

Nicht lineare Kalibrationsfunktionen

Dr. Volkmar Neitzel, Ruhrverband, Leiter Zentrale Aufgaben, Essen

Von fotometrischen Messverfahren ist bekannt, dass das Gesetz von Lambert und Beer, d. h. die lineare Beziehung zwischen der Extinktion und Konzentration, nur in einem begrenzten Bereich gilt. Aufgrund von Sättigungseffekten nimmt die Steilheit der zunächst linearen Beziehung zwischen beiden Größen oberhalb eines bestimmten Gehalts ab. Im Extremfall bleibt die Extinktion auch bei steigendem Gehalt nahezu konstant. Für derartige Fälle ist die lineare Regression, die in Teil 1 [1] behandelt wurde, nur bedingt geeignet.



Eine Reihe von Messverfahren zeigt einen grundsätzlich nicht linearen Zusammenhang zwischen Messwerten und Analyseergebnissen. Selbst dann, wenn der Arbeitsbereich eingeengt wird, ist die lineare Regression ungeeignet. Die DIN ISO 8466-2 [2] behandelt derartige Fälle durch Anpassung eines Polynoms 2. Grades an die Kalibrationsdaten.

Theorie nicht linearer Kalibrationsfunktionen

Die Kalibration für nicht lineare Fälle setzt – wie auch die lineare Regression – gleiche Varianzen (Streuungen der Messwerte) am oberen und unteren Ende des Arbeitsbereichs voraus. Die untere Arbeitsbereichsgrenze sollte größer als die oder gleich der Bestimmungsgrenze sein, wobei die DIN ISO 8466-2 keine Angaben darüber macht, wie die Bestimmungsgrenze zu ermitteln ist.

Wie schon für den linearen Fall angesprochen, wird die Varianzhomogenität mit Hilfe des F-Tests überprüft. Der vorgesehene Arbeitsbereich muss dann, wenn keine Varianzhomogenität vorliegt, entsprechend verkleinert werden. Für die Kalibration sind mindestens fünf, besser zehn Kalibrationspunkte, die gleichweit auseinander

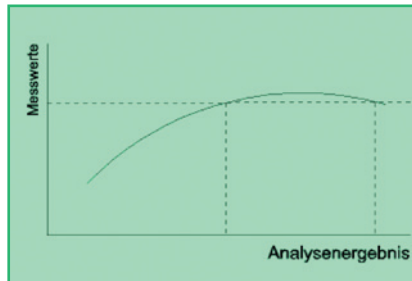


Abb. 1: Kalibrationsfunktion mit Maximum und nicht eindeutiger Zuordnung von Analyseergebnissen zu Messwerten

liegen, zu vermessen und an sie ein Polynom 2. Grades nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate anzupassen. In der Norm sind die entsprechenden Formalismen zur Berechnung aufgeführt. Weiterhin gibt sie an, wie die

- Reststandardabweichung,
- Empfindlichkeit,
- Verfahrensstandardabweichung und
- relative Verfahrensstandardabweichung zu bestimmen sind.

Bei gebogenen Funktionen ist es prinzipiell möglich, dass sie ein Minimum oder Maximum aufweisen. In einem solchen Fall ist die Kalibrations-

funktion nicht eindeutig (es gibt zwei Analyseergebnisse zu einem Messwert) und darf demzufolge nicht verwendet werden (Abb. 1).

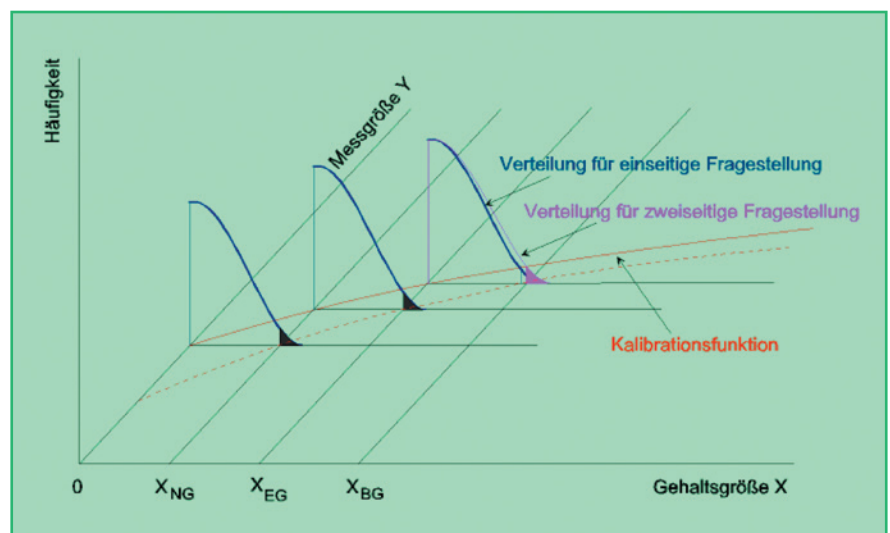
So, wie die lineare Kalibrationsfunktion ein Prognoseintervall aufweist, ist dies auch bei einem Polynom 2. Grades der Fall. Die Funktionsgleichung hat allerdings einen höheren Komplexitätsgrad, was aber bei rechnergestützter Bearbeitung belanglos ist.

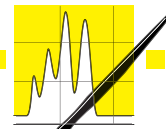
Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze

Im Gegensatz zur linearen Kalibrationsfunktion gibt es für den nicht linearen Fall keine Norm hinsichtlich der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze. Nachfolgend wird eine praktikable Vorgehensweise vorgestellt, die an die DIN 32645 angelehnt ist, aber dem Anwender weniger Wahlmöglichkeiten lässt. Die Grundidee ist in Abb. 2 dargestellt. Es handelt sich um eine Näherung, die aber nach Meinung des Autors für die Praxis ausreicht.

Die Berechnung des Prognoseinter-

Abb. 2: Vorgehensweise zur näherungsweise Berechnung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze





valls erfolgt über eine Wurzelfunktion [3]. Die Intervallbreite hängt in komplexer Weise vom aktuellen Gehalt ab. Wenn beispielsweise die Nachweisgrenze berechnet werden soll, handelt es sich um den Gehalt, bei dem die linke Seite des Prognoseintervalls bei Null endet. Eine derartige Lösung ist nur näherungsweise mit entsprechendem Aufwand möglich. Die Alternative besteht darin, an der Stelle $X=0$ die halbe Breite des Prognoseintervalls zu berechnen. Sie ist geringfügig größer, als an der Stelle der Nachweisgrenze, für den praktischen Zweck werden sie als annähernd gleich angenommen.

Die Nachweisgrenze erhält man vom Gehalt $X=0$ ausgehend, indem die halbe Breite des Prognoseintervalls (für $X=0$) hinzuaddiert wird. Der Tabellenwert der t -Verteilung gilt (wie im linearen Fall) für die einseitige Fragestellung. In gleicher Weise wird zur Berechnung der Erfassungsgrenze vorgegangen. Für den Gehalt der Nachweisgrenze ist die halbe Breite des Prognoseintervalls zu bestimmen und zur Nachweisgrenze hinzuzuaddieren. Auf diese Weise erhält man die Erfassungsgrenze, die ebenfalls auf der t -Verteilung für eine einseitige Fragestellung beruht.

Die Bestimmungsgrenze wird aus Gründen der Praktikabilität in ähnlicher Weise berechnet, wie die beiden oben angesprochenen Größen. In die Formel zur Berechnung des Prognoseintervalls geht als Gehaltsgröße die Erfassungsgrenze ein, sowie der Wert der t -Verteilung, jetzt aber für die zweiseitige Fragestellung. Er ist etwas größer als der für die einseitige Fragestellung. Insgesamt werden bei der vorgeschlagenen Vorgehensweise geringfügig höhere Nachweis-, Erfassungsgrenzen erhalten, als bei der exakteren Berechnung. Für die Bestimmungsgrenze ist nicht vorgesehen, diese über einen Faktor variabel zu gestalten, wie es die DIN 32645 zulässt.

Wenn ein Programm oder eine Auswerterroutine sowohl die Kalibrationsgrößen als auch die Nachweis-, Erfassungsgrenzen berechnet, gibt es die Werte mit einer in der Regel größeren Anzahl an Stellen aus, als es der Realität entspricht. Diese sind für den praktischen Gebrauch zu runden. Die Rundung gleicht im gegebenen Fall die Unterschiede zwischen

der vorgeschlagenen und exakten Berechnung aus.

■ Praxisbeispiel zur nicht linearen Kalibration

Im aufgeführten Beispiel wurden zehn Kalibrationspunkte eines Atomabsorptionsspektrometrischen Verfahrens vermessen und jeweils zehn Wiederholmessungen beim niedrigsten und höchsten Kalibrationspunkt durchgeführt. Der F -Test ergab Varianzhomogenität am oberen und unteren Ende des vorläufigen Arbeitsbereichs, so dass eine Kalibration nach den Normen DIN 38402 Teil 51 und DIN ISO 8466-2 prinzipiell möglich ist.

Abb. 3 zeigt die Kalibrationspunkte mit linearer Ausgleichsfunktion und dem Prognoseintervall. Dieses ist verhältnismäßig weit und man kann bereits mit dem Auge erkennen, dass der Zusammenhang zwischen Messwerten und Gehaltsgrößen nach rechts gekrümmt verläuft. Eine genaue Rechnung und der Test nach Mandel ergeben den vermuteten nicht linearen Verlauf. Dieser ist in Abb. 4 dargestellt. Im relevanten Arbeitsbereich liegt kein Maximum oder Minimum vor.

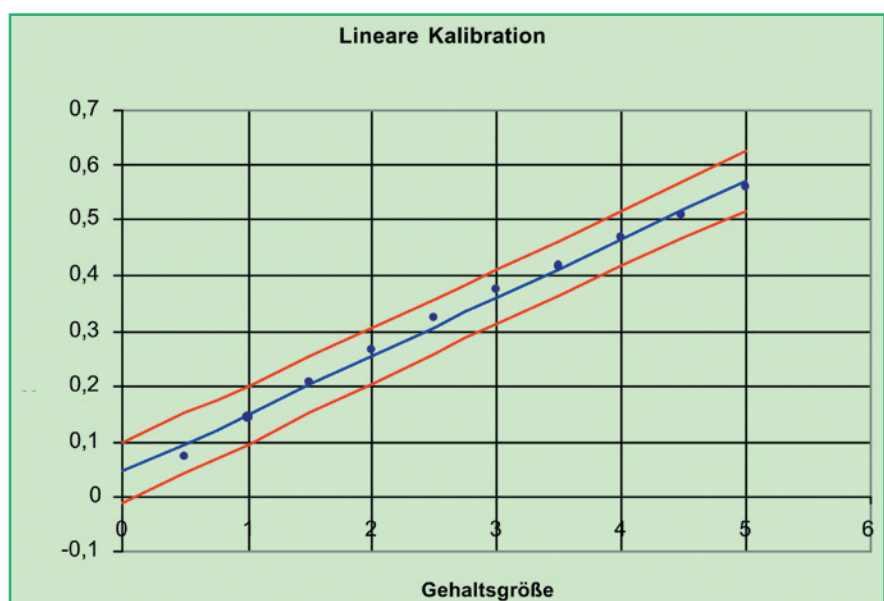
Es fällt auf, dass bei der nicht linearen Kalibrationsfunktion das Prognoseintervall deutlich enger verläuft, als bei der linearen. Der Grund hierfür ist die gute Anpassung an die Messwerte, d. h.

die geringe Abweichung zwischen Kalibrationspunkten und Ausgleichsfunktion. Man kann daher eine geringere Nachweis-, Erfassungsgrenze und Bestimmungsgrenze erwarten, als bei der linearen Funktion. Genau dies bestätigt die Rechnung. Bei der linearen Regression erhält man eine Bestimmungsgrenze von 1,4 mg/l, wohingegen der nicht lineare Fall einen Wert von 0,4 mg/l ergibt. Letzterer Wert liegt unter dem niedrigsten Kalibrationspunkt, so dass die Kalibration zulässig ist. Abgesehen von dem nicht linearen Zusammenhang wäre eine lineare Kalibration mit höheren Werten zu wiederholen, da die Bestimmungsgrenze sogar den zweitniedrigsten Kalibrationspunkt übersteigt. Die Rechengrößen der linearen und nicht linearen Kalibration einschließlich der Nachweis-, Erfassungsgrenzen und Bestimmungsgrenzen sind in Tab. 1 zusammengestellt.

Die Ausgleichsfunktion gehorcht der Gleichung:

$$\text{Extinktion} = 0,0074 + 0,1418 \cdot \text{Konzentration} - 0,0066 \cdot \text{Konzentration}^2$$

Abb. 3: Lineare Kalibrationsfunktion mit Prognoseintervall für 99 % Signifikanz



Tab. 1: Roh- und Kennwerte zum Kalibrationsbeispiel

Verfahrenskenngrößen der Kalibration bei 10 Messpunkten						
Arbeitsgruppe:	Gr 1			Kalib.-Datum:	20.02.2002	
BearbeiterIn:	Autor					
			QS:			
Analysenverfahren:	fiktiv		Einheit der Messwerte:		Ext.	
Kenngröße:	Test		Einheit der Gehaltsgröße:		mg/l	
			Urdaten			
				Mehrfachbestimmung	Mehrfachbestimmung	
				unten	oben	
Gehaltsgröße	Messwerte		Leerwerte			
0,5	0,073		0,005	0,073	0,557	
1	0,143		0,007	0,07	0,56	
1,5	0,209		0,006	0,071	0,559	
2	0,267		0,009	0,077	0,557	
2,5	0,323		0,007	0,075	0,552	
3	0,375		0,008	0,075	0,55	
3,5	0,417		0,003	0,072	0,56	
4	0,467		0,001	0,076	0,556	
4,5	0,51		0,008	0,076	0,559	
5	0,557		0,007	0,073	0,558	
Signifikanzniveau in %:	99					
			Verfahrenskenngrößen			
	Gerade			Polynom		
Ordinatenabschnitt:	0,0435	Ext.		Ordinatenabschnitt:	0,0074	Ext.
Steigung:	0,1057	Ext./(mg/l)		Steigung X:	0,1418	Ext./(mg/l)
Korrelationskoeffizient:	0,9967			Steigung X ² :	-0,0066	Ext./(mg/l) ²
Bestimmtheitsmaß:	0,9934			Reststandardabweichung:	0,0040	Ext.
Reststandardabweichung:	0,0139	Ext.		Verfahrensstandardabw.:	0,0380	mg/l
Verfahrensstandardabw.:	0,1313	mg/l		relative Verfahrensstand.:	1,3833	%
relative Verfahrensstand.:	4,7750	%		Nachweisgrenze:	0,1313	mg/l
Nachweisgrenze:	0,4612	mg/l		Erfassungsgrenze:	0,2568	mg/l
Erfassungsgrenze:	0,9224	mg/l		Bestimmungsgrenze:	0,3978	mg/l
Bestimmungsgrenze:	1,4442	mg/l				
				Leerwert-Nachweisgrenze:	0,0691	mg/l
Varianzenhomogenität:	Ja			Leerw.-Erfassungsgrenze:	0,1383	mg/l
Linearität:	Nein			Leer.-Bestimmungsgrenze:	0,2074	mg/l
				Varianzenhomogenität		
				Leerwerte:		Ja
Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wurden für obiges Signifikanzniveau ermittelt.						
Bei Unterschieden in der Leerwert- und Kalibrationsmethode hat die Leerwertmethode Vorrang, sofern die						
Leerwerte symmetrisch streuen (weit genug von Null entfernt sind).						

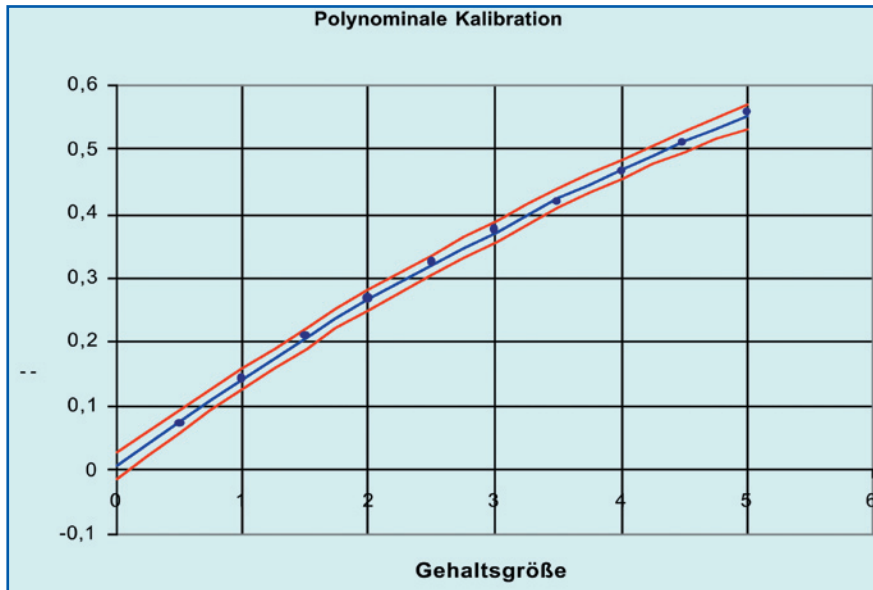


Abb. 4:
Nicht lineare Kalibrationsfunktion mit Prognoseintervall für 99 % Signifikanz

Im Gegensatz zum linearen Fall ist die Erfassungsgrenze weniger als doppelt so groß wie die Nachweisgrenze. Dies liegt an dem sich verschmälernden Prognoseintervall zu höheren Gehalten hin. Bei der Bestimmungsgrenze fällt dieser Effekt weniger stark aus, da der in die Rechnung eingehende Wert der t-Verteilung für die zweiseitige Fragestellung gilt und größer ist, als im Fall der Nachweis- und Erfassungsgrenze.

Literatur

- [1] Neitzel, V.: Die Kalibration von Analyseverfahren, Teil 1: Lineare Kalibrationsfunktionen. CLB 1 / 2002
- [2] DIN ISO 8466-2: Kalibrierung und Auswertung analytischer Verfahren und Beurteilung von Verfahrenskennwerten, September 2000
- [3] Funk, W., Dammann, V. und Donnevert, G.: Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie. Weinheim: VCH 1992

Kontakt:

Dr. Volkmar Neitzel
Ruhrverband
Kronprinzenstr. 37, 45128 Essen
Tel.: 0201/1782753
E-Mail: vne@ruhrverband.de

- WIRTSCHAFTLICH sind:**
 - Platzbedarf
 - Installationsanforderungen
 - Betriebskosten
 - Aufwand bei Inbetriebnahme und Kalibrierung
- HERVORRAGEND sind:**
 - Höchste Empfindlichkeit
 - Höchste Analysengeschwindigkeit
 - Höchste Genauigkeit
 - Niedrigste Nachweisgrenzen

Bruker AXS GmbH:
Tel. (+49) (7 21) 595-2888
Fax (+49) (7 21) 595-4587
<http://www.bruker-axs.de>
E-mail: info@bruker-axs.de



**DAS
NEUE
4kW**

**MULTIELEMENT RFA-ANALYSE :
VIELE PROBEN IN WENIGER ZEIT –**

**MIT DEM NEUEN
4kW S4 PIONEER**

**find out
what's inside**

BRUKER ADVANCED X-RAY SOLUTIONS

