

# KALIBRACE

Chemometrie I, © David MILDE

## Definice kalibrace: mezinárodní metrologický slovník (VIM 3)

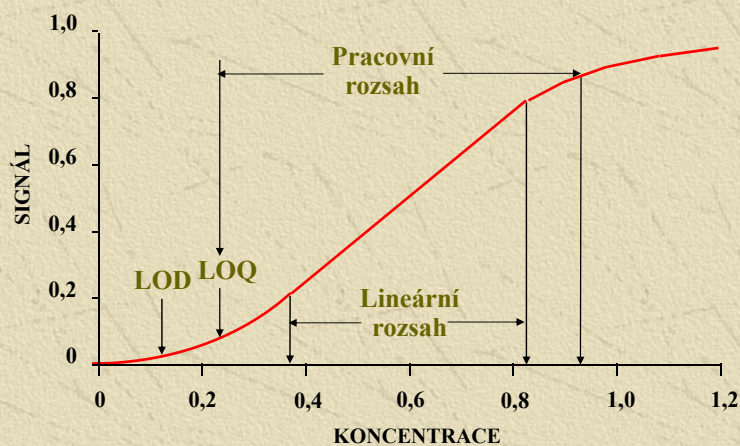
Činnost, která za specifikovaných podmínek v **prvním** kroku stanoví vztah mezi **hodnotami veličiny s nejistotami měření** poskytnutými **etalony** a odpovídajícími **indikacemi** s přidruženými nejistotami měření a ve **druhém** kroku použije tyto informace ke stanovení vztahu pro získání **výsledku měření** z indikace.

## ÚVOD

- \* Kalibrace patří k základním úlohám chemické praxe, jež se řeší s využitím regresních metod.
- \* Dle definice se skládá ze **dvou kroků**:
  - ◆ Sestavení kalibračního modelu – tj. sestavení regresního modelu z výsledků analýz kalibračních standardů (etalonů).
  - ◆ Použití kalibračního modelu: pro signál vzorku  $y^*$  se hledá odpovídající hodnota  $x^*$  (obvykle koncentrace) a interval spolehlivosti (nejistota).
- \* Ze statistického hlediska rozlišujeme lineární kalibraci (přímka) a nelineární kalibraci.

ACH/CHEX1, 2011

## Kalibrační závislost



*Převzato z materiálů LGC Standards Limited, Velká Británie.*

ACH/CHEX1, 2011

## Lineární kalibrace

- ✳ Kalibrační přímka je nejpoužívanější kalibrační model. Předpokládá se, že linearita modelu platí v celém rozsahu kalibrace, což je nezbytné ověřit statistickým testem.

Sestavení modelu:  $y = b_0 + b_1x + \varepsilon$

Použití modelu:  $y_s^* = b_0 + b_1x_s^* + \varepsilon$

- ✳ Zpětný odhad  $x^*$  lze určit několika způsoby. QC Expert používá odhad (přímý) a nepřímý odhad.

ACH/CHEX1, 2011

## Zpětné odhady $x_s^*$

- ✳ Zpětné odhady jsou hodnoty  $x_s^*$  neznámého vzorku vypočítané z naměřené odezvy  $y_s^*$  pomocí zvoleného kalibračního modelu. Jedná se pouze o odhad skutečné hodnoty, vyjadřujeme ho IS.
- ✳ **Přímý odhad** (kombinace rovnic pro sestavení a použití modelu):

$$x_s^* = x + \frac{y_s^* - y}{b_1}$$

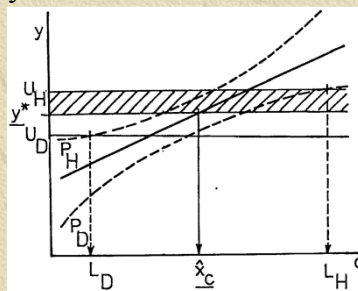
- ✳ **Modifikovaný (nepřímý) odhad**, který koriguje vychýlení:

$$x_{s,M}^* = \bar{x} + \frac{(y_s^* - \bar{y})b_1}{b_1^2 + (\sigma^2 / \sum_i (x_i - \bar{x})^2)}$$

ACH/CHEX1, 2011

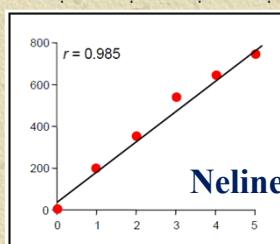
## Interval spolehlivosti $x^*$ (nejistota)

- ✱ Odhad  $x^*$  je odhad bodový, potřebuje znát IS, nejčastěji 95 %. Lze jej určit početně nebo graficky.
- ✱ Grafické určení IS:
  - ◆  $L_D$  je řešením  $U_D = P_H$ ,  $L_H$  řešením  $U_H = P_D$
  - ◆  $U_H, U_D$  IS opakovaných měření  $y^*$
  - ◆  $P_H, P_D$  meze pásu spolehlivosti
- ✱ IS  $x^*$  obecně není symetrický!

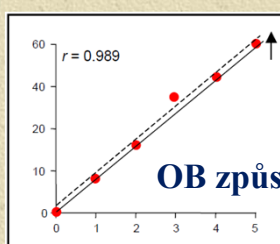
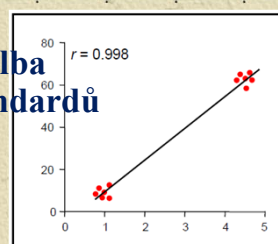


ACH/CHEX1, 2011

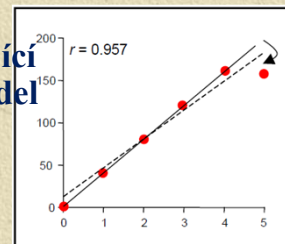
## Lineární kalibrace interpretace kalibračních grafů



**Nevhodná volba  
kalibračních standardů**



**OB ovlivňující  
regresní model**



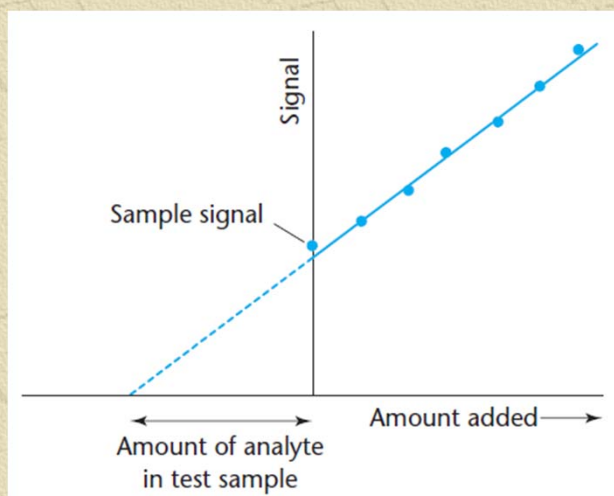
ACH/CHEX1, 2011

## Metoda standardního přídávku

- ✦ *Method of standard additions* – metoda přídávků standardu.
- ✦ Používá se k eliminaci matričních vlivů, je časově náročná a vyžaduje větší množství vzorku.
- ✦ Koncentrace přidávaného analytu musí být v lineární části kalibrační závislosti.
- ✦ Ze statistického hlediska je vhodné analyzovat vzorek + 3 přídávky  $\Rightarrow$  4 body do regresního modelu.
- ✦ Důležité je vhodná volba koncentrace přídávků, aby signál rostl rovnoměrně.

ACH/CHEX1, 2011

## Metoda standardního přídávku



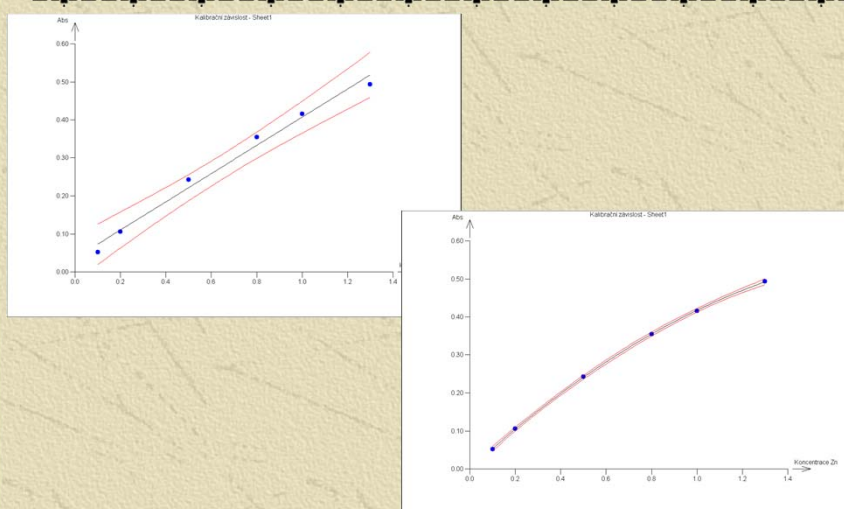
ACH/CHEX1, 2011

## Nelineární kalibrace

- ✦ Pokud přímka jako kalibrační model nevyhovuje, používáme nelineární kalibraci.
- ✦ Optimální kalibrační model obvykle vykazuje nejnižší mez detekce.
- ✦ Nelineární modely:
  - ◆ **Lineární spline** – proložení dat několika odlišnými přímkami spojenými uzly.
  - ◆ **Polynomický model** – obvykle dostačuje kvadratický model.
  - ◆ **Nelineární spline** – proložení dat několika odlišnými polynomickými modely spojenými uzly.

ACH/CHEX1, 2011

## Nelineární kalibrace



ACH/CHEX1, 2011

## Kalibrační meze

-----

-----

## Mez detekce

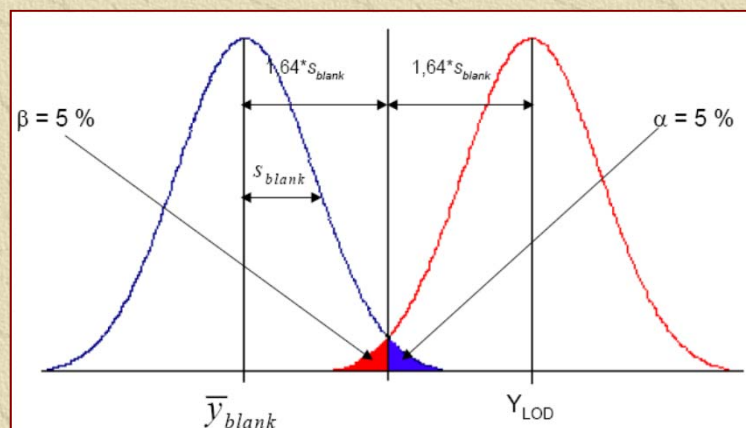
- 
- \* Definice z VIM 3: **naměřená hodnota veličiny** získaná daným **postupem měření**, pro kterou je pravděpodobnost nepravdivého tvrzení o nepřítomnosti složky v materiálu  $\beta$ , přičemž pravděpodobnost nepravdivého tvrzení o její přítomnosti je  $\alpha$ .
    - ◆ POZNÁMKA 1 IUPAC doporučuje implicitní hodnoty pro  $\alpha$  a  $\beta$  rovné 5 %.
    - ◆ POZNÁMKA 2 Někdy se používá zkratka LOD.
    - ◆ POZNÁMKA 3 Termín „citlivost“ se nedoporučuje používat pro ‚mez detekce‘.

ACH/CHEX1, 2011

## Mez detekce

- ✱ Předpoklad: normální rozdělení a shoda rozptylů.

$$Y_{LOD} = \bar{y}_{blank} + (1,64s_{blank} + 1,64s_{blank})$$



ACH/CHEX1, 2011

## LOD: Kaiserův přístup

- ✱ Hodnocení variability měření slepého vzorku (pokusu) zavedl v 60. letech Kaiser.
  - ◆ Je třeba vhodně zvolit slepý vzorek (pokus).

$$Y_{LOD} = \bar{y}_{blank} + K \cdot s_{blank}$$

- ✱ Určení K:
  - ◆ Kaiser (normální rozdělení):  $K = 3$  (3,28 zaokrouhleno),
  - ◆ kvantil Studentova rozdělení podle  $n$ ,
  - ◆ anglo-americká literatura:  $K = 2$ .
- ✱ Mez stanovitelnosti  $K = 10$ :

$$Y_{LOQ} = \bar{y}_{blank} + 10 \cdot s_{blank}$$

ACH/CHEX1, 2011



## LOD: přímá metoda analytu

✱ Využívá statistických vlastností (pásu spolehlivosti, směrnice) kalibračního modelu:

- ◆ Vychází z IUPAC Recommendation (1995).
- ◆ Rozsah kalibračních standardů max. o řád vyšší než LOD (DIN 32645).
- ◆ Je třeba zajistit shodné složení kalibračních standardů i vzorků.

$$X_{LOD} = s_{x_0} \cdot t \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

$$X_{LOQ} = k \cdot s_{x_0} \cdot t \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(x_Q - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}$$

ACH/CHEX1, 2011

## Kalibrační meze

- ✱  $Y_C$  ... kritická úroveň  $Y$ . Nejmenší hodnota  $Y$  rozeznatelná od šumu. Hodnoty menší než  $Y_C$  se považují za šum, resp. slepý pokus.
- ✱  $Y_{LOD}$  ... mez detekce  $Y$ . Hodnota, nad níž můžeme bezpečně (s pravděpodobností  $1-\alpha$ ) prokázat přítomnost vzorku.
- ✱  $Y_{LOQ}$  ... mez kvantifikace  $Y$ . Hodnota, nad níž lze stanovit skutečnou hodnotu  $Y$  s relativní chybou menší než  $\alpha$ .
- ✱  $X_C$  ... kritická úroveň  $X$ . Hodnota odpovídající  $Y_C$  podle kalibračního modelu.
- ✱  $X_{LOD}$  ... mez detekce  $X$ . Minimální detekovatelná hodnota  $X$  (např. koncentrace, hmotnost) danou metodou.
- ✱  $X_{LOQ}$  ... mez kvantifikace  $X$ . Minimální hodnota  $X$ , kterou lze stanovit s relativní chybou menší než  $\alpha$ . Danou metodou lze tedy kvantitativně stanovit pouze hodnoty větší než  $X_Q$ .

ACH/CHEX1, 2011

