


# Metot Validasyonu

**HAKAN ÇELİK**  
HIDROJEOLOJİ YÜKSEK MÜHENDİSİ

**Kaynak:** EURACHEM / CITAC Guide CG 4  
Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement  
Second Edition  
QUAM:2000.1

## METOT VALİDASYONU



- Metodun uygulanan laboratuvar şartlarında kullanılması için uygunluğunun belirlenmesi amacıyla yapılan işlemlerdir.
- Bu çalışmalar metodun genel performansının yanı sıra belirsizliğin tahmininde kullanılacak her bir faktörün etkisini de ortaya koyar.

METOT VALİDASYONU



- 'Bir ölçüm prosedürünün belirlenen amaçlara uygunluğunun objektif olarak test edilerek yazılı delillerle kanıtlanmasıdır.' [ISO 8402:1994]
- Bir metodun performans karakteristiklerini ve sınırlarını düzenleyen işlemdir ve bu karakteristikleri değiştirebilecek etkilerin tanımlanmasıdır. [Eurachem]
  - - Hangi matrislerde hangi analitler tespit edilebilir ve hangi girişim etkilerinin varlığında?
  - - Bu koşullar altında hangi kesinlik ve doğruluk seviyeleri elde edilebilir?

METOT VALİDASYONU

## Validasyon

Daha önce yayınlanmamış bir metod ile ilgili gerçekleştirilir.

## Geçerli Kılma / Doğrulama

Yayımlanmış bir metod ile ilgili gerçekleştirilir.

METOT VALİDASYONU

## Metotların Geçerli Kılınmasını Gerektiren Haller

1. Yeni metot geliştirildiğinde
2. Herhangi bir metod laboratuvarda ilk defa uygulanacağında.
3. Standart metotlarda değişiklik yapıldığında
4. Kalite kontrol çalışmaları sırasında kullanılan metotta değişiklikler olduğu fark edildiğinde
5. Farklı cihaz, kimyasal madde kullanıldığında
6. Uygulayıcılar değiştiğinde



Laboratuvar sabittir Aynı kuruluşa ait farklı laboratuvar birimlerinde ayrı ayrı metot validasyonu yapılmalıdır. Laboratuvar yer değiştirdiğinde de validasyon çalışması yapılır.

METOT VALİDASYONU

6. Standart metotların
  - a. Laboratuvar koşullarına uygunluğunu göstermek için,
  - b. Elde edilen verilerin standardın gereklerini karşılayıp karşılamadığından emin olmak için,
7. Var olan bir metodun başka bir matrikste kullanılması halinde
8. Metotların standartlaştırılmasında,
9. Metotlar arasındaki benzerlik veya farklılıkları ortaya koymak için,

Metotlar geçerli kılınır.

Cihazlar için ayrı ayrı validasyon yapılmamalıdır.  
Çünkü sonuç tekdir.

*Metotların Geçerli Kılınmasını Gerektiren Haller*  
METOT VALİDASYONU

## TANIMLAR



- GERÇEK DEĞER(true value);
- Ele alınan belirli bir büyüklüğün tanımına karşılık gelen değer;
  - ideal bir ölçüm ile elde edilebilir.
  - yapısı gereği belirsizdir.

Teoride var olan, pratikte elde edilemeyen değer.

METOT VALİDASYONU

- KONVANSİYONEL GERÇEK DEĞER  
(Doğru Değer) (conventional true value);



- Belirli bir büyüklüğe verilen ve ele alınan amaç için uygun bir belirsizliğe sahip olduğu bazen bir konvansiyonla kabul edilen değer.
- Konvansiyonel gerçek değer bazen atfedilmiş değer, büyüklüğün en iyi tahmini değeri, konvansiyonel değer veya referans değer olarak adlandırılır.

Belirsizlik ile verilen değer.

TANIMLAR  
METOT VALİDASYONU

**ÖLÇÜMÜN DOĞRULUĞU (accuracy of measurement)**

- Ölçüm sonucu ile ölçülen büyüklüğün gerçek değeri arasındaki yakınlık derecesidir.

$$\frac{(\text{ölçülen değer} - \text{doğru değer})}{100}$$

**HATA (error);**

- Ölçüm sonucundan, ölçülen büyüklüğe ait gerçek değer çıkarılmasıyla elde edilen değerdir.
- Ölçüm Sonucu - Gerçek Değer = HATA

*TANIMLAR*  
METOT VALİDASYONU



- **DÜZELTME (correction);**
- Sistematik hatayı telafi etmek için düzeltilmemiş ölçüm sonucuna cebirsel olarak ilave edilen değerdir.
- Gerçek Değer - Ölçüm Sonucu = Düzeltme Değeri

$$\text{HATA değerinin tersi (-HATA)}$$

*TANIMLAR*

METOT VALİDASYONU

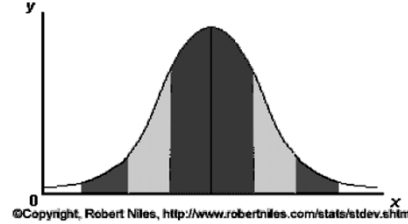
## Standart Sapma

Standart sapma

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

Pooled standart sapma

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2 + \dots + (n_k - 1)s_k^2}{n_1 + n_2 + \dots + n_k - k}}$$



Relatif standart sapma:

$$\text{RSD}(\%) = (s/\text{xort}) * 100$$

METOT VALİDASYONU

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (X_i - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$\text{RSD}(\%) = (s/\text{xort}) * 100$$

## Standart Sapma ve RSD

	X-Xort	(X-Xort) <sup>2</sup>	Toplam (X-Xort) <sup>2</sup>	Toplam (X-Xort) <sup>2</sup> /n-1	Karakök (Toplam (X-Xort) <sup>2</sup> /n-1)
10,42mg/l	0,02	0,00	0,16	0,02	0,13
10,63mg/l	0,23	0,05			
10,35mg/l	-0,05	0,00			
10,24mg/l	-0,16	0,02		STANDART SAPMA	0,13mg/l
10,54mg/l	0,14	0,02		RSD	1,28%
10,48mg/l	0,08	0,01			
10,35mg/l	-0,05	0,00			
10,23mg/l	-0,17	0,03			
10,27mg/l	-0,13	0,02			
10,46mg/l	0,06	0,00			
				n	10,00mg/l
				Toplam	103,97mg/l
				Ortalama	10,40mg/l
				ORTALAMA	10,40mg/l



## **Seçicilik/Seçimlilik (Specificity/ Selectivity)**

- Yöntemin aranan analiti örnek matrisindeki diğer maddelerden ayırabilme özelliğidir.
- Karışık bir matris içinde analizi yapılan maddenin tam ve doğru olarak bulunabilmesidir.
- Matrisde olması beklenen bileşenlere rağmen, metodun, bağımsız olarak aranan maddeyi bulabilme yeteneğidir.
- Analiti örnekte varlığı tespit edilmiş analit ile girişim yapabilen diğer bileşenlerden farklı olarak ölçme yeteneğidir.

METOT VALİDASYONU

### **Seçicilik/Seçimlilik (Specificity/ Selectivity)**

- **Analist; örnekte analitin birden fazla formda olabileceğini ve interferenslerin analitle çok benzer davranabileceğini her zaman gözönünde tutmalıdır.**
- **Referans malzeme analiz edilir ve daha sonra bu referans malzeme farklı matiksler barındıran blank numunelere eklenerek analiz edilir ve sonuçlar karşılaştırılır.**

METOT VALİDASYONU



**Seçicilik/Seçimlilik (Specificity/ Selectivity)****Örnek**

Metodun atıksu matrisi içinde AKM parametresi seçiciliğini ve spesifikliğini test amacıyla ilk olarak gerçek bir atıksu numunesi ile AKM analizi yapılmıştır. Daha sonra, bu bilinmeyen atıksu numunesinin konsantrasyonunu 100 mg/l arttıracak şekilde sertifikalı referans malzeme ilavesi yapılmıştır. Referans malzeme olarak katı kimyasal Merck marka Selüloz Mikrokristalin den hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır.

Elde edilen değerler Tablo-2 ve Tablo 3' de verilmektedir.

**Tablo-2. Gerçek Atıksu Numunesi Tekrarlanabilirlik Çalışması Sonuçları**

	AKM (mg/l)	m1 (g)	m2 (g)	V (ml)	Tarih
1	20	0,0882	0,0887	25	03.10.2007
2	18	0,0903	0,0912	50	03.10.2007
3	22	0,0881	0,0892	50	03.10.2007
4	22	0,0876	0,0898	100	03.10.2007
5	23	0,0868	0,0891	100	03.10.2007
ort	21	0,0882	0,0896		
ssapma	2				
%RSD	9,5				

METOT VALİDASYONU

**Seçicilik/Seçimlilik (Specificity/ Selectivity)**

**Tablo-3. Gerçek Atıksu Numunesi + 100 mg/l Referans Madde Tekrarlanabilirlik Çalışması Sonuçları**

	AKM (mg/l)	m1 (g)	m2 (g)	V (ml)	Tarih
1	112	0,0884	0,0912	25	03.10.2007
2	116	0,0888	0,0946	50	03.10.2007
3	120	0,0893	0,0953	50	03.10.2007
4	118	0,0879	0,0997	100	03.10.2007
5	122	0,0886	0,1008	100	03.10.2007
ort	118	0,0886	0,0963		
ssapma	3,85				
%RSD	3,27				



Gerçek atıksu numunesi konsantrasyonu 5 tekrarlı yapılan analiz çalışması sonucu 21 mg/l olarak tespit edilmiştir. Numune üzerine 100 mg/l referans malzeme ilavesiyle 5 ölçüm sonunda toplam konsantrasyon değeri 118 mg/l olarak tespit edilmiştir. Bu değerler Tablo 4 de özet olarak verilmektedir.

METOT VALİDASYONU

**Seçicilik/Seçimlilik (Specificity/ Selectivity)****Tablo-4. Gerçek Atıksu Numunesi ve 100 mg/l Referans Madde İlavesi İle Elde Edilen Geri Kazanım Çalışması Sonuçları**

Gerçek Atıksu Numunesi Ölçüm Sonucu (mg/l)	Gerçek Numune +100 mg/l	Teorik değer (mg/l)	% Geri Kazanım	% Hata
21	118	121	97	3

Atıksu matrisinde % 97 geri kazanımla elde edilen sonuçlar metodun spesifikliğinin ihtiyaç duyulan doğruluk aralığında olduğunu göstermektedir.

METOT VALİDASYONU

**Geri Kazanım**

- Ölçüm sonucunun teorik değere oranının yüzdesi % geri kazanım değerini verir (%R) :

$$\%R = [(CF-CU)/CA] \times 100$$

CF: ölçüm sonucu (bilinen konsantrasyonda referans standarttan hazırlanmış numune);

CU: blank konsantrasyonu;

CA: referans standarttan hazırlanmış numunenin teorik konsantrasyonu [AOAC-PVMC]

METOT VALİDASYONU

## Örnek; AKM Analizi Geri Kazanım

Tablo-10. 20-100-250 Konsantrasyon Değerleri İçin % Geri Kazanım Değerleri

	20 mg/l		100,0 mg/l						250 mg/l	
	Sonuç	Geri Kazanım	1. operator		2. operator		3. operator		Sonuç	Geri Kazanım
			Sonuç	Geri Kazanım	Sonuç	Geri Kazanım	Sonuç	Geri Kazanım		
1	19	95,0	87	87	95	95	90	90	245	98
2	21	105,0	92	92	101	101	98	98	245	98
3	18	90,0	97	97	97	97	102	102	249	99
4	22	110,0	93	93	96	96	98	98	245	98
5	20	100,0	94	94	92	92	96	96	245	98
6	20	100,0	95	95	94	94	91	91	247	99
7	20	100,0	92	92	89	89	96	96	252	101
8	18	90,0	103	103	97	97	95	95	246	98
9	20	100,0	97	97	89	89	89	89	247	99
10	21	105,0	101	101	102	102	94	94	245	98
Ort.%geri kazanım		99,50		95		95		95		99

METOT VALİDASYONU

## Doğruluk(Accuracy):

- Analitik yöntemin doğruluğu, yöntem ile elde edilen deneme sonuçlarının gerçek değere yakınlığıdır.
- Bir ölçüm yönteminin doğruluğunu tanımlamak için Kesinlik (Precision) ve Gerçeklik (Trueness) terimleri kullanılır.

METOT VALİDASYONU

## Gerçeklik (Trueness)

- Ölçüm (analiz) sonuçları ile, örnekteki gerçek analit miktarı arasındaki uyumun derecesidir.
- Gerçeklik, sistematik hatanın bir göstergesidir.
- Gerçeklik çalışmaları;
  - Sertifikalı Referans Malzeme,
  - Referans Standard
  - Yeterlilik Testi çalışmasıile yapılabilir.

METOT VALİDASYONU

## Gerçeklik (Trueness)



$$bias = \frac{(X - \bar{x})}{X} \times 100$$

Seri analiz sonucunun ortalaması

Gerçek değer

METOT VALİDASYONU

### Gerçeklik (Trueness)

- Tanımlanmış bir referansa göre Bias'ın belirlenmesi izlenebilirlik açısından önemlidir.
- Bias; ihmal edilebilir veya düzeltilebilir olarak tanımlanabilir, ancak her iki durum içinde belirsizliğin önemli bir bileşenidir.
- Kabul edilebilir kriter, doğruluk için nominal değerden  $\pm$  % 15 den fazla sapmanın olmamasıdır

METOT VALİDASYONU

### Kesinlik(Precision)

- **Spesifik analiz koşulları altında elde edilen bağımsız analitik sonuçlar arasındaki uyumun derecesidir.**
- **Kesinlik yalnız tesadüfî hataların dağılımı ile ilişkilidir, gerçek değerle ilgisi yoktur. Bu sonuçlar arasındaki değişimi aşağıdaki parametreler etkilemektedir.**
  - **Analist;**
  - **Cihaz ve cihazın kalibrasyonu;**
  - **Çevre koşulları (sıcaklık, nem, hava kirliliği vb),**
  - **Ölçümler arasında geçen zaman.**

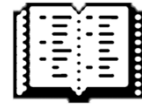
*Kesinlik (Precision)*

METOT VALİDASYONU

**Kesinlik (Precision)**

- Sonuçların birbirine yakınlığıdır ve standart sapma olarak ifade edilir.
- Kesinlik çalışması;
  - Tekrarlanabilirlik standart sapması ( $s_r$ )
  - Tekrar elde edilebilirlik standart sapması ( $s_R$ )
  - Ara kesinlik ( $s_{zi}$ )
- Kesinlik bileşeni belirsizliğin başlıca bileşenidir.

METOT VALİDASYONU

**Kesinlik (Precision)**

	Tekrarlanabilirlik (repeatability)	Ara Kesinlik (Int.precision)	Uyarlılık (reproducibility)
Deneyi yapan	Aynı	Farklı	Farklı
Ekipman	Aynı	Aynı	Farklı
Laboratuvar	Aynı	Aynı	Farklı
Numune	Aynı	Aynı	Aynı
Zaman	Kısa	Uzun	Kısa-Uzun

METOT VALİDASYONU

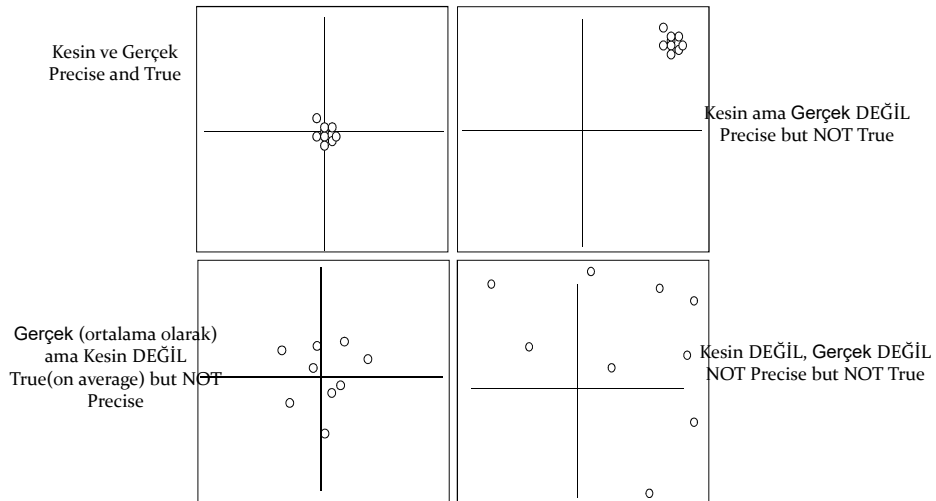
**Kesinlik (Precision)**

- Normal çalışma koşullarında metodu tekrarlanma derecesinin ölçüsüdür.
- İstatistiksel olarak yeterli sayıda sonuç için yüzde bağıl standart sapma (%RSD) (coefficient of variation (CV)) olarak ifade edilebilir.

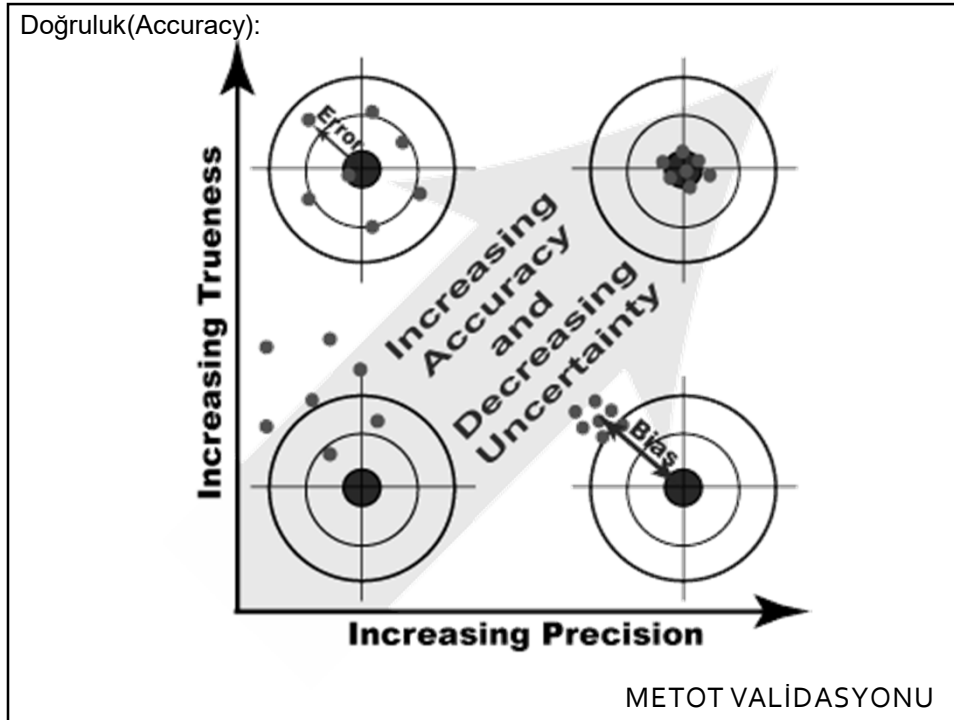
$$\%RSD = CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

- %RSD yada CV'nin belirlenen konsantrasyonlarda %15'den küçük olması, %20'yi aşmaması tercih edilir.

METOT VALİDASYONU

**Doğruluk(Accuracy):**

METOT VALİDASYONU



Kesinlik (Precision)

## Örnek: AKM Analizi Tekrarlanabilirlik

Tablo-5/a. 20,0 mg/l AKM İçin Tekrarlanabilirlik Test Sonuçları

	AKM (mg/l)	m1 (g)	m2 (g)	V (ml)	Tarih	Geri Kazanım (%)	%hata
1	19	0,0882	0,0901	100	27.07.2007	95,0	5
2	21	0,0886	0,0907	100	27.07.2007	105,0	5
3	18	0,0891	0,0909	100	27.07.2007	90,0	10
4	22	0,0882	0,0904	100	27.07.2007	110,0	10
5	20	0,0866	0,0886	100	27.07.2007	100,0	0
6	20	0,089	0,091	100	27.07.2007	100,0	0
7	20	0,088	0,09	100	27.07.2007	100,0	0
8	18	0,0885	0,0903	100	27.07.2007	90,0	10
9	20	0,0863	0,0883	100	27.07.2007	100,0	0
10	21	0,0877	0,0898	100	27.07.2007	105,0	5
ort	19,9					99,50	4,50
ssapma	1,29						
%RSD	6,47						

$$bias = \frac{(X - \bar{x})}{X} \times 100 = \%0,5$$

METOT VALİDASYONU



*Kesinlik (Precision)*

Maksimum Sayıda tekrarlanabilirlik;

Bu değer teoride 7'dir.

$n - 1 = 6$  olmalıdır ki sağlıklı bir standart sapma elde edelim.

METOT VALİDASYONU

*Kesinlik (Precision)*

## Örnek: AKM Analizi



## Tekrar Elde Edilebilirlik

Tablo-6. 100 mg/l AKM İçin 3 Farklı Operatörün Yeniden Üretilirlik Test Sonuçları

	1. Operatör		2. Operatör		3. Operatör	
	100 (mg/l)	% Geri Kazanım	100 (mg/l)	% Geri Kazanım	100 (mg/l)	% Geri Kazanım
1	87	87	95	95	90	90
2	92	92	101	101	98	98
3	97	97	97	97	102	102
4	93	93	96	96	98	98
5	94	94	92	92	96	96
6	95	95	94	94	91	91
7	92	92	89	89	96	96
8	103	103	97	97	95	95
9	97	97	89	89	89	89
10	101	101	102	102	94	94
ort	95	95	95	95,2	95	95
ssapma	4,7		4,4		4	
%RSD	4,9		4,6		4,3	

METOT VALİDASYONU

**Örnek: Tekrar Elde Edilebilirlik**

Bu nedenle elde edilen standart sapma değerleri 100 mg/l için tek bir standart sapma değeri hesaplamak amacıyla Spool olarak toplanmıştır.

**Tablo-7. 100 mg/l AKM İçin Farklı Operatörler İçin Yeniden Üretilirlik Sonuçları**

Parametreler	Ortalama	SD	DoF
1. operatör	95	4,654	8
2. operatör	95	4,417	9
3. operatör	95	4,029	9
Toplam Ölçüm Sayısı			26
Spool ortalama	4,53		
%RSD	95	4,73	

$$s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2 + \dots + (n_k - 1)s_k^2}{n_1 + n_2 + \dots + n_k - k}} \quad (\text{Pool})$$

$$bias = \frac{(X - \bar{x})}{X} \times 100 = \%5$$

METOT VALİDASYONU

- F-Testi, T –Testi, Anova Testi

- Excel Uygulama



## Dedeksiyon limiti –LOD (tayin limiti)

- 'Sıfırdan istatistiksel olarak farklı olan en küçük ölçüm, derişim veya mutlak miktar'
- 'İstatistiksel kesinlikte kabul edilebilir, ölçülebilen en düşük değerdir.' [AOAC - PVMC]
- 'Analizi yapılan maddenin blank değerinden büyük, tespit edilebilen en düşük konsantrasyon değeridir.' [NATA Tech Note#13]

METOT VALİDASYONU

## Dedeksiyon limiti –LOD (tayin limiti)



- "Bir numunenin herhangi bir analit ihtiva etmeksizin yanlış bir konsantrasyon vermesine engel olmak (yanlış pozitif) isteğiyle ve aynı zamanda içerisinde analit olan bir numunenin "tespit edilmedi" (yanlış negatif) olarak rapor edilmesini engellemek isteğiyle tanımlanmalıdır.

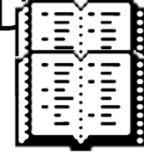
- **Dedeksiyon limiti**
- **Tespit edilebilen minimum net konsantrasyon**
- **Tayin Limiti**
- **Karar Limiti**

METOT VALİDASYONU

Dedeksiyon limiti –LOD (tayin limiti)

## Örnek; AKM Analizi

### Dedeksiyon limiti –LOD



#### 8.1 Tayin Limiti (LOD)

Bu metot ile, tespit edilebilen en düşük konsantrasyon değeri yani tayin limitini (LOD) ve rapor edilebilecek ölçüm limitini (LOQ) tespit etmek amacıyla 20 mg/l konsantrasyon değerine sahip referans malzeme ile çalışılmıştır. Referans malzeme olarak katı kimyasal Merck marka Setüloz Mikrokristalin den hazırlanan çözeltiler kullanılmıştır.

METOT VALİDASYONU

Örnek; Dedeksiyon limiti –LOD



Tablo-1. AKM İçin LOD ve LOQ Sonuçları

	AKM (mg/l)	m1 (g)	m2 (g)	V (ml)	Tarih	Geri Kazanım (%)	%hata
1	19	0,0882	0,0901	100	27.07.2007	95,0	5
2	21	0,0886	0,0907	100	27.07.2007	105,0	5
3	18	0,0891	0,0909	100	27.07.2007	90,0	10
4	22	0,0882	0,0904	100	27.07.2007	110,0	10
5	20	0,0866	0,0886	100	27.07.2007	100,0	0
6	20	0,089	0,091	100	27.07.2007	100,0	0
7	20	0,088	0,09	100	27.07.2007	100,0	0
8	18	0,0885	0,0903	100	27.07.2007	90,0	10
9	20	0,0863	0,0883	100	27.07.2007	100,0	0
10	21	0,0877	0,0898	100	27.07.2007	105,0	5
ort	19,9					99,5	4,5
ssapma	1,29						
%RSD	6,47						
LOD	4						
LOQ	13						

Yapılan çalışma sonucunda 20 mg/l konsantrasyon değeri için elde edilen standart sapma değeri 1,29 mg/l dir.

METOT VALİDASYONU

### Örnek; Dedeksiyon limiti –LOD

Tayin limitinin hesaplanmasında kullanılan yöntem en küçük ölçülebilen konsantrasyon değerinin tekrarlanabilirlik testleri sonucu hesaplanan standart sapma değerinin 3 katının alınmasıdır.

Bu durumda tayin limiti,

$$\begin{aligned}\text{Tayin Limiti (LOD)} &= 3 \times s \\ &= 1,29 \times 3 = 4 \text{ mg/l dir.}\end{aligned}$$

METOT VALİDASYONU

## Ölçüm Limiti – LOQ (Limit of Quantification)

- 'Belirlenmiş koşullar altında kabul edilebilir kesinlik (tekrarlanabilirlik) ve doğrulukla tespit edilebilen en düşük konsantrasyon değeridir.' [NATA Tech Note #13]
- 'Kimyasal ölçüm prosesinin, analizi yapılan maddeyi yeterli olarak ölçme yeteneğini ifade eden performans karakteristiğidir.'

METOT VALİDASYONU

**Ölçüm Limiti – LOQ**  
(Limit of Quantification)

- Analitik bir yöntemle analitin, uygun doğruluk ve kesinlikle tayin edilebilecek en düşük konsantrasyonudur.
- Analitin bilinen miktarlarla azaltılmasıyla hazırlanan örnekler ölçülür ve kabul edilebilir kesinlik ve doğruluğa sahip en düşük miktar tespit edilir.
- Pek çok durumda niceleme sınırı, tayin sınırının iki, üç katıdır.
- Niceleme sınırının tayini için deneysel işlemlerde genel yaklaşım, belli bir sayıda kör örneği analizlenerek analitik geri zemini ölçmek, bu değerlerin standart sapmasını 10 gibi bir faktör ile çarpılmasıdır.
- Bu sınır, sınıra yakın yada sınırdaki hazırlanmış belli sayıda örnek analizi ile kontrol edilmelidir.

METOT VALİDASYONU

**Ölçüm Limiti – LOQ**  
(Limit of Quantification)

**Örnek; AKM Analizi**  
**Ölçüm Limiti – LOQ**

**8.2 Ölçüm Limiti (LOQ)**

Ölçüm limitinin hesaplanmasında kullanılan yöntem tekrarlanabilirlik testleri sonucu hesaplanan standart sapma değerinin 10 katının alınmasıdır.

Bu durumda ölçüm limiti,

$$\begin{aligned} \text{Ölçüm Limiti (LOQ)} &= 10 \times s \\ &= 10 \times 1,29 = 13 \text{ mg/l dir.} \end{aligned}$$

METOT VALİDASYONU



## Çalışma Aralığı

- Çalışma aralığının en düşük değeri tayin limiti ve veya ölçüm limitidir.
- Çalışma aralığının en büyük değeri cihazın cevap aralığına veya metoda göre değişir.
- Metodunun çalışma aralığının doğrusal bir ilişki ile tanımlanabilir olması gereklidir.

Bu aralıkta doğruluk ve kesinlik değerleri birbirine yakın olmalıdır.

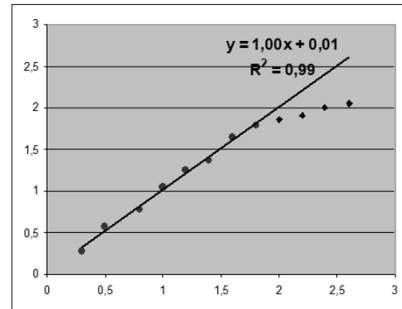
METOT VALİDASYONU



## DOĞRUSALLIK (linearity)

- Analiz sonucu ile referans değer arasındaki doğrusal ilişki tüm ölçüm aralığı için sağlanmalıdır.
- Ölçüm aralığını sağlayacak numune standart stock çözümlerden seyreltilerek ya da ayrı ayrı hazırlanabilir.
- Doğrusallık referans konsantrasyonuna karşılık, analiz sonucu ya da ölçüm sinyali olarak çizilebilir.

- Doğrusal bir ilişkiden söz edebilmek için  $r > 0,99$  olmalıdır.



METOT VALİDASYONU

*Doğrusallık (linearity)*

- ▶ Doğrusal bir ilişki bulunması durumunda test sonuçları uygun istatistiksel metotlarla değerlendirilir.
- ▶ Doğrusallığın ifade edilebilmesi için beklenen ölçüm aralığının %80 ile %120 sini kapsayacak en az 5-6 nokta önerilir.

METOT VALİDASYONU

*Doğrusallık (linearity)*

- ▶ Doğrusallık çalışması şu şekilde yapılır;
  - Blank numune ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış numunelerin analizi yapılır. Ölçüm değerine (y eksenine) karşılık gerek değer (x eksenine) grafiği çizilir. Görsel olarak doğrusallığın mevcudiyeti ve alt üst sınırlar belirlenir.
  - Doğrusallığın belirlendiği bölgede kalacak şekilde hazırlanan numunelerin analizi yapılır. Ölçüm değerine (y eksenine) karşılık gerek değer (x eksenine) grafiği çizilir.
  - Regresyon katsayısı, artık değerler (her x değeri için ölçüm değerine karşılık gelen değer ile doğru üzerinde tahmin edilen sayı farkı) hesaplanır.
  - LoQ'nin doğrusallığın alt sınırı olduğu teyit edilir. LoQ çalışması kabul edilmeyecek doğruluk ve kesinlik değerine ininceye kadar sürdürülmelidir.

METOT VALİDASYONU



### *Doğrusallık (linearity)*

- Belirgin bir doğrusal olmayan ilişki tespit edilmesi halinde genellikle
  - uygun bir fonksiyon ile ilişki tanımlanır ve sonuçla bu fonksiyon ile hesaplanır.
- ya da;
- Doğrusallığın sağlanabileceği daha dar bir ölçüm aralığı seçilir.

METOT VALİDASYONU

## Sağlamlık (Robustnes)

- **Sağlamlık, metot parametrelerinde küçük ama belirgin bir değişiklik yapıldığında metodun etkilenme yeteneğinin göstergesidir.**
- **Yöntemin deney koşullarındaki küçük sapmalara karşı hassasiyet derecesini gösterir.**
- **Sağlamlık testlerinden elde edilen bilgi, yöntemin uygulanabilir olduğu koşulların tanımlanmasını sağlar.**

METOT VALİDASYONU

Sağlamlık (Robustnes)

- Sağlamlık çalışmasında metot parametresine etki eden parametreler belirlenir ve bu parametrelerin doğruluk ve kesinliği nasıl etkilediğine bakılır.
- Farklı oda sıcaklığı ve farklı laboratuvarlardaki nem, farklı tecrübeye sahip analizciler, farklı firmaların aletleri, matris kompozisyonu, kimyasal madde (parti/marka) değişimi, ekstraksiyon zamanı,- sağlamlığa etki eden faktörler arasındadır

METOT VALİDASYONU

## Validasyondan Elde Edilen Sonuçların Ele Alınması hususlar

- Dışarıda kalanların değerlendirilmesi – ve muhtemel çıkarılmaları
- Belki de değerlendirme için talepler doğrultusunda t- veya F-testi

METOT VALİDASYONU

## Kalite Kontrol Çalışmaları

### Örnek;



#### 9.1. Kalite Kontrol Limitlerinin Hesaplanması

Limitlerin hesaplanması amacıyla 100,0 mg/l konsantrasyon değerine sahip 30 adet numunenin analizi yapılmıştır. Ölçüm değerlerinden tekrarlanabilirlik standart sapmaları ( $\sigma$ ) hesaplanmıştır.

Alt ve Üst Uyarı Limiti =  $\pm 2\sigma$

Alt ve Üst Kontrol Limiti =  $\pm 3\sigma$

AUL : 85,82 mg/l

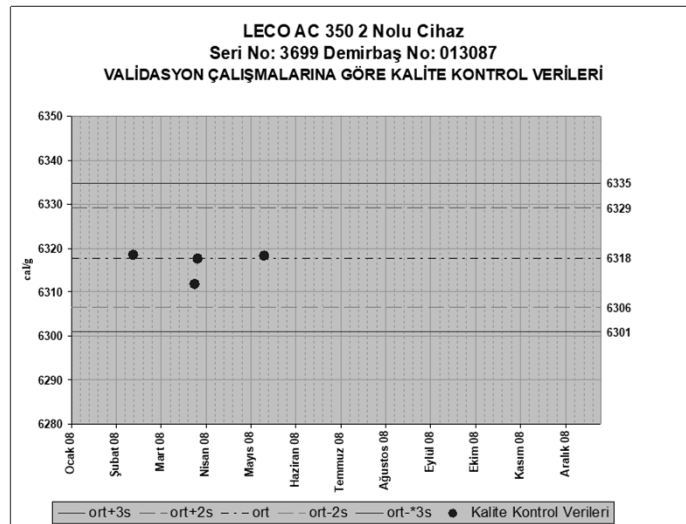
AKL : 81,36 mg/l

ÜUL : 103,65 mg/l

ÜKL : 108,10 mg/l

METOT VALİDASYONU

## Kalite Kontrol Grafiği



METOT VALİDASYONU

### *Kalite Kontrol Grafiği*

Kalite Kontrol Grafiklerinin deđerlendirilmesinde dikkate alınacak husular;

- - 1 değer hareket limiti dışında ise,
- - ardı ardına 2 değer uyarı limitleri dışında ise,
- - ardı ardına 7 değer artan bir eğilimdeyse,
- - ardı ardına 7 değer azalan bir eğilimdeyse,
- - ardı ardına 10 değer ortalama değerin aynı ynndeysel,

METOT VALİDASYONU

## Metot Validasyon Raporu

- Yöntemin amacı ve kapsamı
- Kullanılan Cihazlar ve zellikleri
- Kullanılan reaktifler ve reaktiflerin hazırlanması
- Numune hazırlama ve analizin yapılışı
- Hesaplama (formülü),
- Kullanılan referans malzemeler ve matrisler
- Metot Validasyon parametreleri
  - ...
  - ...
- Validasyon sonuçları
- Validasyon tekrarı kriterleri
- Beyan
- Kalite kontrol
- Validasyon alışmasına Katılanlar
- Belirsizlik Hesaplamaları
  - ...
  - ...

METOT VALİDASYONU