet të pasurohen në një përqendrimin relevant me substancat të cilat mund të interferojnë në identifikimin dhe/ose përcaktimin sasior të analitëve;
- pas analizës, testoni:
 - nëse prania mund të sjell deri tek identifikimi i gabuar,
 - nëse prania e një apo më shumë interferencave vështirëson identifikimin e analitit të synuar, ose
 - nëse përcaktimi sasior, është i ndikuar në masë të konsiderueshme.

3.1.1.2. Vërtetësia

Në këtë pjesë përshkruhet përcaktimi i vërtetësisë (i një komponentit të saktësisë). Vërtetësia mund të përcaktohet vetëm nëpërmjet materialit referent të certifikuar (CRM). Materiali referent i certifikuar mund të përdoret sa herë që është në dispozicion. Procedura është e përshkruar në mënyrë të detajuar në ISO 5725-4 .

Në vazhdim sjellim një shembull:

- analizoni gjashtë replika të materialit referent të certifikuar në pajtim me udhëzimet për kryerjen e eksperimenteve të cilat vlejné për metodën e caktuar.
- përcaktoni përqendrimin e analitit i cili është i pranishëm në çdo mostër replikë,
- Llogaritni vlerën mesatare, devijimin standard dhe koeficientin e variacionit (%) për ato përqendrime,
- Llogaritni vërtetësinë duke bërë pjesëtimin e vlerës mesatare të pëqëndrimit të detektuar me vlerën e certifikuar (të matur si përqendrim) dhe shumëzoni me 100, për të shprehur rezultatin në përqindje.

Vërtetësia (%) = vlera mesatare e përqendrimit të detektuar e korrigjuar me shfrytëzueshmëri $\times 100$ /vlera e certifikuar.

Nëse nuk ekziston materiali referent i certifikuar, në vend të vërtetësisë mund të përcaktohet shfrytëzueshmëria, siç përshkruhet nën pikën 4.1.2.1.

3.1.1.3. Aplikueshmëria/Robusti (ndryshime më të vogla)

Ky studim nënkupton futjen e qëllimshme të variacioneve më të vogla të kuptueshme nga ana e laboratorit si dhe vëzhgimin e pasojave të tyre.

Duhet të kryhen studime paraprake për përzgjedhjen e faktorëve të cilët marrin pjesë në para-trajtimin e mostrës, pastrimin dhe analizën e mostrës, e të cilët mund të ndikojnë në rezultatet e matjeve. Këta faktorë mund të përfshijnë analistin, burimin dhe vjetërsinë e reagjentit, tretësit, standardet dhe ekstraktet e mostrave, shpejtësinë e nxehjes, temperaturën, vlerat pH si dhe faktorët tjerë të cilët mund të paraqiten në laborator. Këta faktorë do duhej të modifikohen sipas renditjes së madhësisë e cila përputhet me devijimet të cilat zakonisht shfaqen në laborator.

- Përcaktoni faktorët që mund të ndikojnë në rezultate
- Ndryshoni ndjeshëm çdo faktor
- Testoni Robustin (Ruggedness) sipas metodës së Youden-it (15)(16). (Në këtë fazë mund të aplikohen edhe metodat tjera të aprovuara. Megjithatë, metoda e Youden-it kursen përpjekjet dhe kohën e duhur). Metoda e Youden-it është model-faktori fraksional. Interakcionet e përbashkëta ndërmjet faktorëve të ndryshëm nuk mund të detektohen.
- Nëse detektohet se ndonjë faktor ndikon dukshëm në rezultatet e matjeve, vazhdoni me eksperimente tjera me qëllim të përcaktimit të kufijve të pranueshmërisë të atij faktori.
- Në protokollin e kryerjes së metodës duhet të shënohen qartë faktorët të cilët ndikojnë dukshëm në rezultate.

Ideja themelore nuk ka të bëjë me atë që të hulumtohet ndryshimi një nga një, por që të futen disa ndryshime njëkohësisht. Për shembull, le të shënojmë A, B, C, D, E, F, G vlerat nominale për shtatë faktorë të ndryshëm të cilët mund të ndikojnë në rezultat, në rast se, vlerat e tyre nominale lehtësisht ndryshojnë. Të shënojmë vlerat e tyre alternative me shkronjat e vogla përkatëse a, b, c, d, e, f, g. Me këtë përfitojmë 2^7 , respektivisht 128 kombinime të ndryshme.

Mund të përzgjidhet nëngrupi nga tetë kombinime të cilët ekziston baraspesha ndërmjet shkronjave të mëdha dhe të vogla (Tabela 11.). Duhet përzgjedhur tetë kombinime të cilat

do të përdorin kombinimin e faktorëve të përzgjedhur (A-G). Rezultati i kombinimeve të përzgjedhura është i paraqitur në tabelën 11. si S-Z.

Tabela 11.
Plani eksperimental për testimin e robustit (ndryshime të vogla)

Vlera e faktorit F	Kombinimet							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	A	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	C	C	c	C	C	C	c
D/D	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
Rezultat i vërejtur R	S	T	U	V	Ë	X	Y	Z

Për kalkulime të shihen shembujt e testimit të robustit nën pikën 3.3.

3.1.1.4. Qëndrueshmëria

Është vërejtur se qëndrueshmëria e pamjaftueshme e analitëve apo të komponentëve të matriksit në mostër gjatë ruajtjes ose analizës mund të sjell deri te devijimi i rezultatit final të analizës. Përveç kësaj, duhet verifikuar qëndrueshmërinë e standardit të kalibrimit në tretësirë. Qëndrueshmëria e analitëve është mirë e ditur për kushte të ndryshme të ruajtjes. Përcjellja e kushteve të ruajtjes është pjesë përbërëse e sistemit të zakonshëm për akreditim të laboratorëve. Nëse qëndrueshmëria nuk është e njohur atëherë në bazë të shembujve të përmendur më poshtë mund të determinojmë qëndrueshmërinë.

Qëndrueshmëria e analitit në tretësirë:

- Përgatitni stok tretësirat të freskëta të analitëve dhe holloni në bazë të udhëzimeve për testim, në mënyrë që të përfitohen tretësira të tjera të barabarta që ndahen në alikuote (p.sh. 40) për çdo përqendrimi të përzgjedhur (rreth MRPL për substancat për të cilat nuk është përcaktuar kufiri i lejuar ose rreth kufirit të lejuar për substanca tjera). Përgatitni dy tretësira të analitit të përdorur për pasurimin e tretësirës së analizuar përfundimtare dhe në çdo tretësirë tjetër që është me interes (psh.standardet e derivuara).
- bëni matjen e përmbajtjes së analitit në tretësirën e freskët të përgatitur sipas udhëzimeve për kryerjen e eksperimentit.
- Shpërndani vëllimet e përshtatshme në enë të duhura, shënjoni dhe i ruani sipas skemës në vijim:

Tabela 12.
Skema për përcaktim të qëndrueshmërisë së analitëve në tretësirë

	- 20 °C	+ 4 °C	+ 20 °C
Errësirë	10 alikuota	10 alikuota	10 alikuota
Dritë			10 alikuota

- Koha e ruajtjes mund të zgjasë një, dy, tre apo katër javë, ose sipas nevojës edhe më gjatë, p.sh. deri sa nuk vërehen shfaqjet e para të degradimit gjatë identifikimit dhe/ose përcaktimit të sasisë. Duhet shënuar kohën maksimale të ruajtjes dhe kushtet optimale të ruajtjes.
- Llogaritja e përqendrimit të analitëve në çdo alikuot duhet të bëhet duke përdorur tretësirën e analitit të përgatitur freskët në kohën e analizës, si vlerë 100 %.

Mbetja e analitit(%)= $C_1 \times 100 / C_i$ freskët

C_1 = përqendrimi i momentit

C_i freskët = përqendrimi i tretësirës së freskët

Qëndrueshmëria e analitit në matriks

- Sa herë që ekziston mundësia, duhet të përdoren mostra të kontaminuara në mënyrë natyrale. Nëse materiali i kontaminuar nuk është në dispozicion, duhet të përdoret matriksi i pasuruar me analit.
- Nëse është në dispozicion materiali i kontaminuar në mënyrë natyrale, përqendrimin në material duhet përcaktuar deri sa materiali është i freskët. Alikuotat tjera të materialëve mund të merren pas 1, 2, 4 dhe 20 javëve dhe duhet të determinohen përqendrimet. Indi duhet të ruhet në temperaturë prej më së paku -20 °C ose, sipas nevojës, edhe në temperaturë më të ulët.
- Nëse materiali i kontaminuar në mënyrë natyrale nuk është në dispozicion, merrni materialin i cili nuk përmban analit dhe e homogjenizoni. E ndani materialin në pesë alikuota. Pasuroni çdo alikuot me analit, i cili do të duhej të përgatitet në sasi të vogël të tretësirës ujore. Analizoni menjëherë një alikuot. Alikuotat tjera ruani në temperaturë prej më së paku -20 °C ose, sipas nevojës, edhe në temperaturë më të ultë, dhe i analizoni pas 1, 2, 4 dhe 20 javëve.

3.1.1.5. Lakoret e kalibrimit

Kur lakoret kalibruese aplikohen për qëllime të përcaktimit sasiorë:

- Së paku pesë nivele (përfshirë zeron) duhet të përdoren për të ndërtuar lakoren e kalibrimit,
 - duhet të përshkruhet radha e punës për ndërtimin e lakores,
- duhet përshkruar formulën matematikore të lakores dhe përshtatshmërinë e të dhënave të lakores,
- duhet përshkruar hapësirën e pranueshmërisë së parametrave të lakores.

Nëse është i nevojshëm kalibrimi serik në bazë të tretësirës standard, duhet shënuar hapësirat e pranueshme të parametrave të lakores kalibruese, të cilat mund të ndryshojnë nga seria në seri.

3.1.2. Procedurat konvencionale të validimit

Llogaritja e parametrave në përputhje me metodat konvencionale kërkon kryerjen e disa eksperimenteve individuale. Çdo karakteristikë e performancës duhet të përcaktohet për çdo ndryshim me të madh (shihni lart nën pikën Aplikueshmëria/robusti). Për metodat multi-analitë disa analit duhet të analizohen në të njëjtën kohë vetëm nëse interferenca relevante dhe të mundshme janë përjashtuar paraprakisht. Në të njëjtën mënyrë mund të përcaktohen disa ndryshime të rëndësishme të efektshmërisë. Prandaj, për të zvogëluar vëllimin e punës, rekomandohet që të kombinohen sa më shumë eksperimente (p.sh. përsëritshmëria dhe riprodhueshmëria brenda laboratorit me specifikim, analiza e mostrës së verbër për të përcaktuar limitin e detektimit dhe testimin për specifitet).

3.1.2.1. Shfrytëzueshëria (recovery)

Nëse nuk ekziston materiali i certifikuar referent, shfrytëzueshmëria duhet të përcaktohet nëpërmjet eksperimentit, duke përdorur matriksin e pasuruar, duke aplikuar, për shembull, procedurat si në vijim:

- përzgjidhni 18 alikuota të materialit kontrollues dhe i ndani në tre grupe nga gjashtë alikuota, pastaj pasuroni secilin grup 1, 1,5 dhe 2 herë, aq sa është MRPL, ose 0,5, 1 dhe 1,5 herë sa është kufiri i lejuar,
- analizoni mostrat dhe llogaritni përqendrimin për çdo mostër,

- me ndihmën e ekuacionit të mëposhtëm llogaritni shfrytëzueshmërinë për çdo mostër,
- llogaritni vlerën mesatare të shfrytëzueshmërisë dhe CV nga gjashtë rezultate në çdo grup,
- % shfrytëzueshmëria = $100 \times$ përmbajtja e matur/niveli i pasurimit.

Metoda konvencionale për përcaktimin e shfrytëzueshmërisë, është një version i metodës së shtimit të standardit i cili është i përshkruar nën pikën 3.5, nëse:

- mostra konsiderohet si mostër e verbër, në vend të mostrës për analizë,
- konsiderohet se pjesa e masës finale (yield) ¹ dhe shfrytëzueshmëria janë të ngjashme për të dy pjesët e testuara,
- mostrat që testohen kanë masa të njëjta, dhe vëllime të njëjta për ekstraktet e pjesëve të testuara,
- sasia e standardit kalibruar e cila është shtuar pjesës së dytë e pasuruar (spike) të testimit duhet të shënohet x_{ADD} . ($x_{ADD} = \rho A \cdot V_A$),
- x_1 është vlera e matur për mostrën e verbër, ndërsa x_2 është vlera e matur për pjesën e dytë e pasuruar (spike),
- prandaj, shfrytëzueshmëria % = $100 (x_2 - x_1)/x_{ADD}$.

Nëse ndonjëri nga kushtet e lartë përmendur nuk është (ose supozohet se nuk është) përmbushur, atëherë duhet të ndryshohet i tërë procesi i përcaktimit të shfrytëzueshmërisë nëpërmjet metodës së shtimit të standardit, siç është përshkruar nën pikën 3.5.

3.1.2.2. Përsëritshmëria

- Përgatitni një numër të caktuar të mostrave të matriksit identik, të pasuruara me analit me përqëndrime ekuivalente të cilat janë 1, 1,5 dhe 2 herë, më të mëdha se MRPL ose 0,5, 1 dhe 1,5 herë, sa është kufiri i lejuar.
- Për çdo nivel të përqendrimit, analiza duhet të përsëritet së paku gjashtë herë .
- Analizoni mostrat.
- Llogaritni përqendrimin e detektuar për çdo mostër.
- Gjejeni mesataren e përqendrimit, devijim standard si dhe koeficientin e variacionit (%) për mostrat e pasuruara.
- Përsëritni këta hapa së paku edhe dy herë.
- Llogaritni mesataren totale të përqendrimit dhe CV për mostrat e pasuruara.

3.1.2.3. Riprodhueshmëria brenda laboratorit

- Përgatitni një numër të caktuar të mostrave të matriksit identik, të pasuruara me analit me përqëndrime ekuivalente, 1, 1,5 dhe 2 herë më të mëdha se MRPL ose 0,5, 1 dhe 1,5 herë sa është kufiri i lejuar.
- Për çdo nivel të përqendrimit, analiza duhet të përsëritet më së paku gjashtë herë.
- Përsëritni këta hapa edhe së paku dy herë, me analistët e ndryshëm si dhe në kushte të ndryshme laboratorike, p.sh. seri të ndryshme të reagjentëve, tretësve etj., temperaturave të ndryshme të dhomave, instrumenteve të ndryshme nëse është e mundur etj.
- Analizoni mostrat.
- Llogaritni përqendrimin e detektuar për çdo mostër.
- Llogaritni mesataren totale të përqendrimit dhe CV për mostrat e pasuruara.

⁽¹⁾ Fraksioni i masës së analitit që përmban mostra , i cili është present në ekstraktin final

3.1.2.4. Riprodhueshmëria

Nëse duhet të verifikohet riprodhueshmëria, laboratorët do të duhej të marrin pjesë në hulumtime krahasuese ndër-laboratorike sipas ISO 5725-2 (5).

3.1.2.5. Kufiri i vendimit (CC α)

Kufiri i vendimit duhet të përcaktohet sipas kërkesave për identifikim ose identifikim dhe përcaktim sasior siç është definuar nën kapitullin „Kriteret e performancës dhe kërkesat tjera për metoda analitike” (pjesa e dytë).

Në rastin e substancave për të cilat nuk është përcaktuar kufiri i lejuar, CC α mund të përcaktohet:

- Ose me procedurën e lakores kalibruese sipas ISO 11843 (17) (në tekst: vlera kritike neto e gjendjes variable). Në atë rast shfrytëzohet mostra e verbër e cila pasurohet mbi përqendrim më të madh se sa MRPL, me distanca të njëjta kohore. Analizoni mostrat. Pas identifikimit, paraqitni grafikisht marrëdhëniet mes sinjalit dhe përqendrimit të shtuar. Kufiri i vendimit është i barabartë me përqendrimin që i takon në pikën prerëse me koordinatën y plus 2,33 herë devijimi standard të riprodhueshmërisë brenda laboratorit. Kjo është e aplikueshme vetëm për testime sasiore. ($\alpha = 1\%$).
- ose me analizën e së paku 20 mostrave të verbëta për matriks për të llogaritur matjet sinjal-zhurmë në interval kohor në të cilin pritët të shfaqet analiti. Si kufi i vendimit mund të merret vlera e trefishtë e matjeve sinjal-zhurmë. Kjo është e aplikueshme edhe për hulumtime kualitative dhe kuantitative.

Në rastin e substancave për të cilat është përcaktuar kufiri i lejuar, CC α mund të përcaktohet:

- me procesin e kalibrimit të lakores sipas ISO 11843 (17) (në tekst: vlera kritike neto e gjendjes variable). Në atë rast shfrytëzohet mostra e verbër e cila pasurohet rreth kufirit të lejuar, me distanca të njëjta kohore. Analizoni mostrat. Pas identifikimit, paraqitni grafikisht raportin mes sinjalit dhe përqendrimit të shtuar. Kufiri për vendosje është i barabartë me përqendrimin në kufirin e lejuar plus 1,64 herë devijimi standard i riprodhueshmërisë brenda laboratorit ($\alpha = 5\%$).
- ose analizoni së paku 20 mostra të verbëra sipas matriksit, të pasuruara me një apo më shumë analitë në nivelin e kufirit të lejuar. CC α është baras me përqendrimin në kufirin e lejuar plus 1,64 herë devijimi standard i përshtatshëm ($\alpha = 5\%$).

Të shihet edhe neni 6. dhe pika 3.2.

3.1.2.6. Aftësia e detektimit (CC β)

Aftësia e detektimit duhet të përcaktohet sipas kërkesave të përcaktuara për metodën orientuese, identifikim apo për identifikim dhe përcaktim sasior (të shihet pjesa e dytë).

Në rastin e substancave për të cilat nuk është përcaktuar kufiri i lejuar, CC β mund të përcaktohet:

- me anë të procesit të lakores kalibruese sipas ISO 11843 (17) (në tekst: vlera më e ultë neto e gjendjes variable e cila mund të zbulohet). Në atë rast, shfrytëzohet mostra e verbër reprezentative e pasuruar në nivelin më të ultë të kërkuar të MRPL, ose nën atë, në distancë të njëjtë kohore. Analizoni mostrat. Pas identifikimit, paraqitni grafikisht raportin mes sinjalit dhe përqendrimit të shtuar. Aftësia e detektimit është e barabartë me përqendrimin e përshtatshëm CC α plus 1,64 herë devijimi standard të devijimit të riprodhueshmërisë brenda laboratorit për mesataren e përmbajtjes së matur kur kufiri i vendimit është i barabartë me aftësinë e detektimit ($\beta = 5\%$).
- me anë të analizës e së paku 20 mostrave të verbëra sipas matriksit të pasuruar me një apo më shumë analitë në nivelin CC α . Analizoni mostrat dhe identifikoni analitët. Mundësia e detektimit është e barabartë me vlerën CC α plus 1,64 herë devijimi standard i riprodhueshmërisë brenda laboratorit për pjesën e matur ($\beta = 5\%$).

nëse nuk ekzistojnë rezultatet sasiore, aftësia e detektimit mund të determinohet me testimin e mostrës së verbët të pasuruar me përqendrim të barabartë ose më të lartë se sa

CC α . Në atë rast niveli i përqendrimit kur vetëm $\leq 5\%$ të rezultateve të përputhshme të rreme është e barabartë me aftësinë e detektimit të metodës. Prandaj, duhet kryer së paku 20 testime për së paku një nivel të përqendrimit, për të siguruar bazën e besueshme për këtë determinim.

Në rastin e substancave për të cilat është përcaktuar kufiri i lejuar, CC β mund të përcaktohet:

- me anë të procedurës të lakores kalibruese sipas ISO 11843 (17) (në tekst: vlera neto më e ultë e gjendjes variabile e cila mund të detektohet). Në atë rast, shfrytëzohet mostra e verbër reprezentative e pasuruar nën nivelin minimal të MRPL-së, në distancë të njëjtë kohore. Analizoni mostrat dhe identifikoni analitin ose analitet. Llogaritni devijimin standard të mesatares së përmbajtjes së matur aq sa është limiti i detektimit. Përqendrimi korrespondues të kufiri i vendimit CC α , plus 1,64 herë devijimi standard i riprodhueshmërisë brenda laboratorit për mesataren e përmbajtjes së matur nëse kufiri i vendimit është i barabartë me aftësinë e detektimit ($\beta = 5\%$),
- ose me anë të analizës e së paku 20 mostrave të verbëra sipas matriksit, të pasuruara me një ose me shumë analit në kufirin e vendimit. Aftësia e detektimit CC β është e barabartë me vlerën e kufirit të vendimit CC α plus 1,64 herë devijimi standard i përshtatshëm i riprodhueshmërisë brenda laboratorit për pjesën e matur ($\beta = 5\%$).

Të shihet, gjithashtu, pjesa 3.2

3.1.2.7. Robusti (ndryshime të mëdha)

Metoda analitike do të duhej të testohet në kushte të ndryshme eksperimentale, të cilat përfshijnë, p.sh., lloje të ndryshme, matriksa të ndryshëm ose kushtet të ndryshme të mostrimit. Ndryshimet e bëra duhet të jenë të rëndësishme. Rëndësia e këtyre ndryshimeve mund të vlerësohet, për shembull, me metodën e Youden-it (15)(16). Çdo karakteristikë e performancës duhet të determinoj të gjitha ndryshimet e mëdha të cilat kanë treguar se kanë efekt signifikant në performancën e testimit.

3.1.3. Validimi sipas modeleve alternative

Nëse aplikohen procedurat alternative të validimit, modeli themelor dhe strategjia me para kushte të përshtatshme, supozimeve dhe formula, duhet të paraqiten në protokollin e kryerjes së validimit ose të paktën duhet të jepet referenca nëse ato janë në dispozicion. Më poshtë është dhënë një shembull për qasje alternative. Nëse aplikohet, p.sh. modeli i validimit të brendshëm, tiparet e performancës përcaktohen në mënyrë që mundëson validimin për ndryshime të rëndësishme brenda procedurës së njëjtë të validimit. Kjo kërkon përgatitjen e planit të testimit për qëllime të validimit.

3.1.3.1. Plani i testimit

Plani i testimit duhet të behët duke marr parasysh numrin e llojeve të ndryshme dhe faktorëve të cilët testohen. Prandaj, si hap i parë në tërë procedurën e validimit, duhet të konsiderohen grumbulli i mostrave që duhet të analizohen në të ardhmen në laborator, në mënyrë që të zgjidhen llojet me të rëndësishme si dhe ata faktor të cilët mund të ndikojnë në rezultatet e matjes. Pas kësaj përzgjidhet niveli i përqendrimit i cili i përshtatet qëllimit, në përputhje me nivelin e rëndësisë.

Shembull:

- Disa analitë mund të hulumtohen njëkohësisht me metodën analitike e cila validohet,
- janë identifikuar dy variacione të faktorit kryesor (A dhe B). Faktorët kryesor nga baza e të cilëve kombinohen nivelet e faktorëve. Këta faktor kryesor mund të përfshijnë faktorët siç janë lloji apo matriksi. Në këtë shembull, faktori kryesor ndryshon në dy nivele, d.m.th. janë shqyrtuar dy lloje të ndryshme (A dhe B). Në përgjithësi, është i mundur ndryshimi i faktorëve kryesor në më tepër se dy nivele, me anë të së cilit vetëm rritet numri i analizave të cilat duhet të kryhen.
- faktorët e përzgjedhur duhet të ndryshohen në dy nivele (te shënuara si + ose -).

Tabela 13.
Shembujt e faktorëve të cilët konsiderohen të rëndësishëm për procedurën e validimit

Gjinia e kafshës	(faktor 1)
Raca	(faktor 2)
Kushtet e transportit	(faktor 3)
Kushtet e ruajtjes/deponimit	(faktor 4)
Freskia e mostrës	(faktor 5)
Kushtet e majmërisë	(faktor 6)
Operatorët e ndryshëm me përvoja të ndryshme	(faktor 7)

Tabela 14.
Plani i mundshëm i testimit për shembullin e lartpërmendur

Lloji	Faktori 1	Faktori 2	Faktori 3	Faktori 4	Faktori 5	Faktori 6	Faktori 7	Mostra nr.
A	+	+	+	+	-	+	-	1
A	+	+	-	-	+	-	-	2
A	+	-	+	-	-	-	+	3
A	+	-	-	+	+	+	+	4
A	-	+	+	-	+	+	+	5
A	-	+	-	+	-	-	+	6
A	-	-	+	+	+	-	-	7
A	-	-	-	-	-	+	-	8
B	+	+	+	+	+	-	+	9
B	+	+	-	-	-	+	+	10
B	+	-	+	-	+	+	-	11
B	+	-	-	+	-	-	-	12
B	-	+	+	-	-	-	-	13
B	-	+	-	+	+	+	-	14
B	-	-	+	+	-	+	+	15
B	-	-	-	-	+	-	+	16

Pasi që çdo mostër (çdo kombinim i nivelit të faktorëve) duhet të pasurohet (spike) me katër përqendrime të ndryshme rreth nivelit të rëndësisë, e për çdo nivel duhet të analizohet një mostër e verbër, për tërë procesin e validimit duhet kryer $5 \times 16 = 80$ analiza.

Bazuar në këto 80 rezultate të matjeve mund të llogaritet si në vijim :

Shfrytëzueshmëria (recovery)

- përsëritja sipas nivelit të përqendrimit (S_{ir}),
- riprodhueshmëria brenda laboratorit sipas nivelit të përqendrimit (S_{ir}),
- kufiri i vendimit ($CC\alpha$),
- aftësia për detektim ($CC\beta$),
- lakorja e efektivitetit (shkalla e β -gabimit në raport me përqendrimin (shih 3.1.3.2.)
- robusti i ndryshimeve të mëdha; robusti i ndryshimeve të vogla mund të përcaktohen sipas paragrafit 3.1.1.3.,
- 16 lakore kalibruese të lidhura me mostra,
- një lakore e tërësishme kalibruese,
- intervali i pritur i lakores gjithë përfshirëse kalibruese

- devijime të shkaktuara nga matriksi (S_{mat}),
- devijime të shkaktuara në procesin e analizës (S_{run}).
- ndikimi i faktorëve individual në rezultatet matëse.

Këto karakteristika të performancës mundësojnë vlerësimin gjithë përfshirës të nivelit të performancës së metodës pasi që nuk testohet vetëm ndikimi i faktorëve individual, por edhe kombinimi i përshtatshëm i këtyre faktorëve. Me ndihmë të këtij plani të testimit mund të përcaktohet nëse ndonjë nga këta faktor të përzgjedhur do të përjashtohet nga lakorja e tërësishme kalibruese për shkak të shmangies së rëndësishme nga devijimet standarde të faktorëve tjerë.

3.1.3.2 Lakorja e efektivitetit (power curve)

Lakorja e efektivitetit ofron informacione në lidhje me aftësinë e detektimit të metodës brenda rangut së zgjedhur të përqendrimit. Ajo i referohet rrezikut të β -gabimit në aplikimin e metodave të testimit. Lakorja e efektivitetit mundëson llogaritjen e aftësisë së detektimit për kategoritë e metodave përkatëse (orientuese, konfirmative) ose llojeve të metodave (kualitative ose kuantitative) për një β -gabim të caktuar (p.sh. 5%).

Figura 1 - Lakorja e efektivitetit

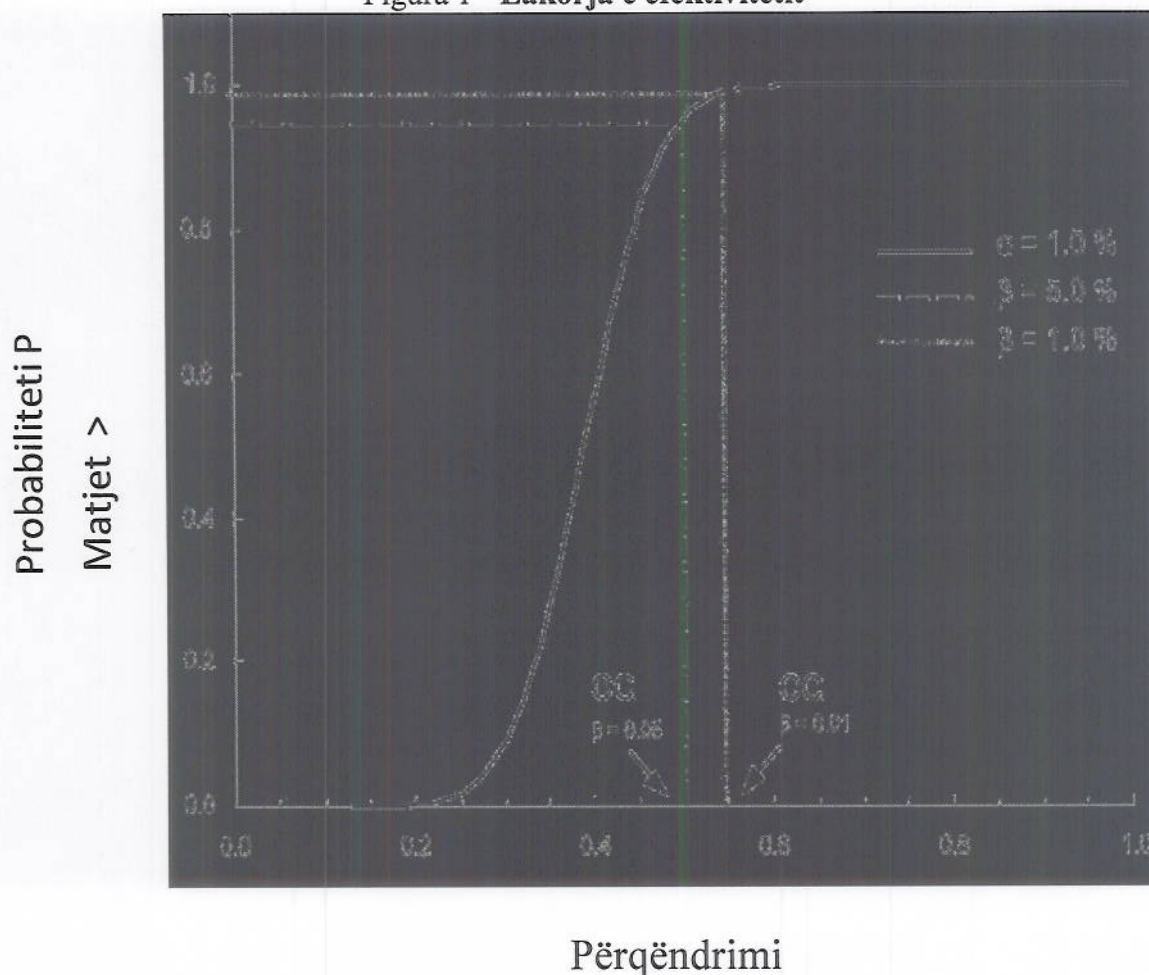


Figura 1. Tregon shembullin e formimit të grafikut për aftësinë e detektimit ($CC\beta$) të një metode analitike. Kjo metodë e caktuar ka një rrezik të mbetur për të marr vendim të remë prej 5% të përqendrimit $0.5\% \mu\text{g}/\text{kg}$. Në përqendrimin $0.5\% \mu\text{g}/\text{kg}$ rreziku i marrjes së një vendimi të remë të përputhshëm ulët në 1%.

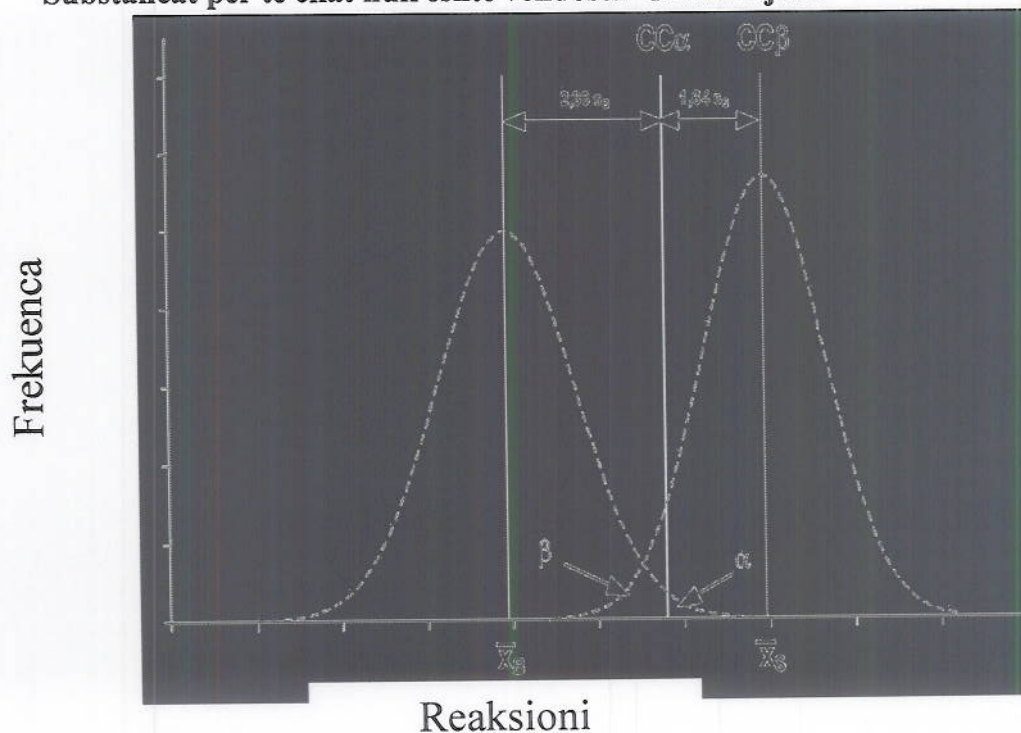
3.1.3.3. Riprodhueshmëria

Përcaktimi i metodës së riprodhueshmërisë me anë të testeve brenda laboratorit (vlefshmëria e brendshme) kërkon pjesëmarrje të përsëritur në studime të proficiencës në pajtim me udhëzuesit ISO 43-1 (3) i 43-2 (4). Laboratorët mund të zbatojnë metoda e veta, nëse këto japin të dhëna që këto metoda të zbatohen sipas kushteve rutinë. Devijimi standard i laboratorit mund të përdoret për vlerësimin e riprodhueshmërisë së metodës.

3.2 PARAQITJA GRAFIKE E LIMITEVE ANALITIK TË NDRYSHËM

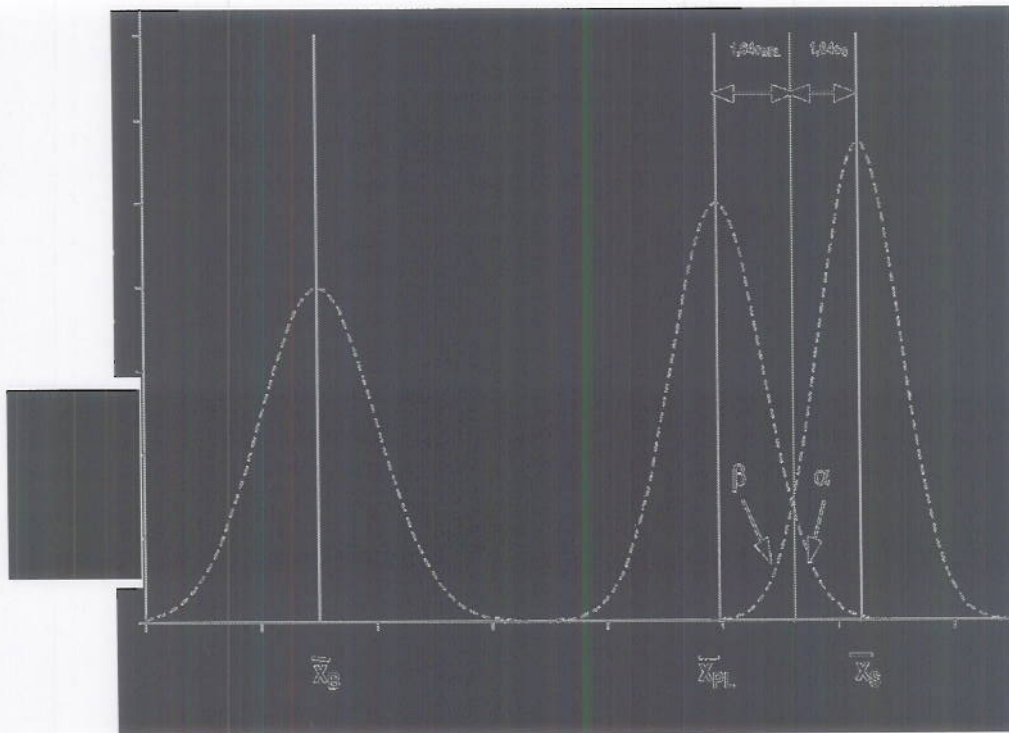
Figura 2.

Substancat për të cilat nuk është vendosur limiti i lejuar






- Mesatarja e vlerës së reaksionit të mostrës së kontaminuar
- S_B Devijimi në standard të mostrës së verbër
- S_S Devijimi në standard të mostrës së kontaminuar (e determinuar nën kushtet e riprodhueshmërisë brenda laboratorit)
- α Përqindja e rezultatit të rreme jo të përputhshëm
- β Përqindja e rezultatit të rreme të përputhshëm
- CC_α Reaksioni me gabimin e dhënë α dhe 50% gabimi β
- CC_β Reaksioni me gabimin α dhe gabimi β shumë të vogël

Figura 3.
Substancat për të cilat është vendosur limiti i lejuar
Limiti i Lejuar (LJ)



Përqëndrimi

-  \bar{x}_B Mesatarja e përqendrimit të mostrës së verbër
-  \bar{x}_{PL} Mesatarja e përqendrimit të mostrës e cila përmban analit brenda limitit të lejuar
-  \bar{x}_S Mesatarja e përqendrimit të mostrës së kontaminuar
- S_{PL} Devijimi në standard të mostrës që përmban analit brenda limitit të lejuar (e determinuar nën kushtet e riprodhueshmerisë brenda laboratorit)
- S_S Devijimi në standard të mostrës së kontaminuar (e determinuar nën kushtet e riprodhueshmerisë brenda laboratorit)
- α Përqindja e rezultatit të rreme jo të përputhshëm
- β Përqindja e rezultatit të rremë të përputhshëm
- CC α Reaksioni me gabimin e dhënë α dhe 50% gabimi β
- CC β Reaksioni me gabimin α dhe gabimi β shumë të vogël

3.3. SHEMBULLI I LLOGARITJES TEK TESTIMI I ROBUSTIT NË RAPORT ME NDRYSHIMET E VOGLA SIPAS METODËS SË YOUDEN-IT (16)

Krahasimi i mesatares (A)

$A_A = \Sigma(A_i)/4$	Krahasoni mesataret e shkronjave të mëdha (A_A deri te A_G) me mesataret e shkronjave të tyre përkatëse të vogla (A_a deri te A_g). Nëse faktori ka një efekt, ndryshimi do të jetë dukshëm më i madh se sa ndryshimi i faktorëve të tjerë. Metoda robust nuk mund të ndikohet nga ndryshimet të cilat, normalisht ekzistojnë në mes laboratorëve. Nëse nuk ka dallime të dukshme, shtatë ndryshime janë masa më reale e gabimit të rastësishëm.
$A_B = \Sigma(B_i)/4$	
$A_C = \Sigma(C_i)/4$	
$A_D = \Sigma(D_i)/4$	
$A_E = \Sigma(E_i)/4$	
$A_F = \Sigma(F_i)/4$	
$A_G = \Sigma(G_i)/4$	
$A_a = \Sigma(a_i)/4$	
$A_b = \Sigma(b_i)/4$	
$A_c = \Sigma(c_i)/4$	
$A_d = \Sigma(d_i)/4$	
$A_e = \Sigma(e_i)/4$	
$A_f = \Sigma(f_i)/4$	
$A_g = \Sigma(g_i)/4$	

Dallimet (D_i)	Katrorët e ndryshimeve (D_i^2)
$D_a = A - a = \Sigma(A_i) - \Sigma(a_i)$	$D_a^2 = \text{Vlera } a$
$D_b = B - b = \Sigma(B_i) - \Sigma(b_i)$	$D_b^2 = \text{Vlera } b$
$D_c = C - c = \Sigma(C_i) - \Sigma(c_i)$	$D_c^2 = \text{Vlera } b$
$D_d = D - d = \Sigma(D_i) - \Sigma(d_i)$	$D_d^2 = \text{Vlera } b$
$D_e = E - e = \Sigma(E_i) - \Sigma(e_i)$	$D_e^2 = \text{Vlera } b$
$D_f = F - f = \Sigma(F_i) - \Sigma(f_i)$	$D_f^2 = \text{Vlera } b$
$D_g = G - g = \Sigma(G_i) - \Sigma(g_i)$	$D_g^2 = \text{Vlera } b$

Devijimi standard i dallimit D_i (S_{D_i})

$$S_{D_i} = \sqrt{2 \cdot \Sigma(D_i^2) / 7}$$

Nëse vlera e S_{D_i} është dukshëm më e madhe se sa devijimi standard i metodës e kryer sipas kushteve të brendshme laboratorike të riprodhueshmërisë (shih më lartë), është i pashmangshëm konkluzioni që të gjithë faktorët së bashku ndikojnë në rezultat, qoftë edhe nëse secili faktor veçmas nuk shfaq ndonjë ndikim të dukshëm, dhe se metoda nuk është mjaft robust në raport me modifikimet e zgjedhura.

3.4. SHEMBULL I LLOGARITJES PËR PROCESIN E VALIDIMIT TË BRENDSHËM

Shembujt dhe llogaritjet për protokollin e validimit të brendshëm, siç janë përshkruar në kapitullin e validimit sipas modeleve alternative (3.1.3.) (13) (14).

3.5. SHEMBUJ PËR METODËN E SHTIMIT TË STANDARDIT

Mostra për testim me T përmbajtje të analitëve ndahet në dy fraksione të nën-mostrave 1 dhe 2, masat e të cilat janë m_1 , gjegjësisht m_2 . Nën-mostrës 2 i shtohet Vëllimi V_A i tretësirës me përqendrim ρ_A të analitit. Pas hapave të ekstraktimit dhe pastrimit sipas metodës, fitohen dy ekstrakte të nën-mostrave me vëllimet e tyre përkatëse, vëllimi V_1 gjegjësisht V_2 . Supozohet se shfrytëzueshmëria e analitëve është r_c . Që të dy ekstraktet testohen me metodën e matjes së ndjeshmërisë b dhe japin reaksion analitik x_1 , gjegjësisht x_2 .

Nëse supozohet se r_c dhe b janë të njëjtë për analitin në mostrën burimore dhe në modelin e pasuruar (spike), atëherë pjesëmarrja T mund të llogaritet si:

$$T = x_1 \cdot V_1 \cdot \rho_A \cdot V_A / (x_2 \cdot V_2 \cdot m_1 - x_1 \cdot V_1 \cdot m_2)$$

Kjo metodë do të mundësojë determinimin e shfrytëzueshmërisë r_c . Pastaj, duke i shtuar testimin të përshkruar më lartë, pjesës së ekstraktit të nën-mostrës 1 (të vëllimit V_3) i shtohet

sasia e njohur $\rho_B \cdot V_B$ e analitëve dhe pastaj testohet. Reagimi analitik është x_1 , dhe përdorimi është:

$$rc = x_2 \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot \rho_B \cdot V_B / [x_3 \cdot V_1 \cdot V_3 (T \cdot m_2 + \rho_A \cdot V_A) - x_2 \cdot V_2 \cdot T \cdot m_1 (V_3 - V_B)]$$

Përveç kësaj, mund të llogaritet ndjeshmëria b, si:

$$b = x_1 \cdot V_1 / rc \cdot T \cdot m_1$$

Të gjitha kushtet e zbatimit si dhe detajet janë përshkruar(18).

4. SHKURTESAT E PËRDORURA

AAS	spektrometria e absorbimit atomik
AES	spektrometria e emetimit atomik
AOAC-I	Shoqata ndërkombëtare e kimistëve zyrtar analitik
B	fraksion i lidhur (imunotesti)
CI	jonizimi kimik
CRM	materiali i certifikuar referent
CV	koeficienti i variacionit
2D	Dy-dimensionale
DAD	zbulimi me serinë e diodave
DPASV	voltmetria diferenciale pulsuese me shpërbërje të anodave
ECD	zbulimi i procedurave elektronike
EI	jonizimi elektronik
GC	Kromatografia me gaz
HPLC	kromatografia e lëngshme e performancës së lartë
HPTLC	kromatografia e shtresave të holla të performancës së lartë
HRMS	(spektrometria e masave) me rezolucion të lartë
ICP-AES	spektrometria e emetimit atomik me plazmë induktive të lidhur
ICP-MS	spektrometria e përzier me plazmë induktive të lidhur
IR	infra të kuqe
ISO	Organizata ndërkombëtare për normat (International Standard Organisation)
LC	kromatografi e lëngshme
LR(MS)	(spektrometria e masave) rezolucionet e ulëta
MRPL	Minimumi i kërkuar i limitit të performancës
MS	spektrometria e masave
m/z	proporcioni masë/ngarkesë
RF	migrimi relativ ndaj frontit të tretësit (TLC)
RSDL	devijimi relativ standard i laboratorëve
SIM	monitorimi i joneve të zgjedhur
TLC	kromatografia e shtresave të holla
UV	Rrezatim ultra-vjollcë
VIS	Rrezatim i dukshëm