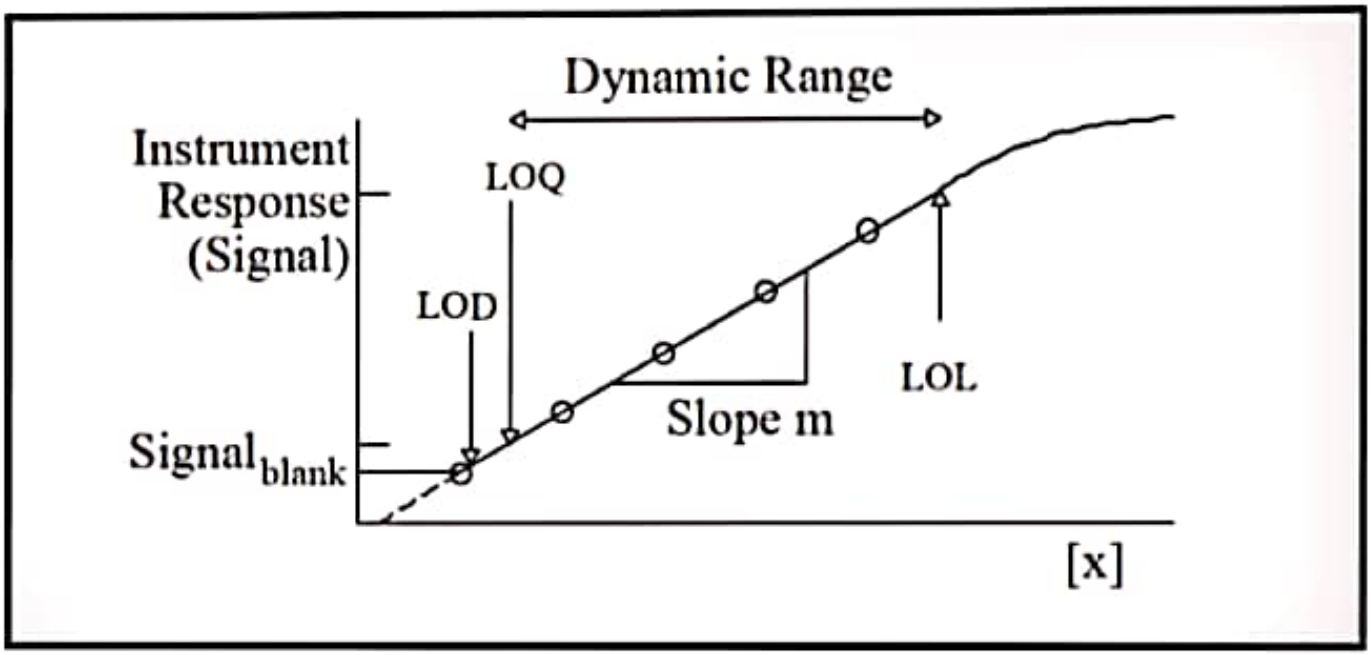
CALIBRATION METHODS

Basis of *quantitative* analysis is magnitude of *measured property* is proportional to *concentration* of analyte

$$\text{Signal} \propto [x] \quad \text{or} \quad \text{Signal} = m[x] + \text{Signal}_{\text{blank}}$$

$$[x] = \frac{\text{Signal} - \text{Signal}_{\text{blank}}}{m}$$

CALIBRATION CURVES (WORKING or ANALYTICAL)



SAMPLE PROBLEM:

Analyte Concentration (ppm*)	Absorbance
0.0 (blank)	0.05
0.9	0.15
2.0	0.24
3.1	0.33
4.1	0.42

Define Variance and Covariance:

$$S_{xx} = \frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{N-1} \qquad S_{xy} = \frac{\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{N-1}$$

$$\bar{x} = 2.02 \quad \bar{y} = 0.238$$

$$S_{xx} = \frac{\left(2.02^2 + 1.12^2 + 0.02^2 + 1.08^2 + 2.08^2\right)}{4} = \frac{10.828}{4} = 2.707$$

$$S_{xy} = \frac{(-2.02 \times -0.188) + (-1.12 \times -0.088) + (-0.02 \times 0.002) + \ldots}{4}$$

$$= \frac{0.9562}{4} = 0.23905$$

Slope: $m = \frac{S_{xy}}{Sx} = \frac{0.23905}{2.707} = 0.0883$

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

Intercept: $= 0.238 - (0.0883 \times 2.02)$

$= 0.0596$

Calibration expression is

① ⑧ calibration methods 8-

المعادلة calibration

⑧ هي عبارة عن جزأين 8-

① (concentration & analyte) ← (X)

② Absorbance أو Response ← (Y)

قراءة / استجابة الجهاز للعينة.
تبع الجهاز.

معادلة calibration هي أهم خطوة في calibration بأي method

$$Y = slope \times \mp intercept$$

$$\downarrow$$

$$y = m x \mp b \rightarrow \text{calibration معادلة}$$

Calibration equation 8-

هي المعايرة

هنا هاي أهم خطوة في المعايرة الجهاز؛

سؤال ليش احنا ندرسها وليش هي مهمة هاي درجة مهمة وندرسها

← في عنا أكثر من طريقة للمعايرة ← أول اشي

ماهي مكونات Calibration equtions 8-

تتكون مثل اي معادلة طبيعية تتكون من

① y ② x

X = concentrations ← التراكيز ← ترمز X إلى

Y = Response of instrument ← قراءة الجهاز للعينة ← ترمز Y ②

Response of instrument = slope * concentration ± intercept

$$Y = mX \pm b$$

① ← ⊛ عندي عينة ماء فيلد مطلوب مني بالسؤال اعرف تركيز الرصاص بهذه العينة

مبدأيا أنا بالعينة الرصاص معروف أو موجود فيها .

بتركيز معين أنا بدي استخدم معادلة clibration حتى اعرف تركيز الرصاص بالعينة إياه

⊛ يعني unknown sample ← معروفة qualitative ← رصاص

غير معروفة quantitative

Concentration ← هو تركيز بدي إياها ،

هيك بشكل أنا بدي اعرف تركيز الرصاص داخل الماء ومغلب حالي عشان أطول المعادلة clibration

حتى اعرف هل نسبة الرصاص في العينة ضمن تراكيز والمعايير ضمن بمواصفات المسموح فيها .

هسا حكينا عن clibration equation والهدف منها هو -

③ كيف اعمل clibration equation ؟؟ خطوات عملها .

لازم يكون knowns

x = لازم يكون عندي تراكيز معروفة

y = معلومة تكون هي استجابة الجهاز .

← طب كيف معي ⊗ وانا بدي ياها ؟؟!

⊛ هسا x يلي بتكون معي وعارفة شو هي ⊗ الخاصة بـ standard solution

أو stock solution أكونه أنا عملته ضمن شروط وظروف خاصة .

⊛ بدين أروح احط العينات (التراكيز معروفة) يلي حضرتها

أنا احطها بالجهاز و أشوف قراءة جهاز للعينات التي

تم تحضيرها .

طبعا x و y بتكون معلومة بالسؤال .

⊛ هسا صار عندي القراءات وتركيز معروفة

clibration equation ← بدوره من خلالهم ← y ≠ x من

$$Y = mX \neq b$$

← صار عندي مجهولين slope و intercapte

④

* كيفية أعرف slope من خلال

$$Slope = \frac{SD\ xy}{SD\ xx} = \frac{\text{standradeal deviation of xy}}{\text{standradeal deviation of xx}}$$

← طبعا هاد تستخدم طريقة الحل الموجودة بالبيانات تعتها طويلة والدكتور حكى يخلص واحنا لسا نحل بالسؤال.

فرح تستخدم الآلة الحاسبة.

معنا slop طلع قبل $\boxed{b \leftarrow \text{intercept}}$

أهتم

أطول $\bar{y}$ من خلال أجمع القراءات كلها وأقسم العدد

$\bar{x}$ من خلال أجمع التراكيز كلها أقسم على عددهم.

وهي slope

$$\pm b = \bar{y} - m\bar{x}$$

هيك نرجع وا شوي بسيطة

SD of concentration ((variance))

$= Sxx$

هون عنا متغير واحد هو (x) فقط.

* نوجد $\bar{x}$ ونطرحه x وجدين الرقم لي يطلع نتبيه
الطرح ← نربعه ونجمع القيم لي طلعت بعد عملية التربيع
وتقسمهم على عددهم مطروح منه واحد.

اما S_{xy} ← جاي من متغيرين لي هما $x+y$.

طلعت من المعادلة S_{xx} ومن المعادلة S_{xy}

$$\frac{\text{Covariance}}{\text{Variance}} = \frac{S_{xy}}{S_{xx}} = \text{slope}$$

Note
* إذا كانه قراءة Response صفر لا blank
أو أعدها N ← هاي بهذه الحالة ما اشملها.
لي هو الزوج المرتب (0,0)

هما عينة من unknown sample
اروح احطها في الجهاز، لا يعطي Response
استجابة لي هي y

اعوضها بالمعادلة اللي طلعت معي

Unknown Sample ← بتيجي concentration الطلع منها

إذا لدي أعرف كيف method تشتغل / هل هي مناسبة للعينة من خلال حساب

R^2 ← LOL
LOD ←
LOQ ←

method في تحليل العينة طلعت ⊗

أقل LOQ وأعلى LOL

هاي method بهاي الحالة ما لازم استخدمها.

LOQ و LOL قبل كل اشي أطول

وأقارنهم مع ⊗ ← اللي طلعته من

clibration equation

مثال: اذا طلع تركيز الرصاص في ماء النهر أقل من تركيز method اللي تم استخدامها هاي الحالة كل الاشكال / الخ

يكون غلط والجهاز لا يستخدم

Calibration Techniques

- 1. External Calibration Curve Method
- 2. Standard Additions Method
- 3. Internal Standard Method

Edit | Copy | New Comment | Share

External Calibration Curve Method

1. Most convenient when a large number of similar samples are to be analyzed.
2. Most common technique.
3. Facilitates calculation of Figures of Merit.

External Calibration Curve Procedure

1. Prepare a series of standard solutions (analyte solutions with known concentrations).

2. Plot [analyte] vs. Analytical Signal.

3. Use signal for unknown to find [analyte].

Example: Pb in Blood by GFAAS

[Pb] (ppb)	Signal (mAbs)
0.50	3.76
1.50	9.16
2.50	15.03
3.50	20.42
4.50	25.33
5.50	31.87

Results of linear regression:

$S = mC \pm b$

$m = 5.56$ mAbs/ppb

$b = 0.93$ mAbs

Calculate the LOD for Pb

20 blank measurements gives an average signal

0.92 mAbs

with a standard deviation (Sb) of

σ_{bl} **= 0.36 mAbs**

LOD = 3 Sb/m = 3 x 0.36 mAbs / 5.56 mAbs/ppb

LOD = 0.2 ppb

Find the LOL for Pb

Lower end = LOD = 0.2 ppb

(include this point on the calibration curve)

S_{LOD} **= 5.56 x 0.2 + 0.93 = 2.0 mAbs**

(0.2 ppb (X) , 2.0 mAbs (Y))

Find the LOL for Pb

Upper end = collect points beyond the linear region and estimate the 95% point.

Suppose a standard containing 18.5 ppb gives rise to s signal of (Y practical= 98.52 mAbs)

This is approximately 5% below the expected value of (Y theoretical=103.71 mAbs)

(18.50 ppb , 98.52 mAbs)

Note!!

concentration of sample should be higher than

LOL and Lower than LOQ

* slide (27 - 34)

* type of clibration. :

أنواع المعايرة سيتم استخدامها

على حسب الحالة condition

① External calibration curve method

② standard Additions method

③ Internal standard method

نبدأ بأول External هاي نستخدمها لما تكون الكميات

① عندي مادة بكميات كبيرة جدًا

② هي أكثر الطرق ثباتية / شيوعًا

③ عليها تطبيق سهلة التطبيق Figure of merit

لأنه أحضرها بشكل كبير جدًا sample للحصول عليها / لأن عينات

مثال / كمية البوتاسيوم أو الكادميوم الموجودة في المياه

اشهر .

احضر عينات ← معروفة التركيز Standraded solution

Need two parameters ←

Response of instrument

Known concentration of standraded solution

↓ وذكرنا كما شرحنا سابقًا .

* هـ method بدكّ اعرف قيمها Figure of merit

حتى أشوف هل هي method المناسبة أو لا

→ بعد ما طلعت / عرفت معادلة Calibration

مثلاً حسبنا r^2 وطلعت أقل من 0.88

هيك الحالة بيتم استثناء هذه الطريقة .

LOD بالسلايدات عم عمل

إنه blank كانه water أخيه عُليه 20 مرة في الجهاز ← طلعت استجابة للجهاز .

هاي الاستجابات الجهاز ← راح اعمل SD

واصبح LOD

$$LOD = \frac{3 * SD \text{ of blank}}{Slope}$$

واطلاعها .

كلما ← زادت التراكيز اقتراب R^2 ← 0.88 تزداد .

① في تركيز يلي عاي R^2 أقل 0.88 هذا التركيز استجبه والتركيز يلي قبلة هو LOL أعلى تركيز عكنه قياسة .

كيفه اعرفه LOL

② 2-3 حتى تصير أقل من 0.88 ← ناخذ تراكيز لعقود في المثال.

0.88 ← R^2 لما كانه التركيز عنا 18 ppm كانه فوقه

← حتى وصلنا 18.5 ppm ← اعوضها بالمعادلة يلي طلعناها

كلما y من المعادلة ← y theoretical

واحضر تركيز 18.5 ppm ← المحلول ← واضعه في الجهاز

11 راح تطلع معي قيمة اسمها Practical ← Y

على من الجهاز

هما عندي قيمتين هم Y لجهاز الكالة

إذا كانة الفرق بينهم أكثر 5% لهذه

الحالة التركيز الذي كانه قبل هذا التركيز المستخدم

هو 18.5 [ويتم الاعتماد هذا التركيز يعني هو LOL

LOL = 18 ppm.

Artery Academy

نور اليقين العدوان