

# KALIBRACJA –

## – ważny etap procedury analitycznej

**Piotr KONIECZKA**

Katedra Chemii Analitycznej

Wydział Chemiczny

Politechnika Gdańska

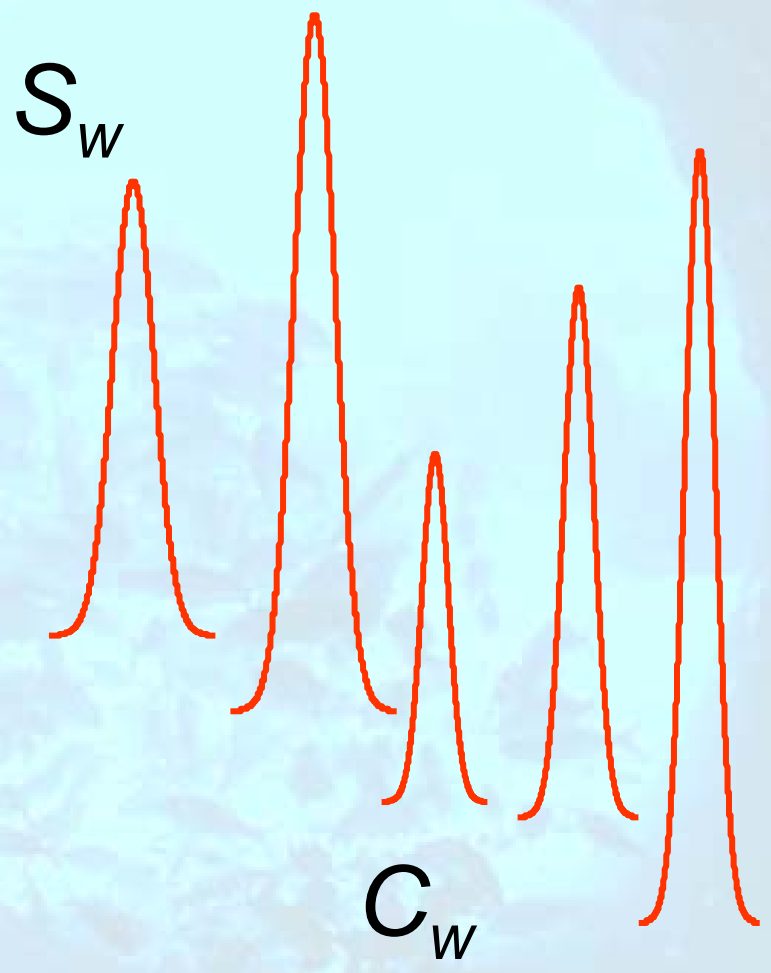
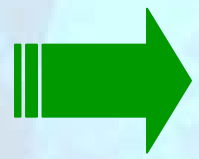
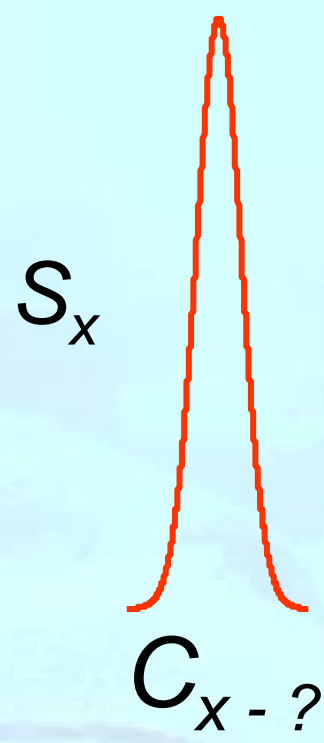
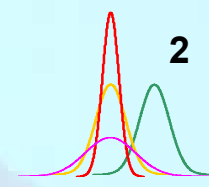
ul. G. Narutowicza 11/12

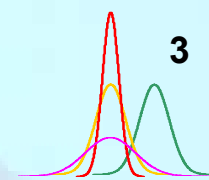
80-233 GDAŃSK

e-mail: [kaczor@chem.gda.pl](mailto:kaczor@chem.gda.pl)

[piotr.konieczka@pg.gda.pl](mailto:piotr.konieczka@pg.gda.pl)

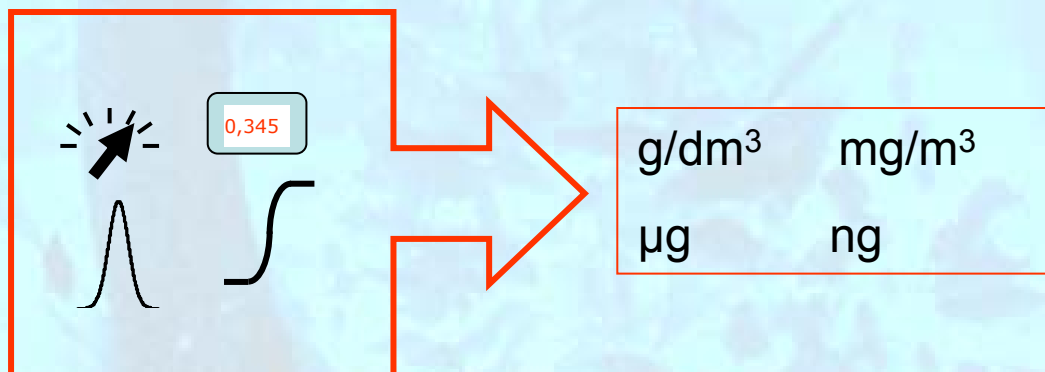


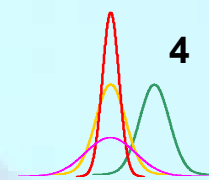




Sygnał wyjściowy detektora – funkcja zawartości analitu  
(pomiar pośredni)

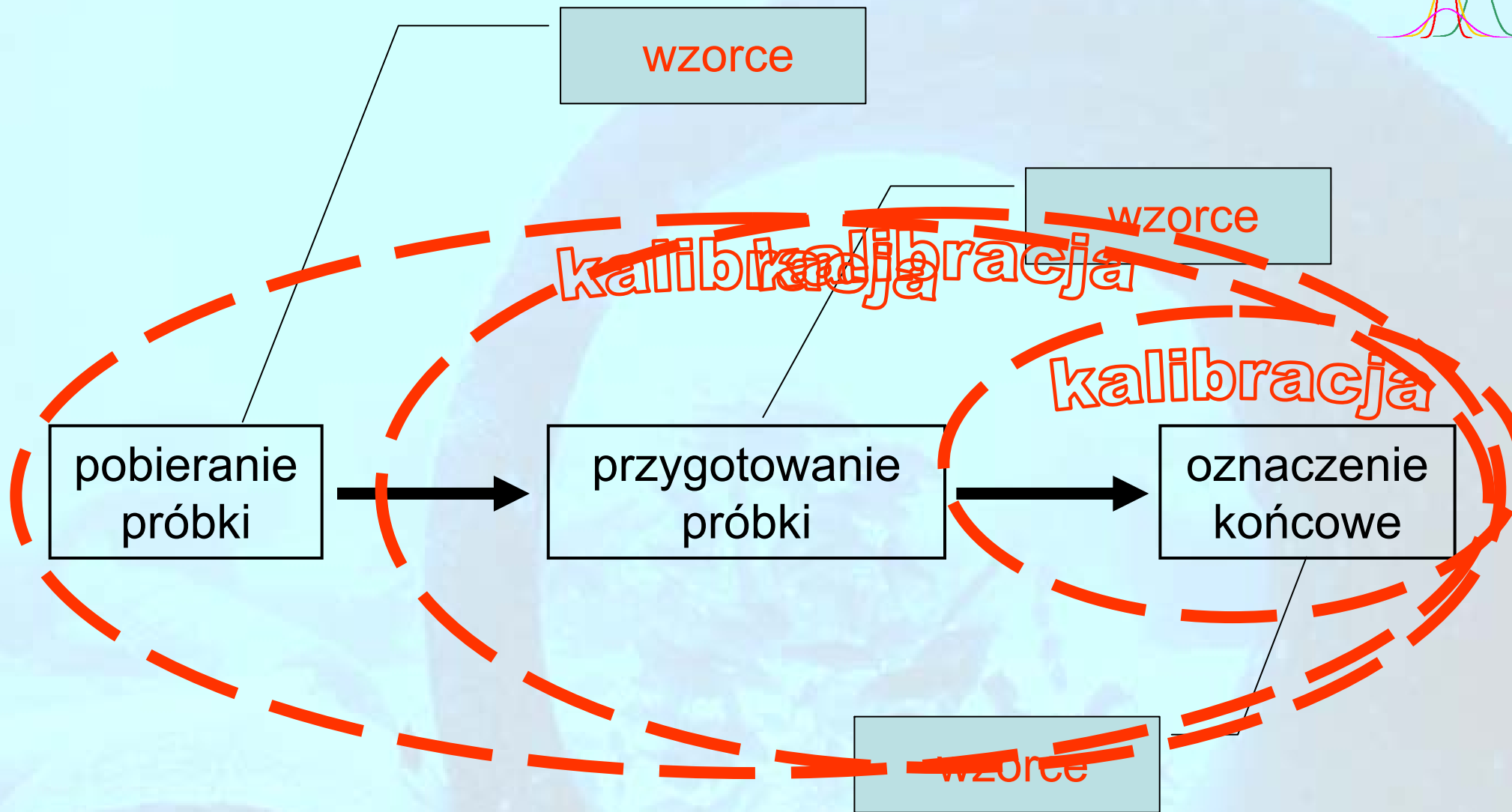
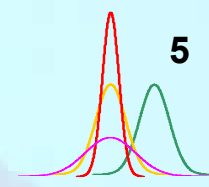
Wyznaczenie zależności funkcyjnej – kalibracja

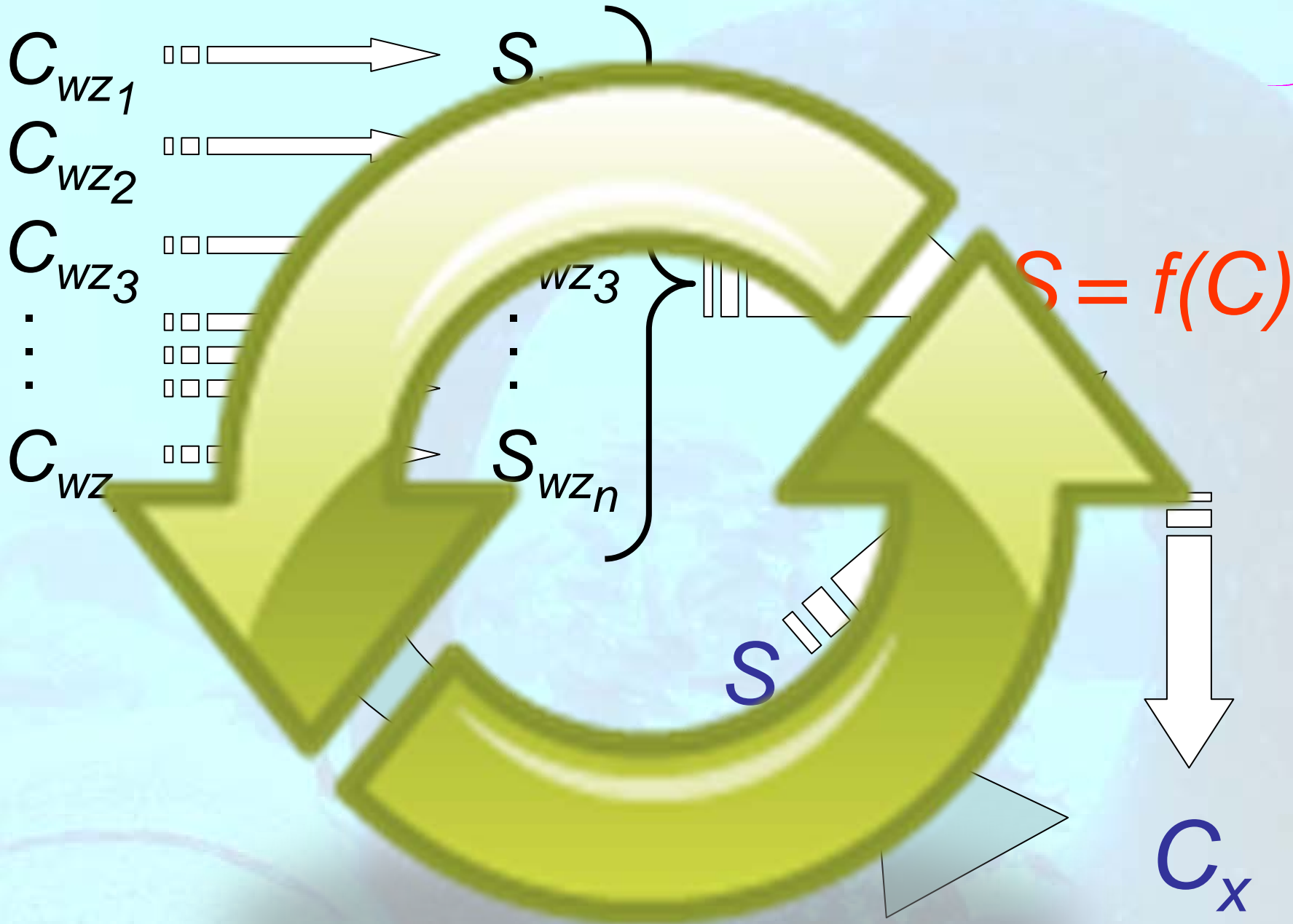




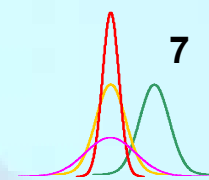
## Sposób przeprowadzania kalibracji zależy od:

- rodzaju przyrządu pomiarowego,
- liczby próbek – czasu analizy,
- możliwości przygotowywania próbek wzorcowych w szerokim zakresie stężeń analitu (w celu sprawdzenia całego zakresu przyrządu pomiarowego),
- wymaganej dokładności wyniku pomiaru,
- wymaganej niepewności wyniku pomiaru,
- składu matrycy próbki,
- możliwości zmiany składu próbki w trakcie procesu analitycznego.



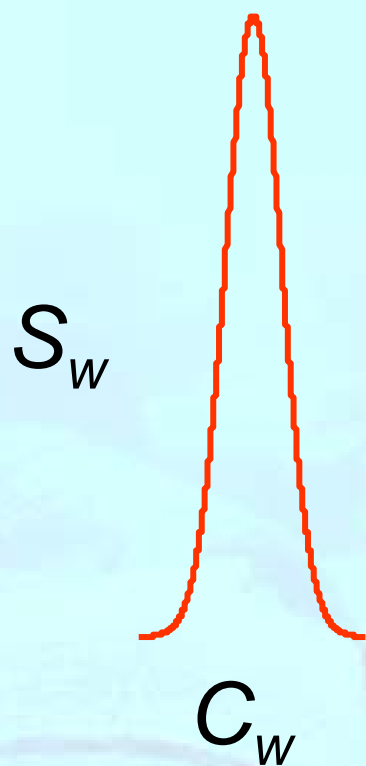


# Metoda jednego wzorca

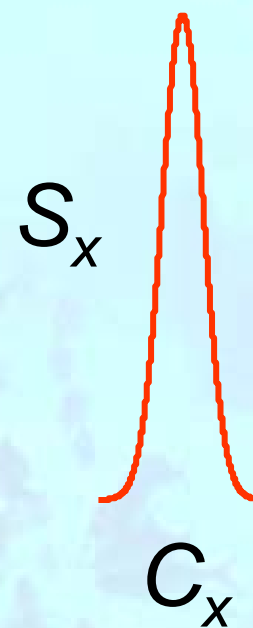


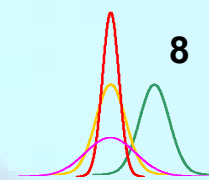
Przeprowadza się dwa pomiary:

dla próbki wzorca



dla badanej próbki





Zawartość analitu w próbce oblicza się wg wzoru:

$$C_X = C_W \cdot \frac{S_X}{S_W}$$

gdzie:

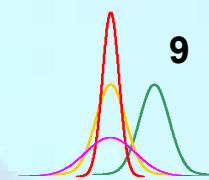
$C_X$  - zawartość analitu w badanej próbce,

$C_W$  - zawartość analitu w próbce wzorca,

$S_X$  - sygnał urządzenia pomiarowego dla badanej próbki,

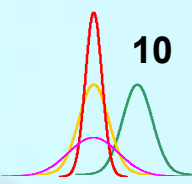
$S_W$  - sygnał urządzenia pomiarowego dla próbki wzorca.



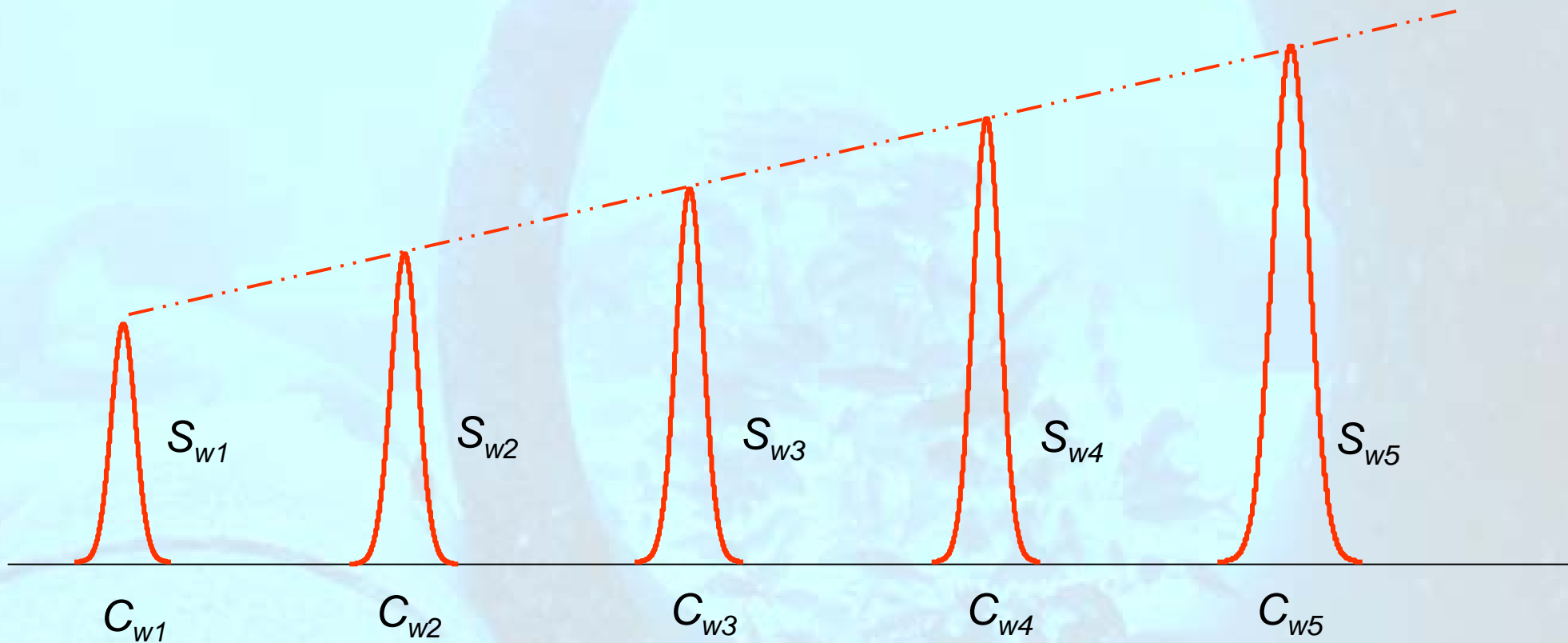


- Wynik końcowy jest tym dokładniejszy, im zawartość analitu w badanej próbce mniej różni się od zawartości analitu w próbce wzorcowej.
- Im węższy jest zakres stężeń (niewielka różnica poziomów stężeń analitu), tym bardziej możliwe jest przybliżenie nawet nieliniowej zależności wiążącej sygnał wyjściowy z zawartością analitu za pomocą odcinka prostoliniowego.
- Ekstrapolacja!!!
- Wpływ składu matrycy na wynik pomiaru – kalibracja zewnętrzna.

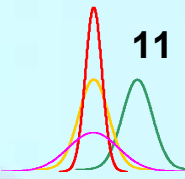
# Metoda krzywej wzorcowej (kalibracja wielopunktowa)



Przeprowadza się pomiary dla próbek wzorcowych o różnej zawartości analitu:



# Metoda krzywej wzorcowej (kalibracja wielopunktowa)



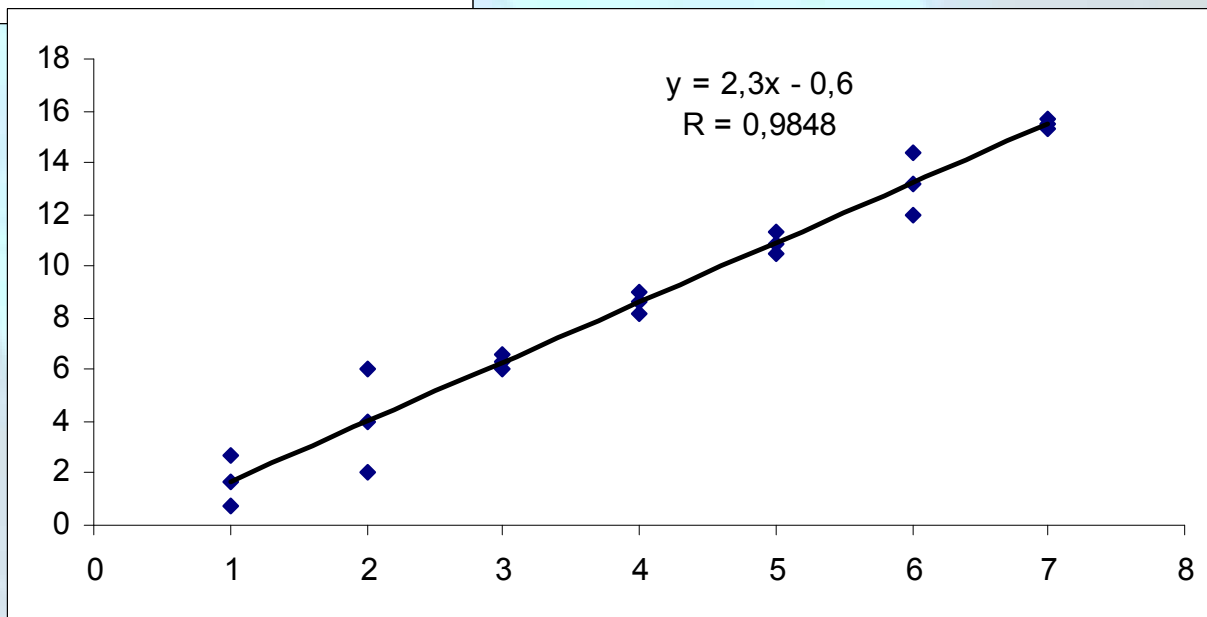
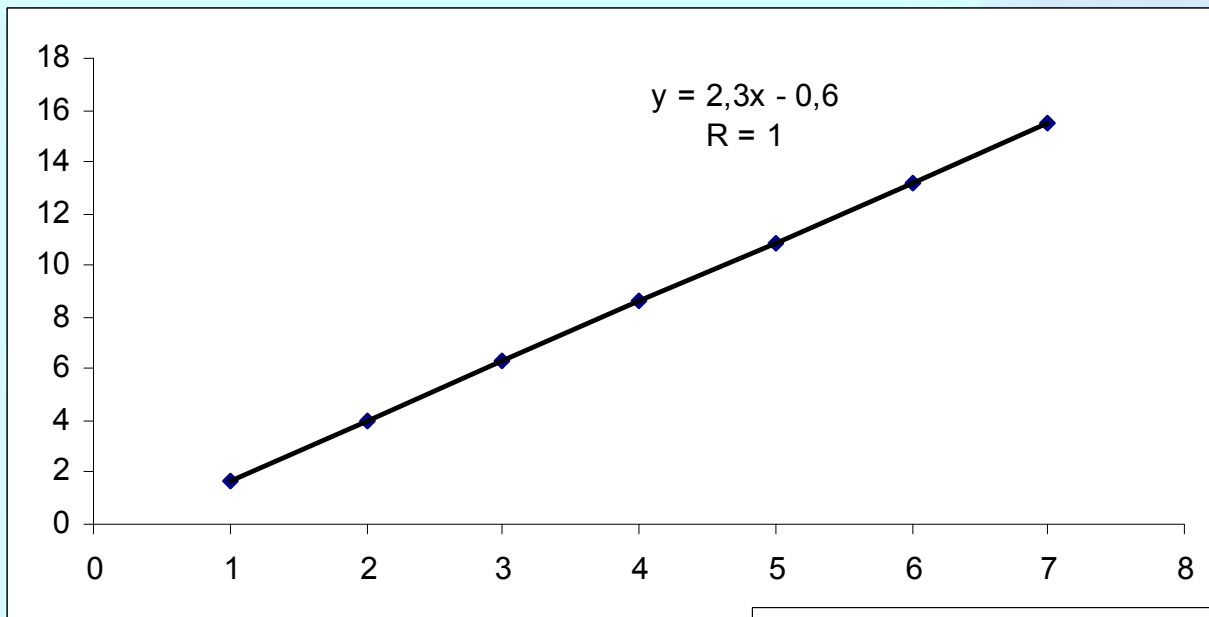
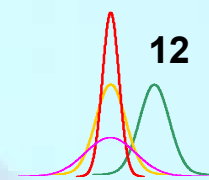
Wyznacza się zależność  $S = f(C)$  za pomocą prostej postaci:

$$S_w = b \cdot C_w + a$$

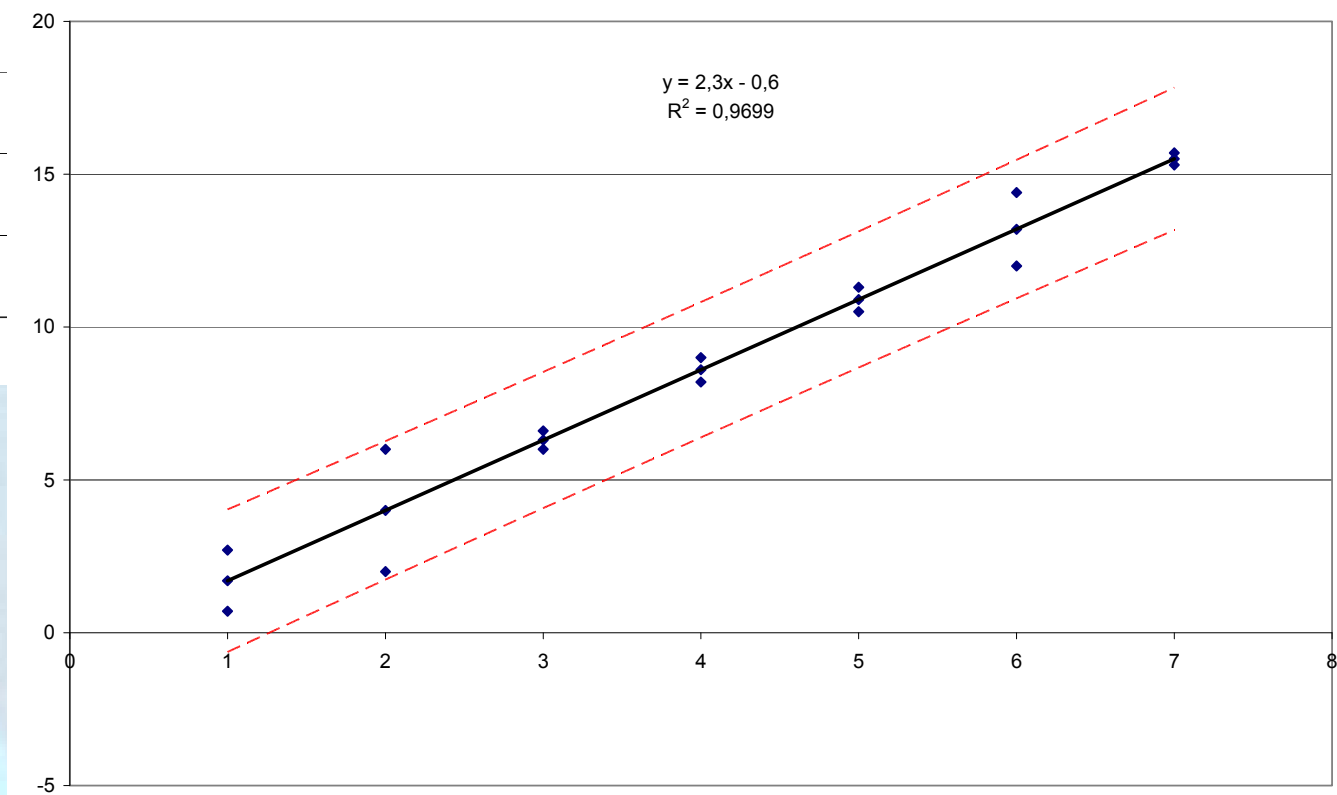
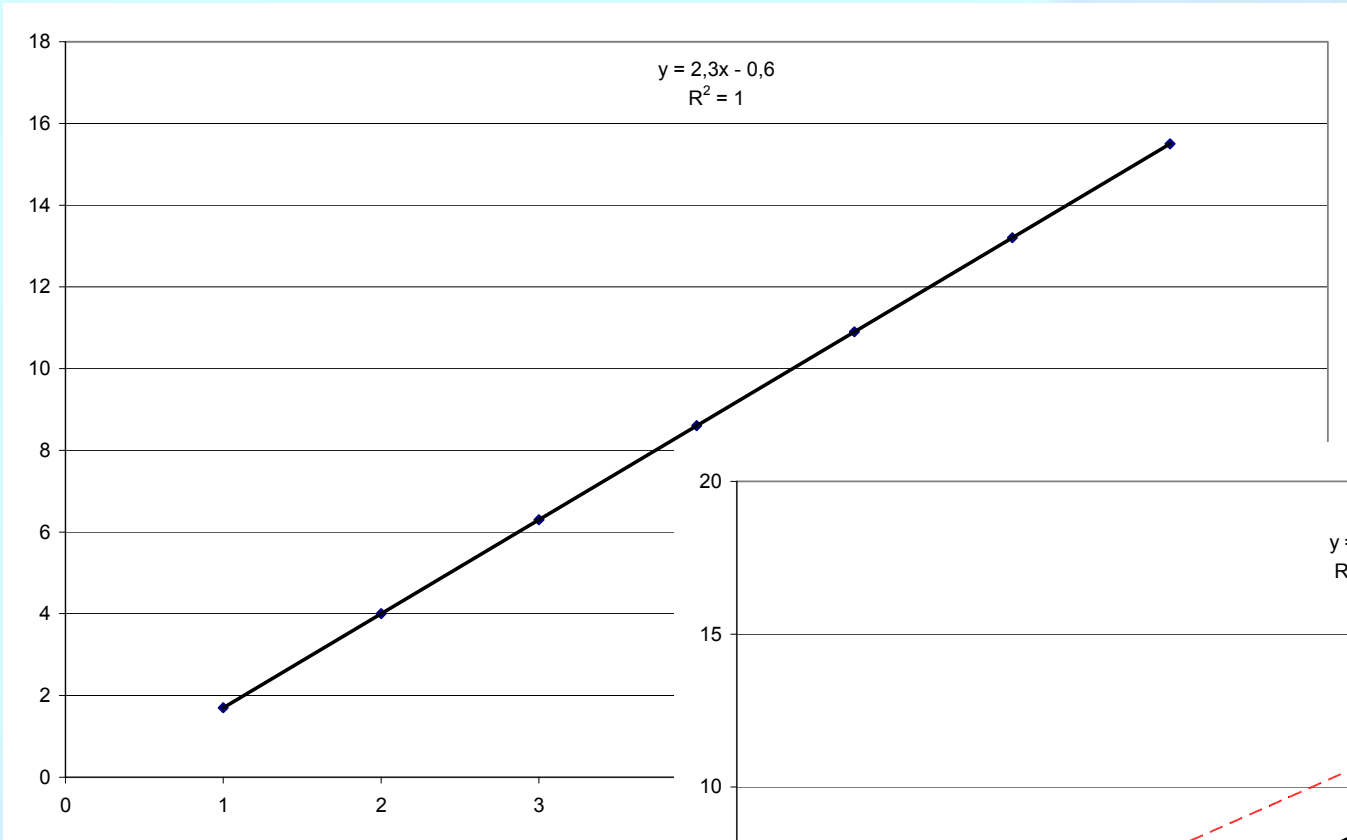
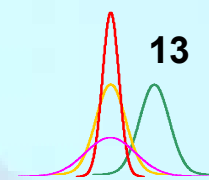
Po uzyskaniu sygnału dla analitu obecnego w próbce i przekształceniu równania, wynik oznaczenia można obliczyć korzystając ze wzoru:

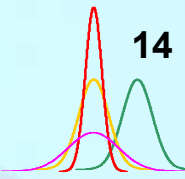
$$C_x = \frac{S_x - a}{b}$$

# Metoda krzywej wzorcowej (kalibracja wielopunktowa)



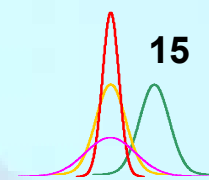
# Metoda krzywej wzorcowej (kalibracja wielopunktowa)





- Roztwory wzorcowe, w oparciu o które wyznaczana jest krzywa kalibracyjna, powinny spełniać kilka podstawowych wymogów:
  - obejmować swym zakresem stężeń oczekiwane stężenie analitu w badanej próbce (próbkach),
  - obejmować swym zakresem nie więcej niż 3 dekady stężeń,
  - równomiernie „pokrywać” zakres stężeń.
- Wpływ składu matrycy na wynik pomiaru – kalibracja zewnętrzna.

# Metoda roztworów ograniczających

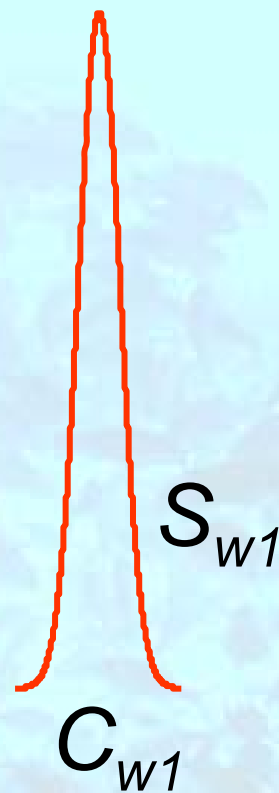
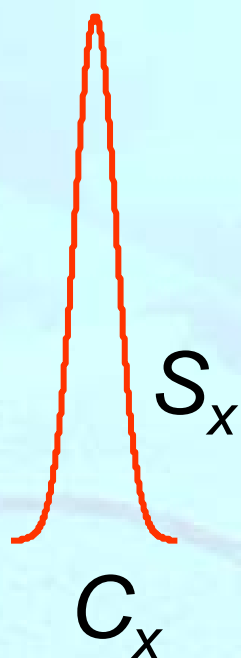


Przeprowadza się trzy pomiary:

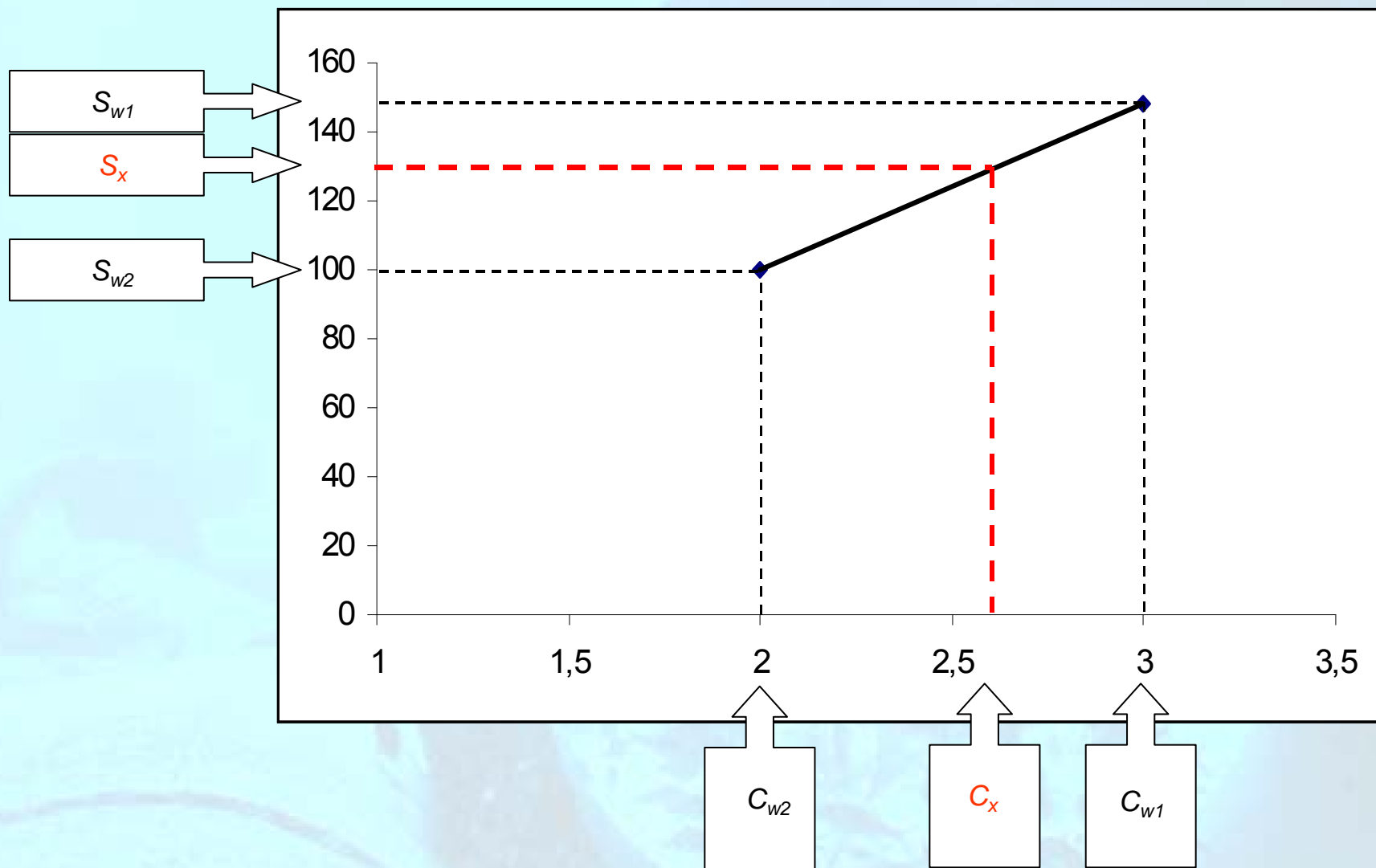
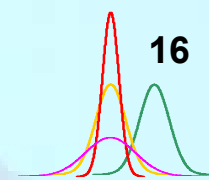
dla próbki rzeczywistej

dla dwóch próbek roztworów wzorcowych  
(w których zawartość analitu jest odpowiednio)

**wyższa** i **niższa**  
od zawartości analitu w badanej próbce

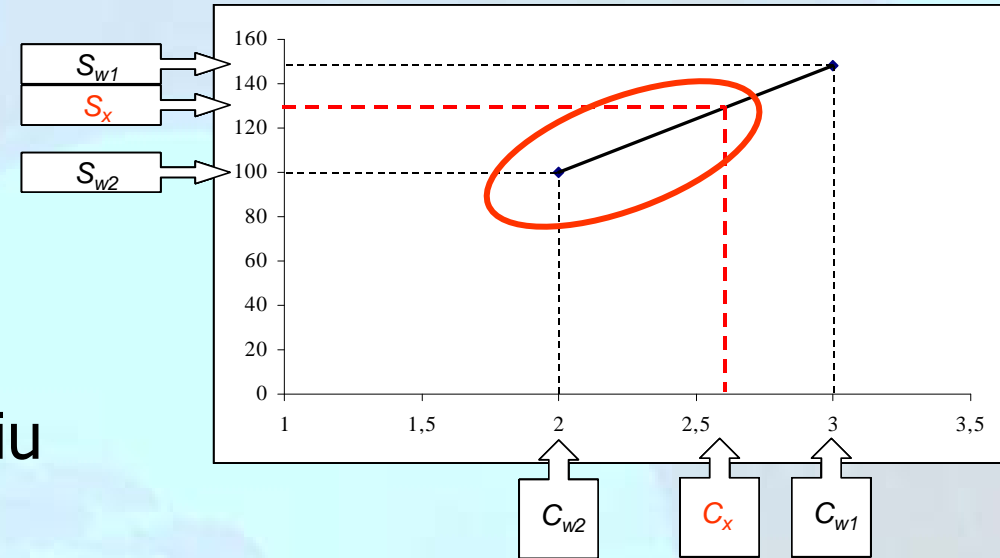
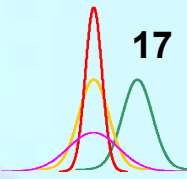


# Metoda roztworów ograniczających





# Metoda roztworów ograniczających



Wynik oblicza się po przekształceniu zależności:

$$\frac{S_{w1} - S_x}{S_{w1} - S_{w2}} = \frac{C_{w1} - C_x}{C_{w1} - C_{w2}} \quad \Rightarrow \quad C_x = C_{w1} - \frac{(C_{w1} - C_{w2}) \cdot (S_{w1} - S_x)}{S_{w1} - S_{w2}}$$

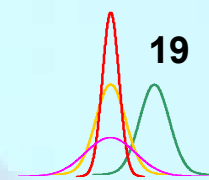
lub

$$\frac{S_x - S_{w2}}{S_{w1} - S_{w2}} = \frac{C_x - C_{w2}}{C_{w1} - C_{w2}} \quad \Rightarrow \quad C_x = C_{w2} + \frac{(C_{w1} - C_{w2}) \cdot (S_x - S_{w2})}{S_{w1} - S_{w2}}$$



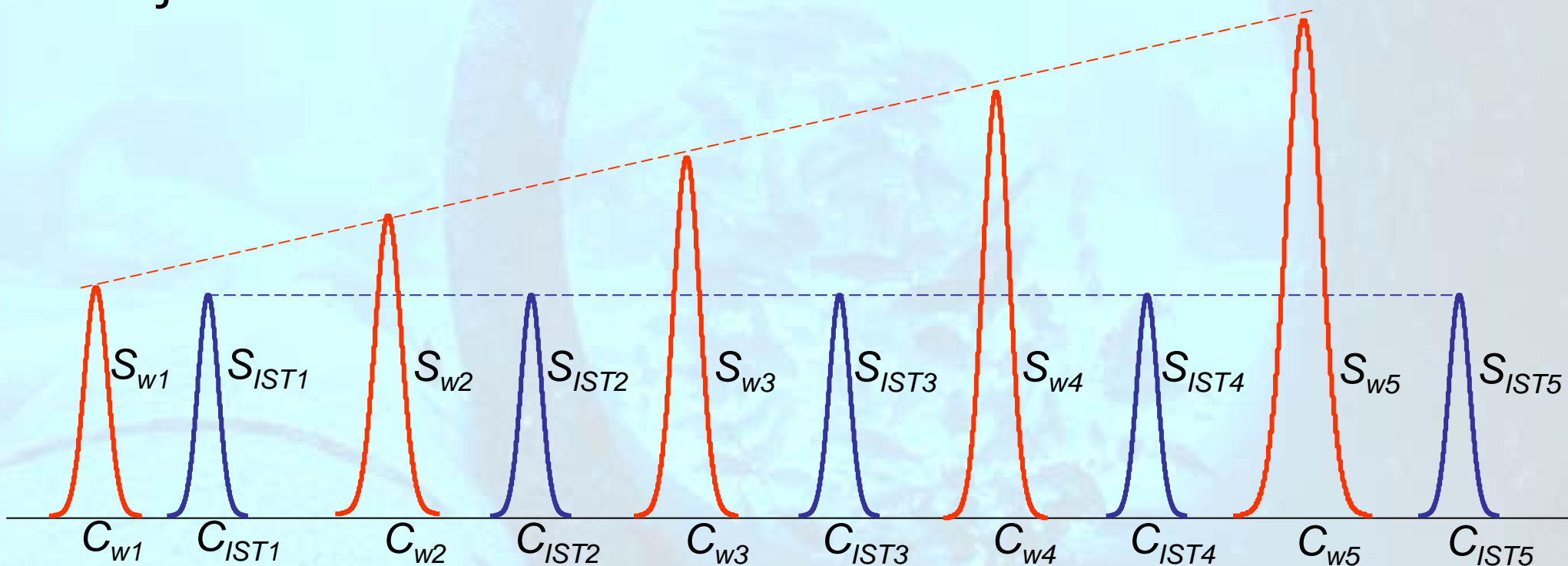
- Wynik końcowy jest tym dokładniejszy, im różnica stężeń analitu w próbkach wzorcowych jest mniejsza,
- Wpływ składu matrycy na wynik pomiaru – kalibracja zewnętrzna,
- „Szybki” sposób kalibracji – zalecany w przypadku gdy pomiar jest niestabilny,
- Zastosowanie w przypadku nieliniowej zależności sygnału od stężenia,

# Metoda wzorca wewnętrznego

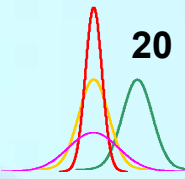


Polega na dodaniu do próbki znanej ilości składnika (wzorzec wewnętrzny – *IST* – ang. *internal standard*) różnego od substancji oznaczanych, nieobecnego w analizowanych próbkach.

Najczęściej dodatek wzorca wewnętrznego jest realizowany w taki sposób, że jego jednakową ilość dodaje się do roztworów wzorcowych o różnej zawartości analitu.



# Metoda wzorca wewnętrznego



Wykreślenie zależności (wykres kalibracyjny) postaci:

$$C_w = f\left(\frac{S_w}{S_{IST}}\right)$$

Jeśli ilość dodawanego wzorca wewnętrznego nie jest jednakowa  
wykreśla się zależność postaci:

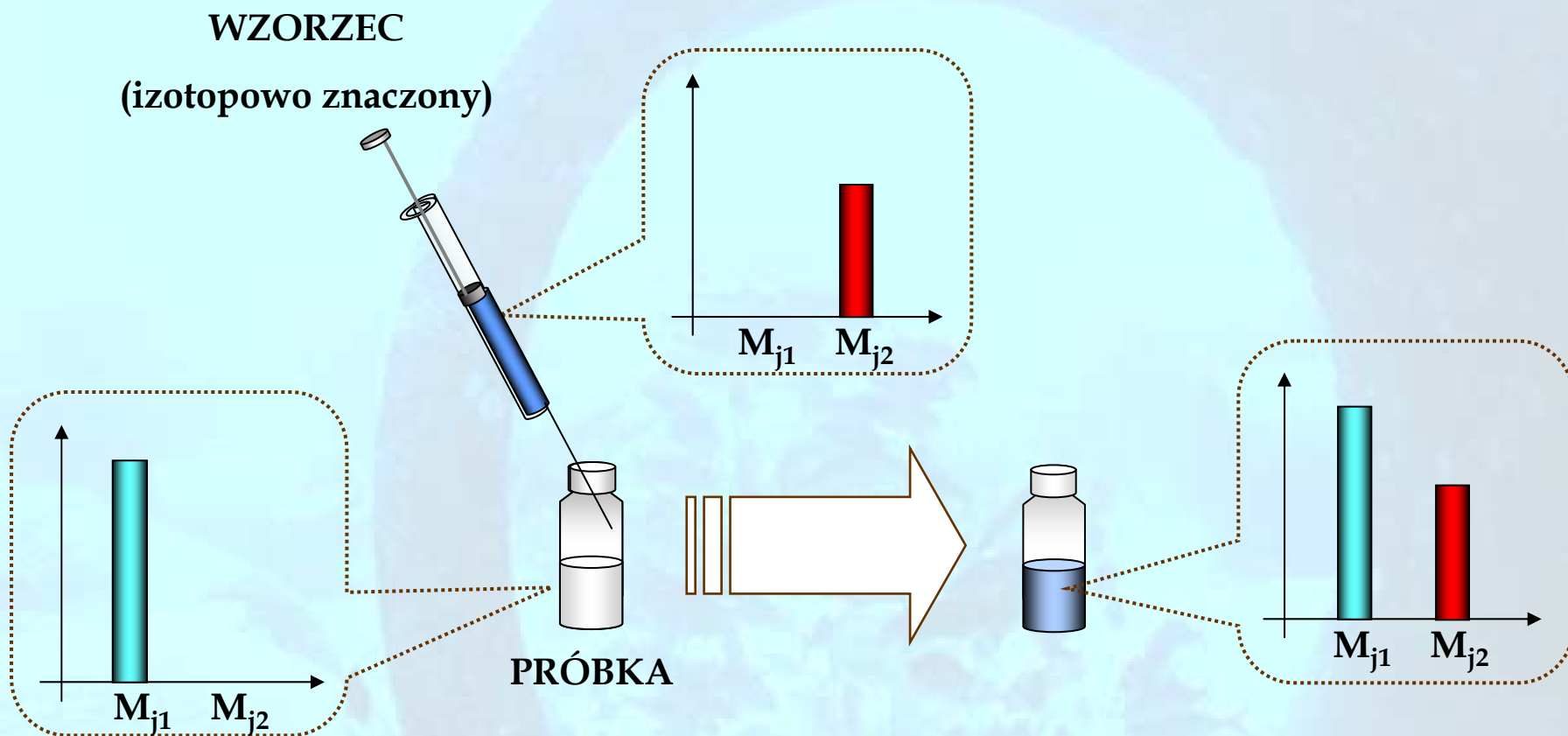
$$\frac{C_w}{C_{IST}} = f\left(\frac{S_w}{S_{IST}}\right)$$

Technika rozcieńczenia izotopowego – ang. *isotope dilution - ID*

Technika *ID* jest **specyficzną odmianą techniki wzorca wewnętrznego**. Specyficzność ta polega na tym, iż w tym przypadku dodawaną substancją jest **znana ilość związku, który różni się od analitu jedynie składem izotopowym**.

W trakcie analizy ilościowej wyznaczane są stosunki sygnałów dla odpowiednich jonów analitycznych (co najmniej dwóch) uzyskanych w trakcie analizy próbki rzeczywistej, próbki wzorca oraz próbki rzeczywistej z dodatkiem wzorca.

# Metoda wzorca wewnętrznego





- Zminimalizowany wpływ składu matrycy kalibracja wewnętrzna,
- „Szybki” sposób kalibracji – zalecany w przypadku gdy pomiar jest niestabilny,

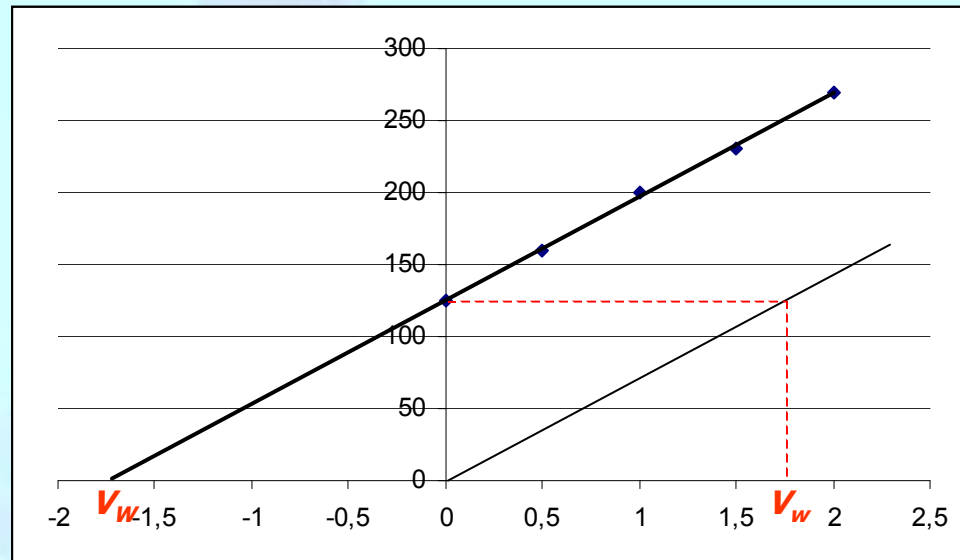


## Metoda dodatku wzorca

Polega na dodaniu do próbki znanych ilości składnika oznaczanego.

Wykreślenie zależności (wykres kalibracyjny) postaci:

$$S_{x+w} = f(C_w)$$



$$C_x = \frac{C_w \cdot V_w}{V_x}$$





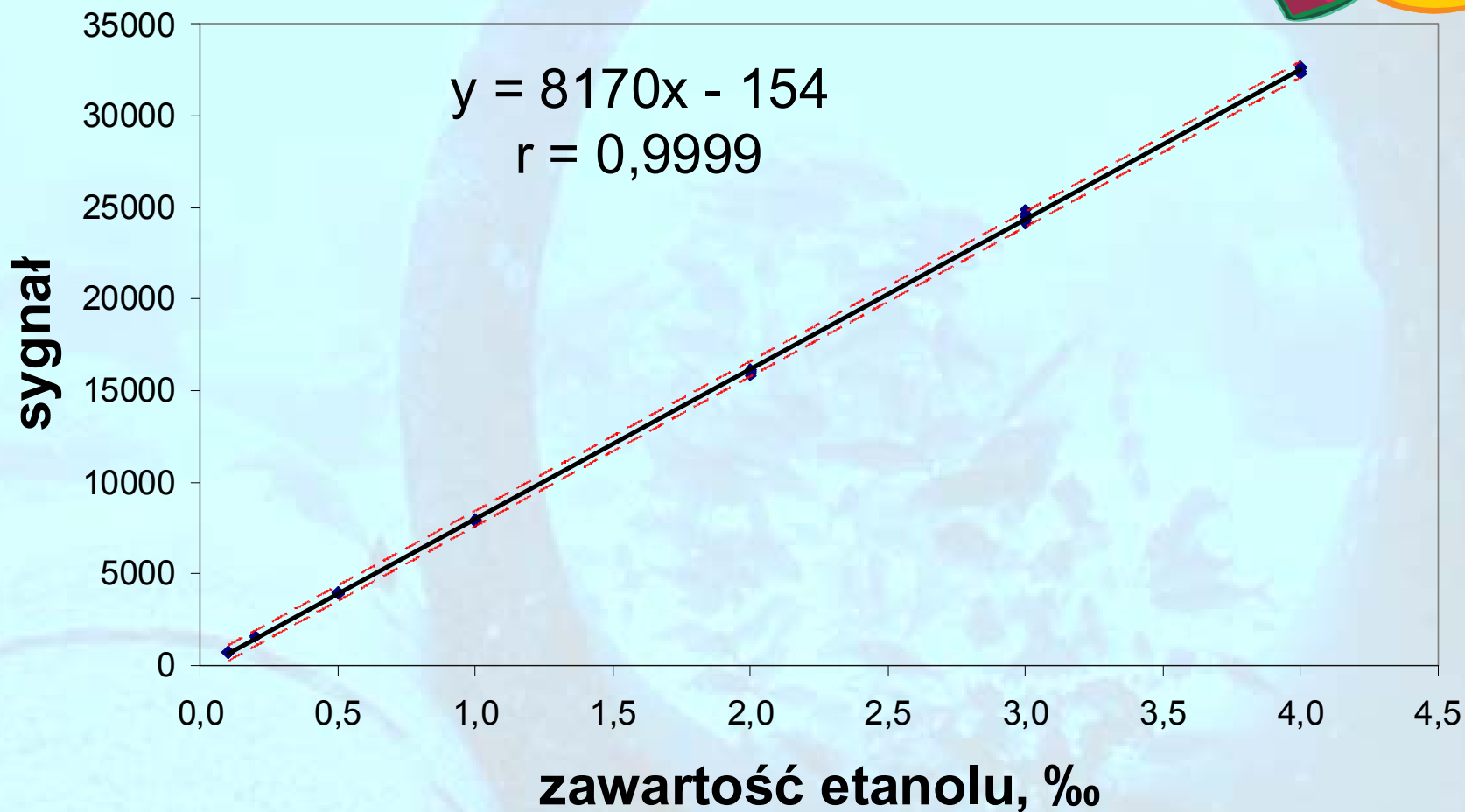
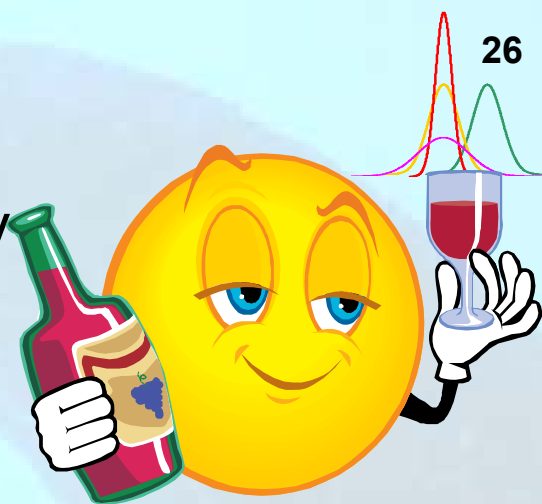
- Zminimalizowany wpływ składu matrycy kalibracja wewnętrzna,
- „Szybki” sposób kalibracji – zalecany w przypadku gdy pomiar jest niestabilny,
- Ekstrapolacja!!!



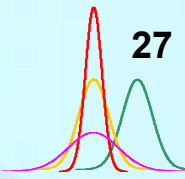
# Metoda krzywej wzorcowej

Roztwory wzorcowe – EtOH w wodzie – analiza fazy nadpowierzchniowej – gazowej

Badana próbka – roztwór krwi w wodzie



# Metoda krzywej wzorcowej



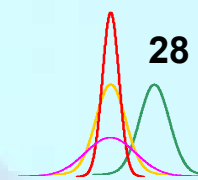
$$y = 8170x - 154$$

Sygnał dla próbki krwi – 4295

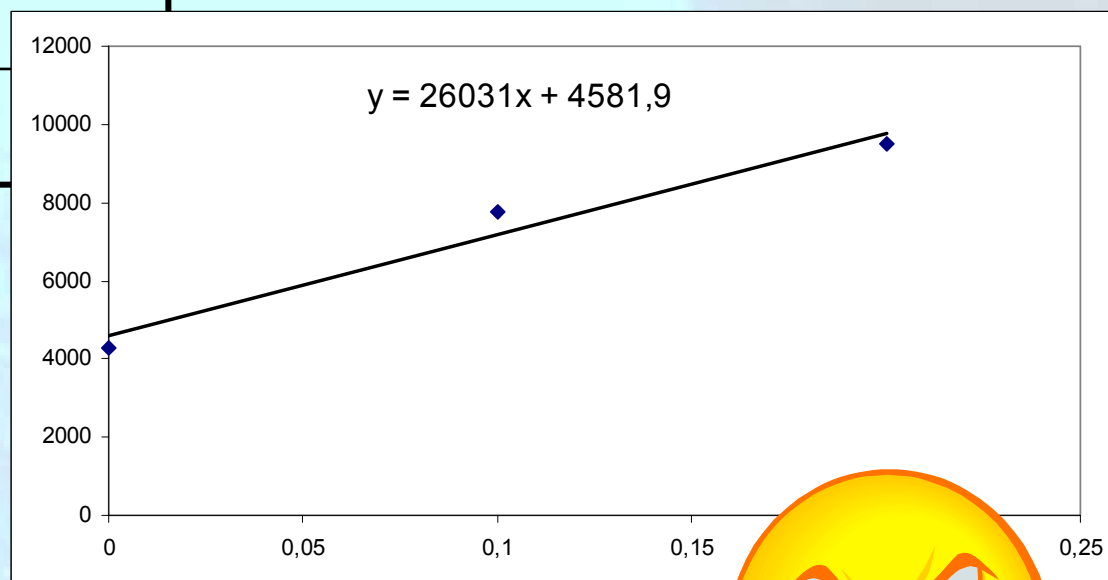
Zawartość EtOH w próbce krwi – 0,54‰



# Metoda dodatku wzorca



sygnał	ilość dodanego 0,5‰ EtOH, ml
4295	0 - próbka krwi
7758	0,1
9501	0,2



Zawartość EtOH w próbce krwi – 0,88‰

Zawartość EtOH w próbce krwi – 0,54‰



Dziękuję za uwagę

