



Atomová optická a hmotnostní spektrometrie v environmentální analýze

Viktor Kanický



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



4) Optimalizace ICP a vývoj analytické metody

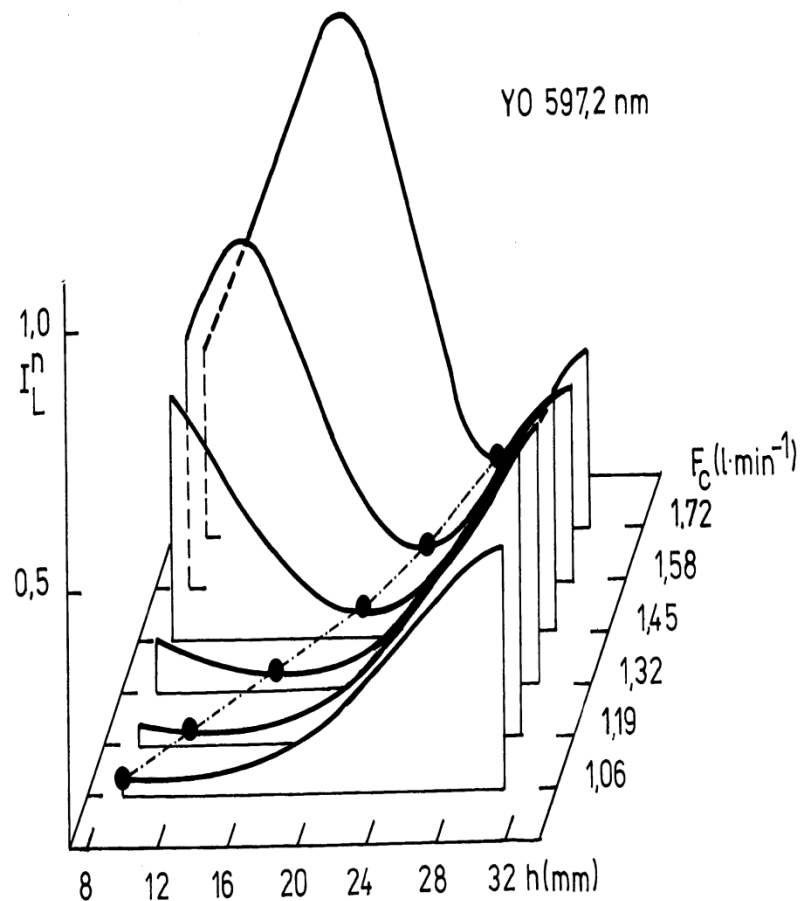
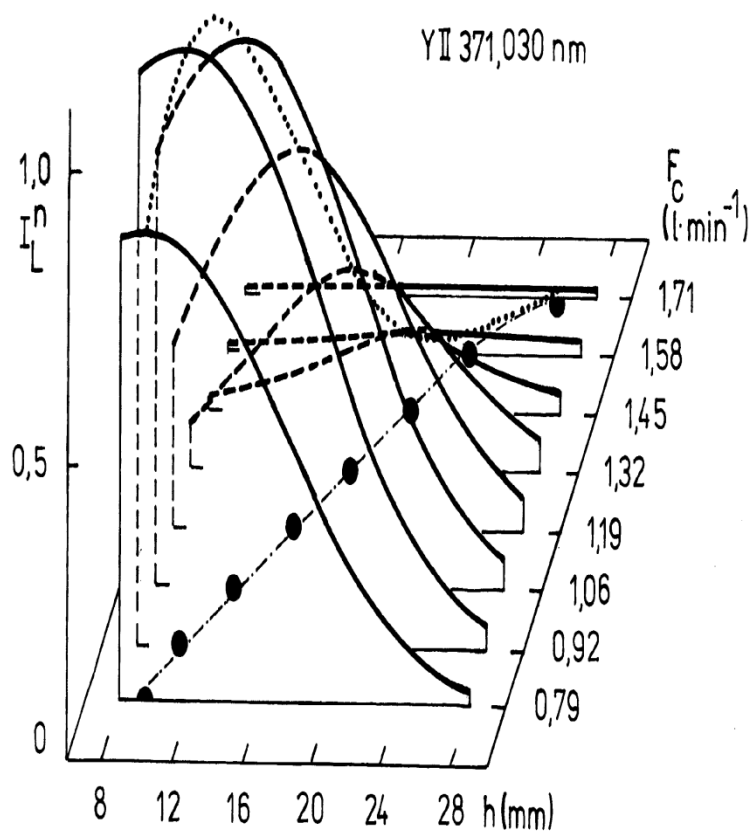
Analytické vlastnosti ICP-OES

- Stanovení 73 prvků včetně P, S, Cl, Br, I
- Simultánní a rychlé sekvenční stanovení
- Vysoká selektivita (rozlišení spektrometru)
- Nízké meze detekce (0.1-10 ng/ml)
- Lineární dynamický rozsah 5-6 řádů
- Minimální interference osnovy ($< \pm 10$ % rel.)
- Přesnost (0.5 - 2 % rel.)
- Správnost (~ 1 % rel.)
- Vnášení kapalných, plynných a pevných vzorků
- Běžné průtoky (ml/min) i mikrovzorky ($\mu\text{l}/\text{min}$)
- Rychlost stanovení 10^2 - 10^3 /hod.
- Automatizace provozu

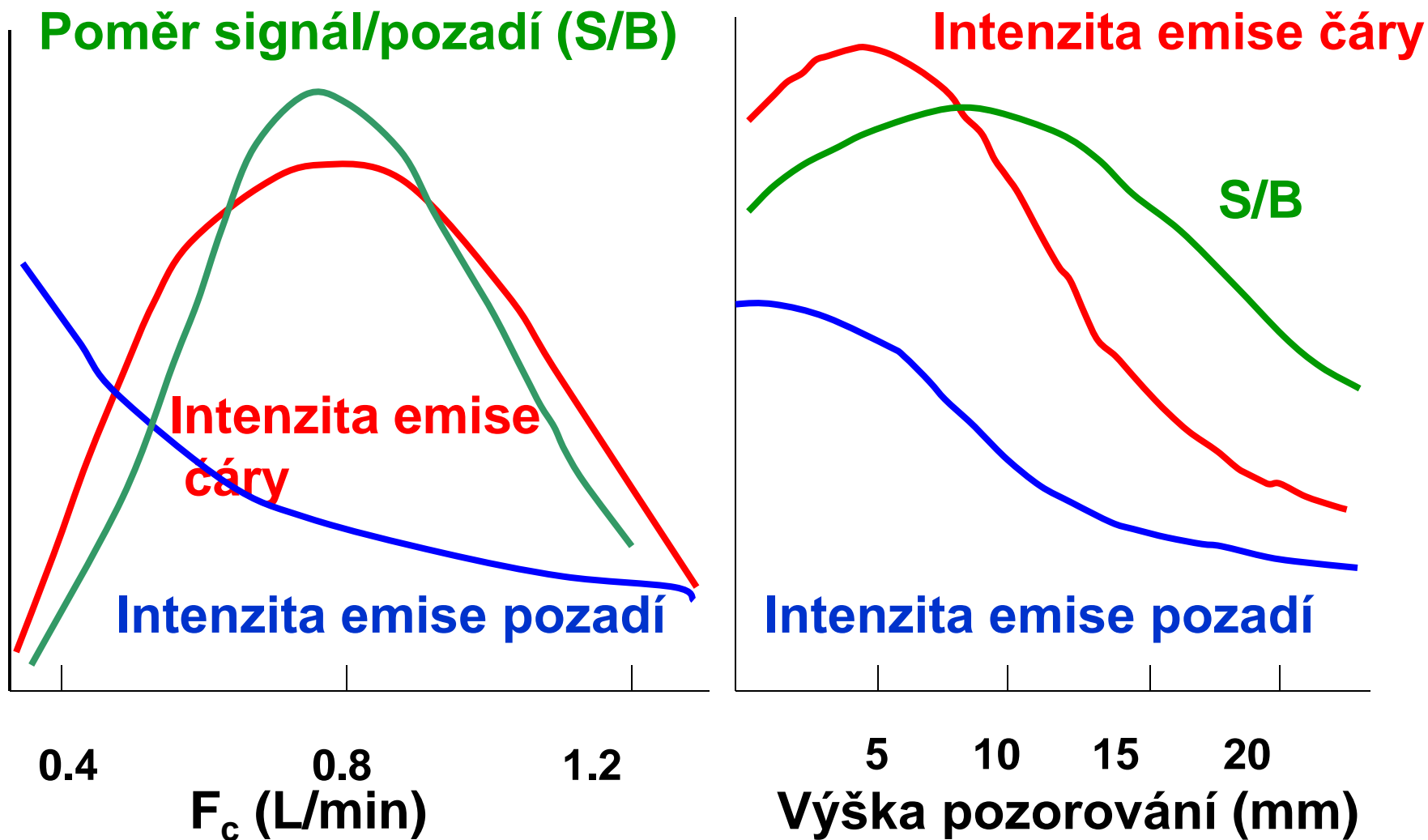
Pracovní parametry zdroje ICP

- Frekvence generátoru f
- Příkon do plazmatu P
- Průtoky plynů F :
 - vnější plazmový F_p
 - střední plazmový F_a
 - nosný aerosolu F_c
- Průtok roztoku vzorku v
- Výška pozorování h
- Integrační doba t_i

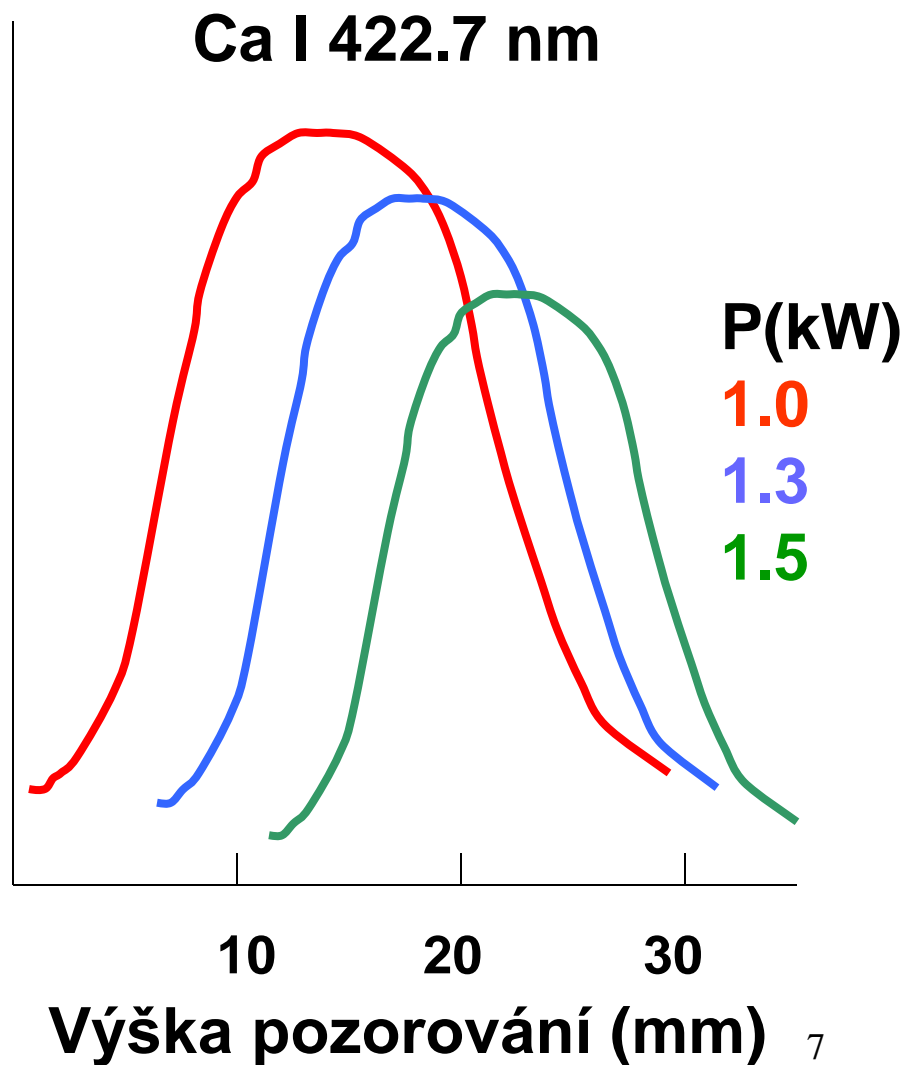
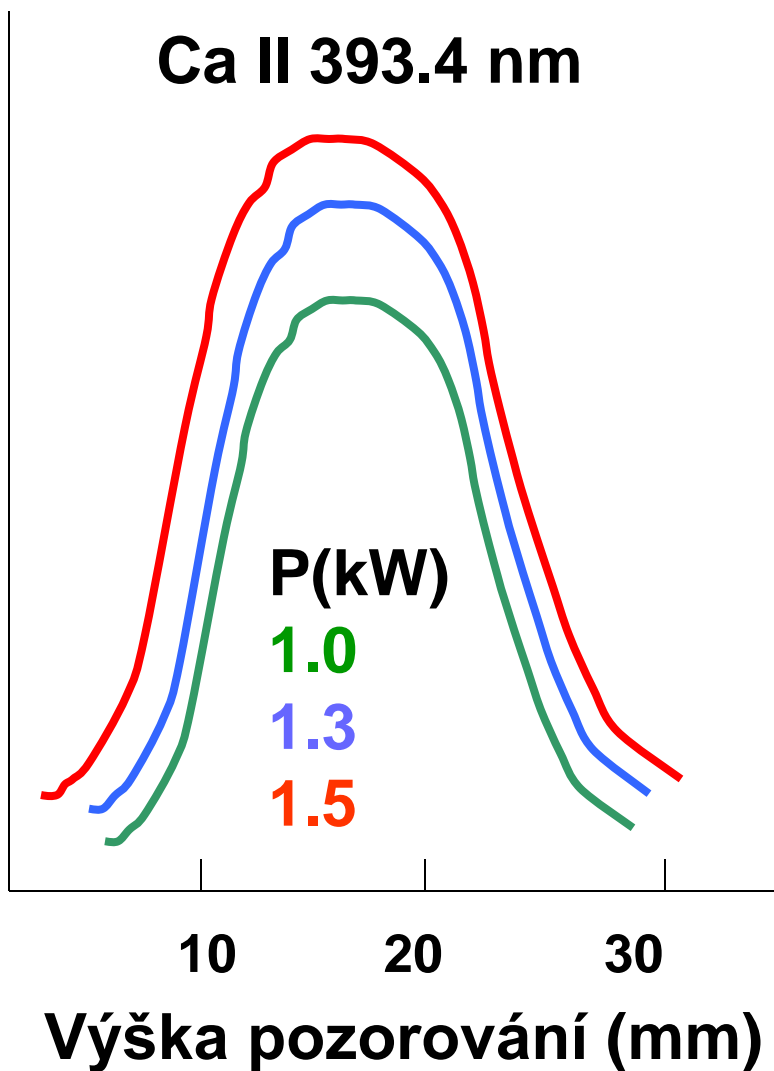
Vliv výšky pozorování a průtoku nosného plynu na emisi „tvrdé“ čáry a molekulového pásu



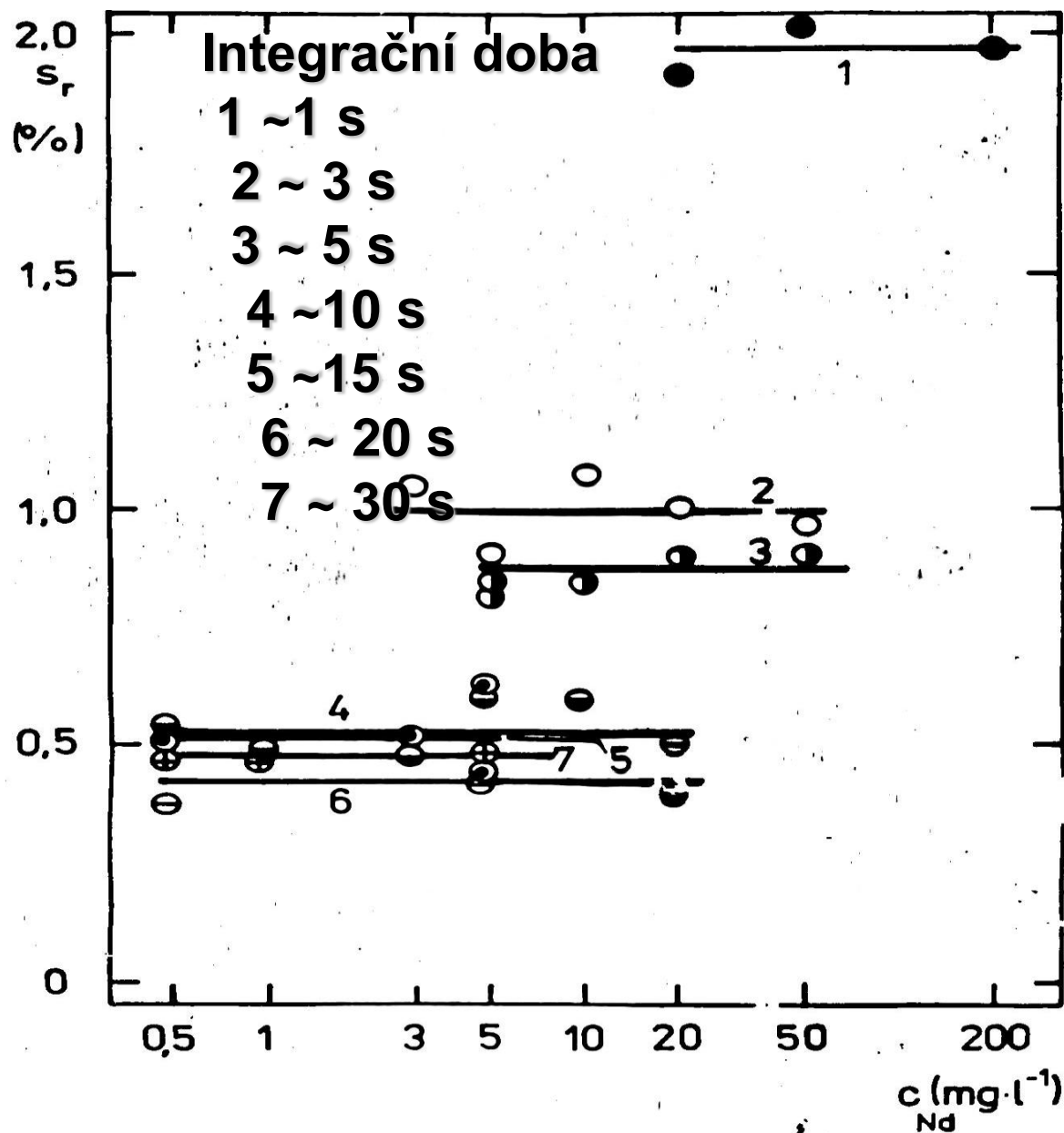
Vliv průtoku nosného plynu a výšky pozorování na emisi čáry a pozadí a jejich poměr



Vliv příkonu a výšky pozorování na emisi atomové a iontové čáry



Vliv integrační doby na RSD emise



Závislost relativní směrodatné odchylky s_r celkové intenzity emise I_{L+B} čáry Nd II 430,358 nm na koncentraci Nd pro různé délky integračních časů

Analytické parametry

Mez detekce

- Mez detekce je důležitý parametr, který umožňuje charakterizaci metody a srovnání různých analytických technik.
- Mez detekce je definována jako nejmenší možná koncentrace c_L , kterou lze s předem stanovenou pravděpodobností odlišit od náhodných fluktuací pozadí.
- Ve spektroskopii neměříme přímo koncentraci, ale signál. Vztah mezi signálem a koncentrací je určen kalibrací.
- Za předpokladu, že fluktuace pozadí mají Gaussovské rozdělení, je šum vyjádřen jako standardní odchylka rozdělení σ .

Analytické parametry

Mez detekce

Mezi detekce odpovídá nejmenší hrubý signál X_L , který lze statisticky odlišit od spektrálního pozadí

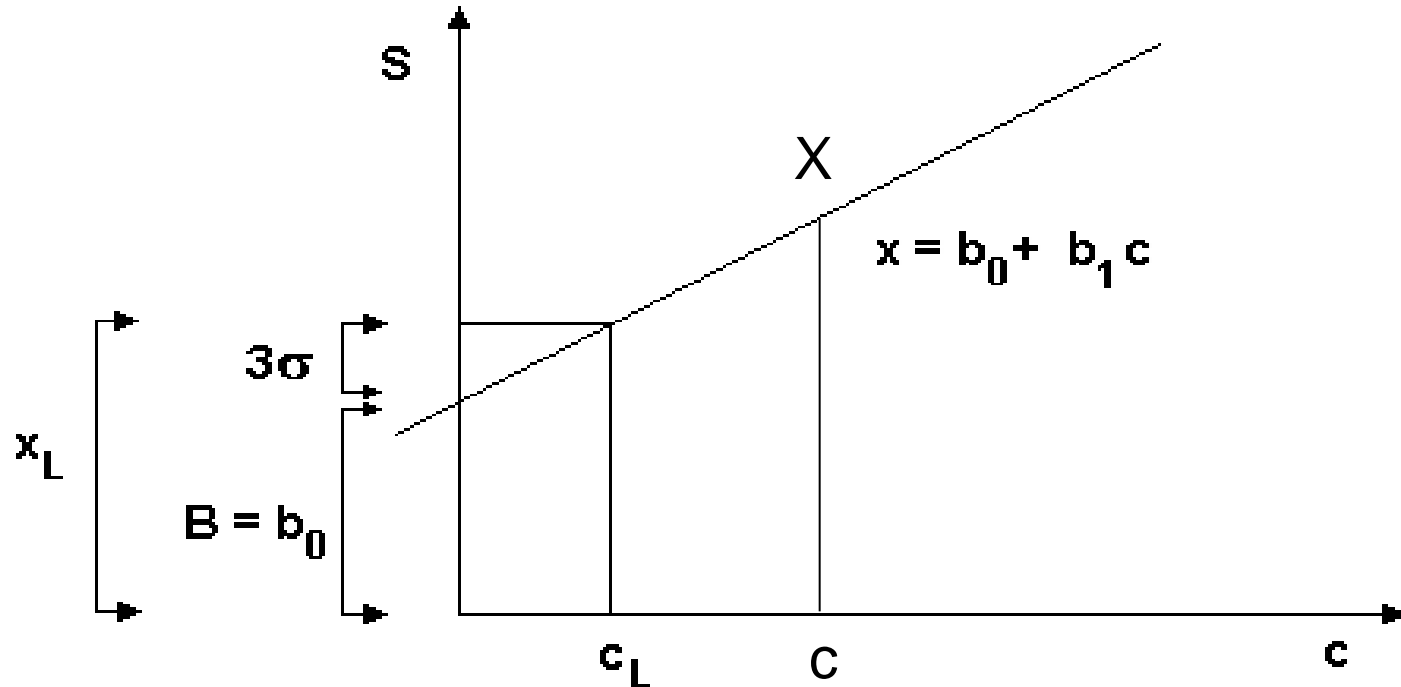
$$X_L = B + k s_B$$

kde B je průměrná hodnota měření pozadí, s_B je odhad standardní odchylky měření pozadí B a k je konstanta závislá na hladině spolehlivosti. IUPAC doporučuje $k = 3$
Čistý signál S_L odpovídající mezi detekce c_L je vyjádřen jako:

$$S_L = X_L - B = k s_B$$

Hrubý signál je lineárně vázán na koncentraci c

Analytické parametry



$$X = b_0 + b_1 \cdot c$$

$$X_L = B + k s_B = b_0 + b_1 \cdot c_L$$

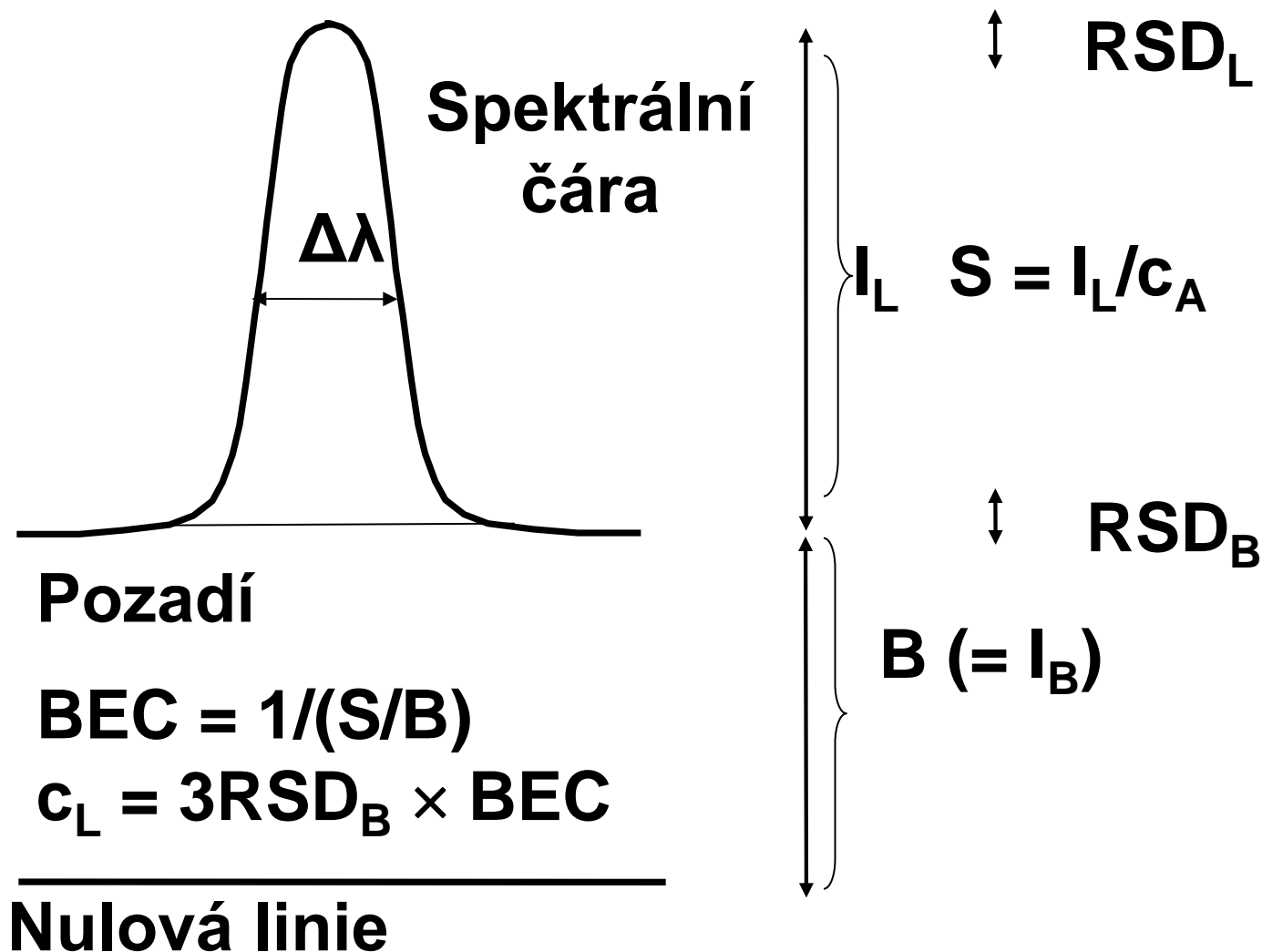
$$c_L = k \cdot s_B / b_1$$

$$b_1 = (X - B) / c = S / c$$

$$c_L = k s_B \cdot c / S$$

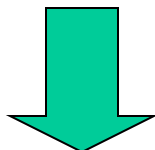
$$c_L = k \cdot c \cdot \text{RSD}_b / \text{SBR}$$

Koncentrace ekvivalentní pozadí a mez detekce



Optimalizační kritéria

- Signál **S** při jednotkové koncentraci = citlivost
- Poměr signálu k pozadí **S/B**, **SBR**
- Poměr signálu k šumu **S/N**, **SNR**
- Relativní standardní odchylka pozadí **RSD_B**

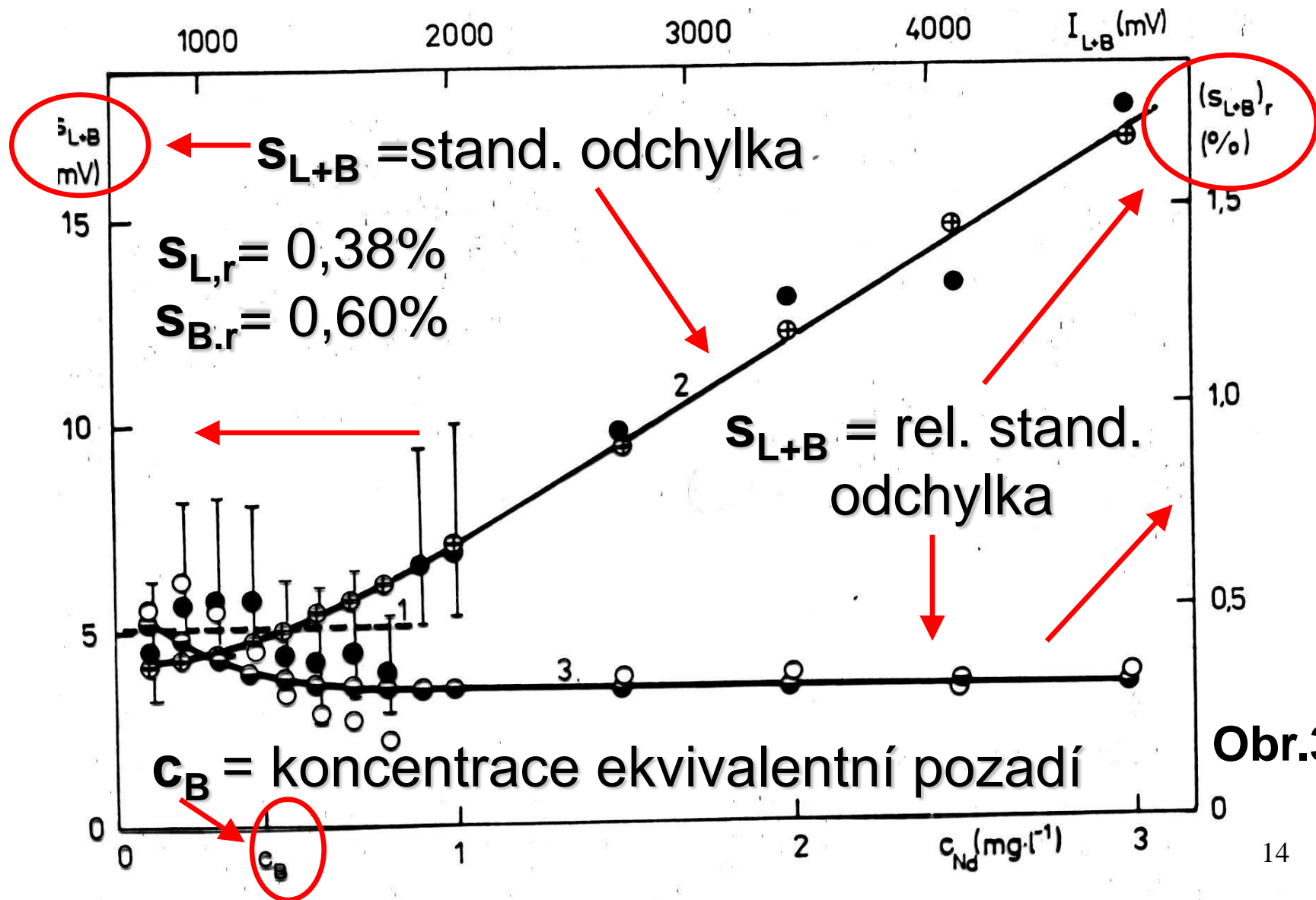


- Přesnost (opakovatelnost) **RSD_S = (S/N)⁻¹**
- Mez detekce **c_L**

$$c_L = \frac{3s_B}{S} \times \frac{B}{B} = 3 \frac{s_B}{B} \times \frac{B}{S} = 3 \times RSD_B \times \frac{1}{SBR}$$
$$RSD_B = \frac{s_B}{B} \quad \frac{B}{S} = \frac{1}{SBR}$$

The diagram shows the derivation of the detection limit c_L . The first equation is $c_L = \frac{3s_B}{S} \times \frac{B}{B} = 3 \frac{s_B}{B} \times \frac{B}{S} = 3 \times RSD_B \times \frac{1}{SBR}$. A red arrow points from the $\frac{s_B}{B}$ term in the first equation to the definition $RSD_B = \frac{s_B}{B}$. A green arrow points from the $\frac{B}{S}$ term in the first equation to the definition $\frac{B}{S} = \frac{1}{SBR}$. The terms $\frac{s_B}{B}$ and $\frac{B}{S}$ in the first equation are enclosed in red and green boxes, respectively.

Závislost standardní odchylky celkové intenzity čáry a pozadí s_{L+B} a relativní $(s_{L+B})_r$ na koncentraci analytu.



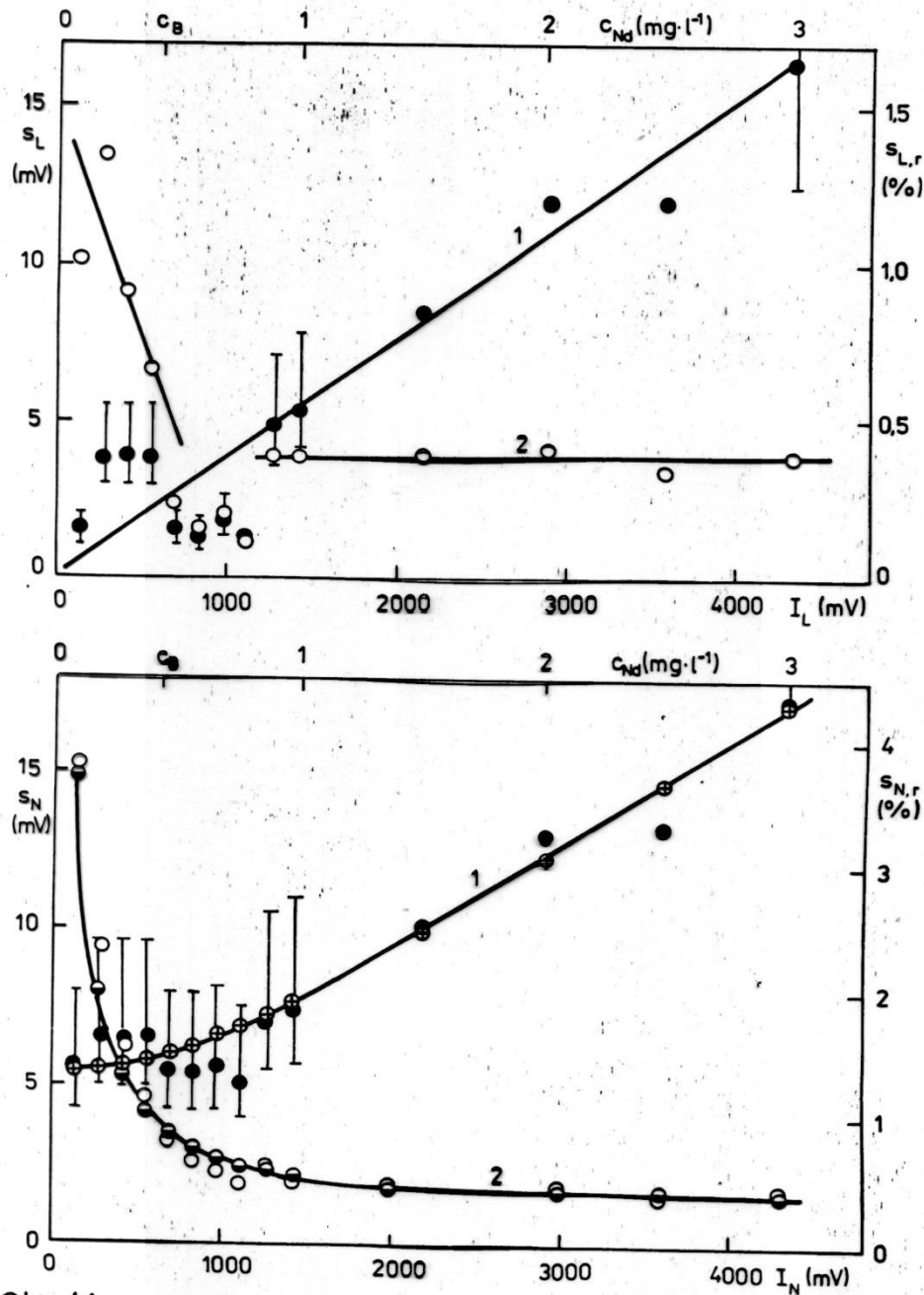
Obr.39

Závislost směrodatné s_{L+B} a relativní směrodatné odchytky $(s_{L+B})_r$ intenzity celkové emise čáry a pozadí I_{L+B} na koncentraci

Obr.39

Závislost směrodatné odchytky s_{L+B} intenzity emise I_{L+B} pozadí a čáry Nd II 430 nm (křivka č. 2) , relativní směrodatné odchytky $s_{(L+B)r}$ (křivka č. 3) na celkové intenzitě I_{L+B} . Přímka č.1 (čárkovaně): střední hodnota směrodatné odchytky s_{L+B} v intervalu 0 až 1 mg.l^{-1} Nd ; křivka č.2 : ● - experimentální hodnoty s_{L+B} , svislé úsečky vyznačují intervaly spolehlivosti směrodatných odchylek na jednotlivých koncentračních úrovních, ⊕ - vypočtené hodnoty s_{L+B} ; křivka č. 3 : ○ - experimentální hodnoty $s_{(L+B)r}$, ⊖ - vypočtené hodnoty $s_{(L+B)r}$; c_B - koncentrace ekvivalentní pozadí; $s_{B,r} = 0,0060(0,6\%)$; $s_{L,r} = 0,0038 (0,38\%)$. Pro orientaci je uvedena i osa koncentrací;

Obr.40



$$I_{L+B} = I_L + I_B$$

$$S_{L+B}^2 = S_L^2 + S_B^2$$

Závislost standardní a
relativní standardní
odchyly čisté intenzity
emise čáry I_L a
korigovaní intenzity
emise čáry I_N na
koncentraci

$$I_N = I_{L+B} - I_B$$

$$S_N^2 = S_{L+B}^2 + S_B^2 =$$

$$S_L^2 + 2S_B^2$$

Závislost standardní a relativní standardní odchylky čisté intenzity emise čáry I_L a korigovaní intenzity emise čáry I_N na

Obr.40 následující koncentraci

Závislost směrodatné odchylky s_L intenzity emise I_L čáry Nd II 430,3 nm (křivka č. 1) a relativní směrodatné odchylky $s_{L,r}$ (křivka č. 2) na intenzitě emise čáry I_L . Křivka č. 1 : ● experimentální hodnoty s_L , svislé úsečky vyznačují intervaly spolehlivosti směrodatných odchylek na jednotlivých koncentračních úrovních; křivka č. 2 ○ - experimentální hodnoty $s_{L,r}$; $s_{L,r} = 0,0038$; pro orientaci je uvedena i osa koncentrací.

UDr.41

Závislost směrodatné odchylky s_N intenzity emise I_N čáry Nd II 430,3 nm (křivka č. 1) a relativní směrodatné odchylky $s_{N,r}$ (křivka 2) na intenzitě emise I_N při korekci na pozadí. Pro orientaci je uvedena osa koncentrace. Křivka č. 1 : ● - experimentální hodnoty s_N , svislé úsečky vyznačují intervaly spolehlivosti směrodatných odchylek na jednotlivých koncentračních úrovních, ⊕ - vypočtené hodnoty s_N ; křivka č. 3 : ○ - experimentální hodnoty $s_{N,r}$, ⊖ - vypočtené hodnoty $s_{N,r}$; c_B - koncentrace ekvivalentní pozadí.

Analytické parametry

Vliv rozlišení na mez detekce

Efektivní šířka spektrální čáry ovlivňuje:



- Poměr signál/pozadí je nepřímo úměrný efektivní šířce spektrální čáry $\Delta\lambda_{\text{eff}}$, poněvadž intenzita emise čáry roste lineárně s šířkou štěrbinu, kdežto intenzita emise pozadí vzrůstá s druhou mocninou šířky štěrbinu.
- Efektivní šířka čáry $\Delta\lambda_{\text{eff}}$ zahrnuje příspěvek fyzikální šířky, $\Delta\lambda_{\text{L}}$ a instrumentální šířky čáry $\Delta\lambda_{\text{ins}}$

$$\Delta\lambda_{\text{eff}} = (\Delta\lambda_{\text{L}}^2 + \Delta\lambda_{\text{ins}}^2)^{1/2}$$

Nespektrální interference

- Přes veškeré pozitivní vlastnosti, kterými se budicí zdroj ICP odlišuje od řady dalších, v něm existují *nespektrální interference* (interference osnovy vzorku) Nespektrální interference se často vyjadřuje jako poměr

$$X = \frac{I_L^M}{I_L}$$

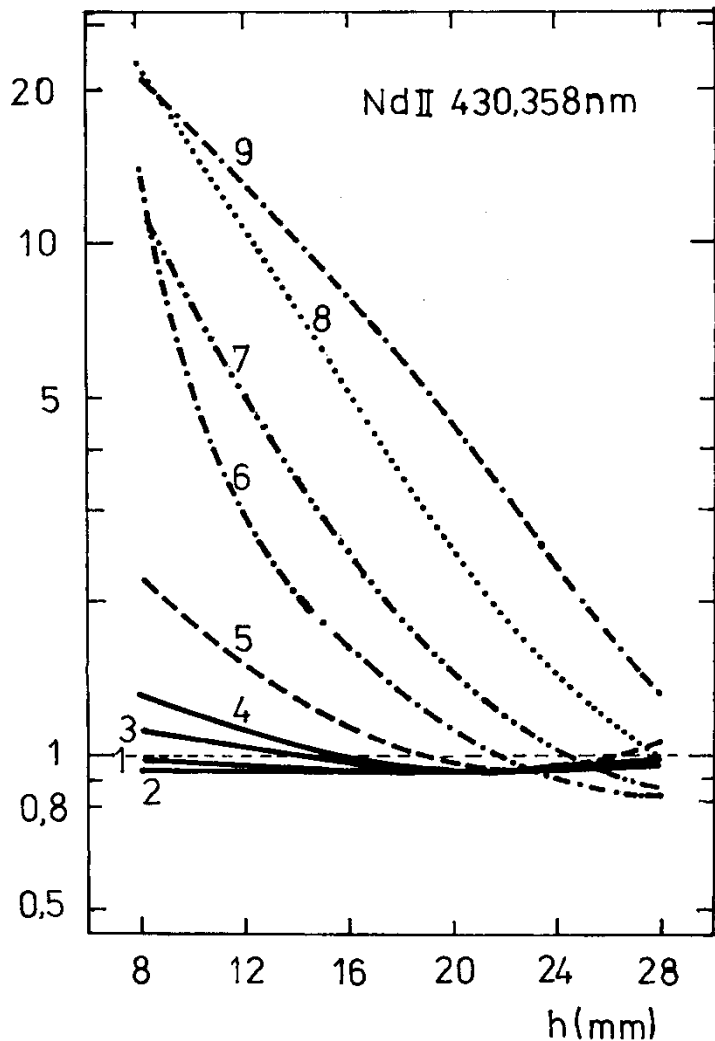
- kde I_L je čistá, tj. na pozadí korigovaná intenzita čáry analytu naměřená s čistým roztokem a I_L^M je čistá intenzita naměřená za přítomnosti interferentu o určité koncentraci. Běžné je také vyjádření rozdílu (zvýšení, snížení) v %:

$$X = \left(\frac{I_L^M}{I_L} - 1 \right) \times 100$$

Nespektrální interference

- Podle místa vzniku:
 - Zmlžovací systém,
 - Plazmová hlavice.
- Podle interferentu:
 - Snadno ionizovatelné prvky
 - Kyseliny, rozpouštědla
- Podle mechanismu:
 - Excitační
 - Ionizační
 - Zmlžovací a transportní (povrch. napětí, viskozita, hustota, elektrostatický náboj, změna rozdělení obsahu látek v závislosti na velikosti částic, frakcionace)

Nespektrální interference

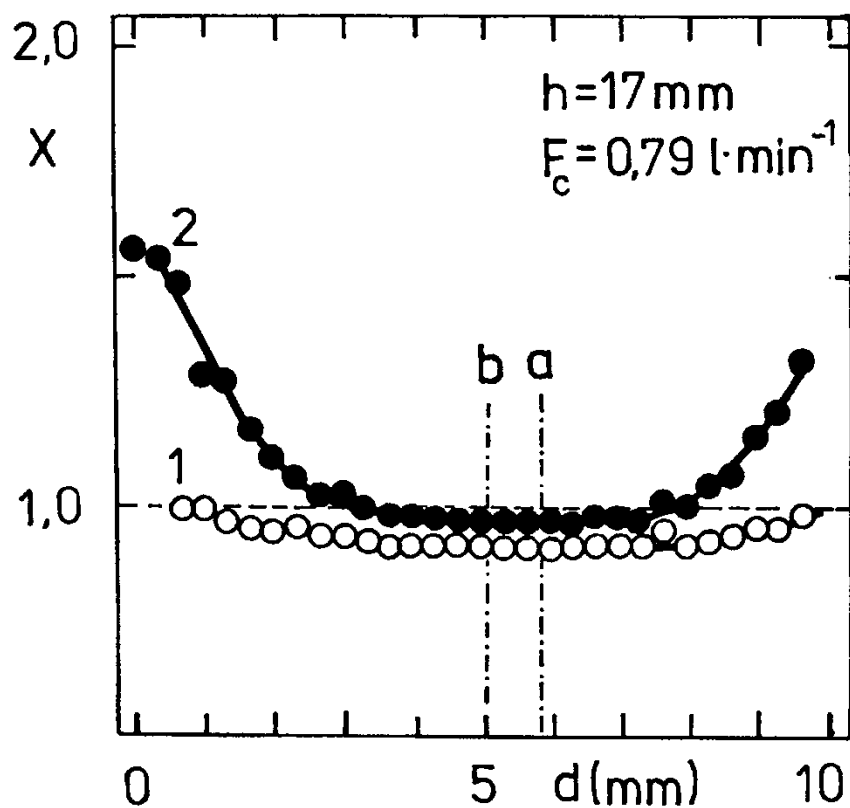


Axiální rozdělení nespektrální interference – vliv průtoku nosného plynu

Axiální rozdělení nespektrální interference (matrix efekt) X na čáře Nd II 430,358 nm v přítomnosti 0,1 mol/l NaNO_3 v závislosti na průtoku nosného plynu F_c ; křivka č. – F_c (l/min): 1 – 0,79; 2 – 0,92; 3 – 1,06; 4 – 1,19; 5 – 1,32; 6 – 1,45; 7 – 1,58; 8 – 1,72; 9 – 1,85; $P = 1,1$ kW, průtoky plynů (l/min Ar) $F_c = 1,06$; $F_a = 0,43$; $F_p = 18,3$; 16 mg/l Nd v 1,4 mol/l HNO_3

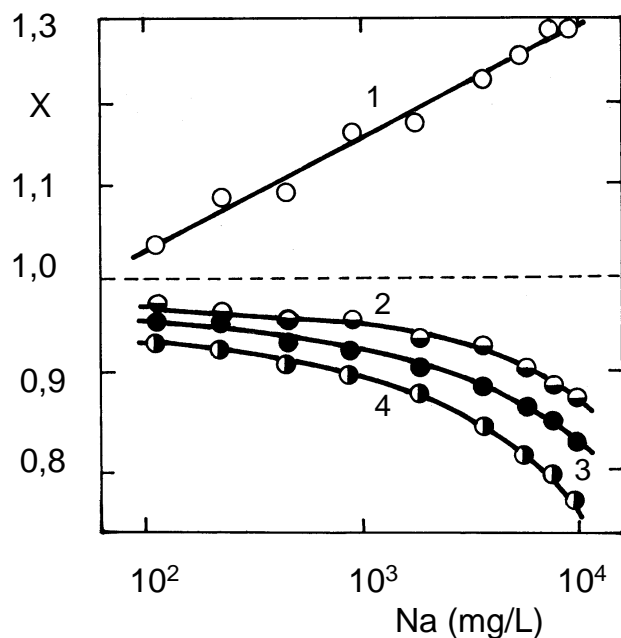
Nespektrální interference

Radiální rozdělení nespektrální interference



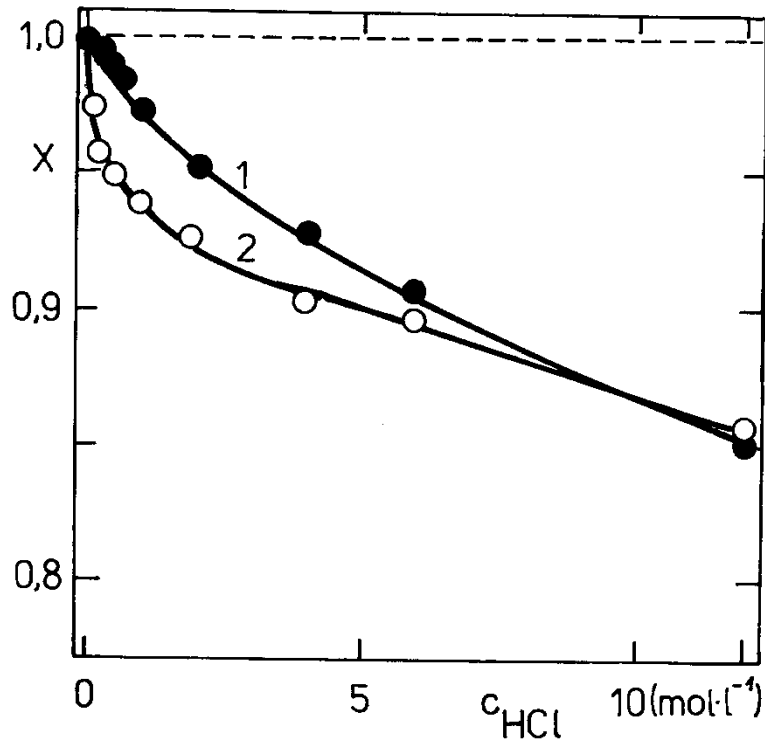
Laterální rozdělení nespektrální interference (matrix efektu) X na čarách Y II 371,030 nm (1) a Y I 410,238 nm (2); Polohy maxim laterálních rozdělení emise čar Y II – a, Y I – b (rozdělení zde nejsou uvedena); $P = 1,1 \text{ kW}$; $F_c = 1,06$; $F_a = 0,43$; $F_p = 18,3$; 0,1 mol/l NaNO_3 v 1,4 mol/l HNO_3

Nespektrální interference



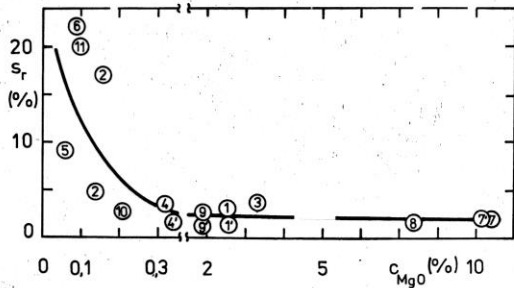
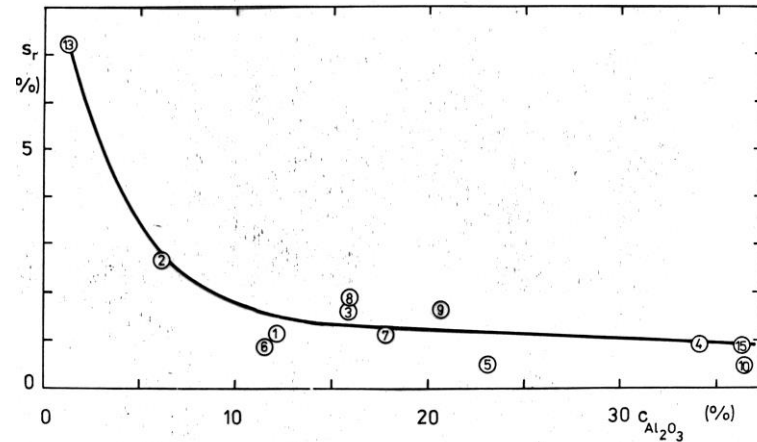
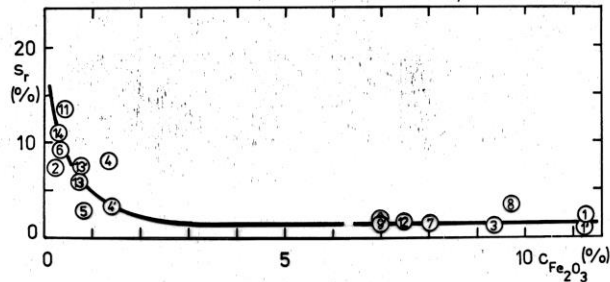
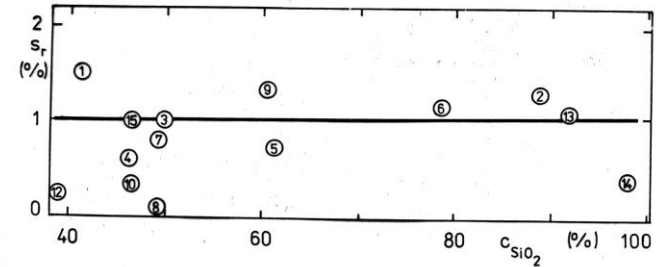
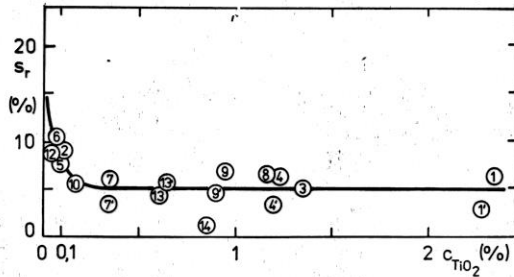
Axiální rozdělení nespektrální interference (matrix efektu) X na čáře Nd II 430,358 nm v 16 mg/l Nd v 1,4 mol/l HNO₃ závislosti na koncentraci Na (100 – 10000 mg/l Na) pro různé výšky pozorování; křivka č. – h (mm): 1 – 8; 2 – 16; 3 – 20; 4 – 24; $P = 1,1$ kW; $F_c = 1,06$; $F_a = 0,43$; $F_p = 18,3$; měřítko na obou osách je logaritmické

Nespektrální interference

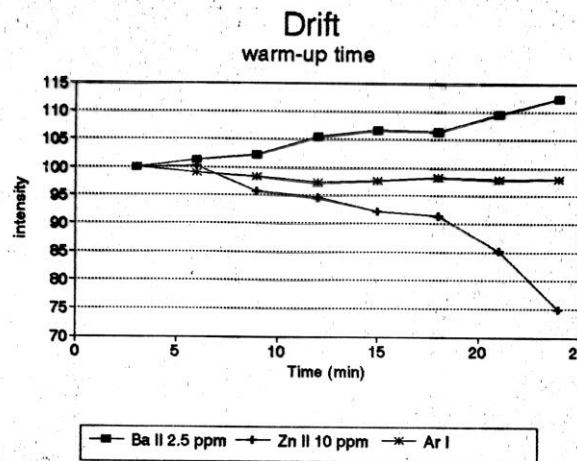
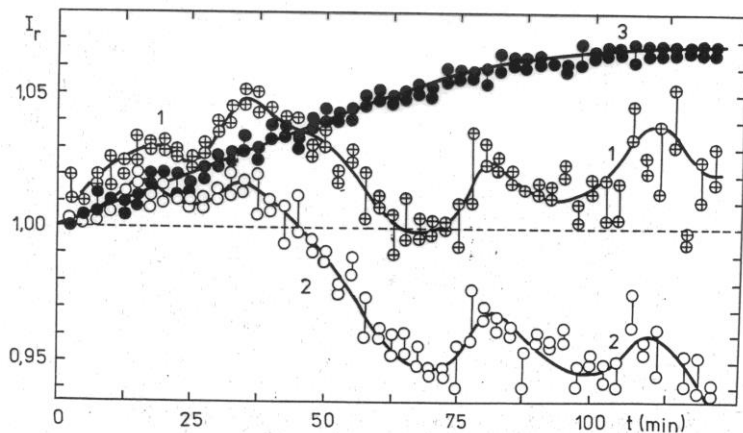
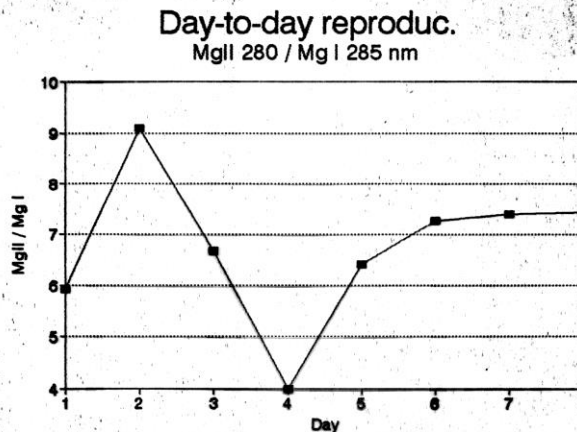
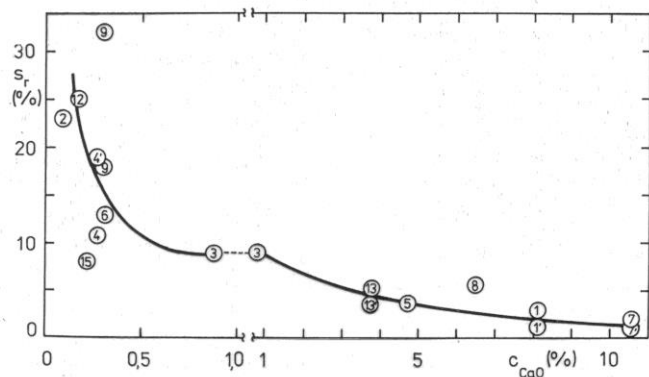


- Závislost nespektrální interference (matrix efektu) X na koncentraci kyseliny chlorovodíkové pro Nd II 430,358 nm; 16 mg/l Nd; podmínky: křivka č. 1: $h = 16$ mm, $Fc = 1,06$ l/min, křivka č. 2: $h = 20$ mm, $Fc = 1,45$ l/min; $P = 1,1$ kW; $Fa = 0,43$ a $Fp = 18,3$ l/min Ar

RSD: dlouhodobá opakovatelnost, reálné vzorky silikátů



RSD: dlouhodobá opakovatelnost, reálné vzorky silikátů, drift přístroje, diagnostika



Přesnost a správnost

- Podmínky měření
 - Maximální citlivost (směrnice kalibrační přímky)
 - Maximální poměr signál/šum
 - Minimální matriční efekt
- Vlivné parametry
 - Průtok nosného plynu
 - Příkon do plazmatu
 - Výška pozorování

Přesnost a správnost

- Hlavní složka vzorku (SiO_2 , Fe)
 - Normalizace – korekce na sumu (100 %)
 - Celkový rozptyl součtu všech výsledků
 $(\sigma_c)^2 =$ součet rozptylů jednotlivých výsledků
 - rozdíl součtu výsledků od 100 % lze brát jako statisticky významný na dané hladině významnosti jen tehdy, leží-li vně intervalu

$$100 - \frac{3\sigma_c}{\sqrt{n_A}} \leq \sum_{j=1}^m x_j \leq 100 + \frac{3\sigma_c}{\sqrt{n_A}}$$

Přesnost a správnost

- Použití porovnávacího prvku:
 - zlepšení přesnosti měření (kompenzace šumu vyšších frekvencí)
 - zlepšení správnosti měření (kompenzace driftu (nízkofrekvenčního šumu))
 - zlepšení správnosti měření kompenzací vlivu matrice (nespektrální interference)

Přesnost a správnost

- Podmínky správné funkce porovnávacího prvku
 1. signály analytu a porovnávacího prvku musí korelovat v závislosti na malé změně pracovních podmínek ICP zdroje (simulace driftu), přičemž korelační koeficient musí být blízký jedničce;
 2. poměr relativních směrodatných odchylek $b = \sigma_{P,r} / \sigma_{A,r}$ signálů I_P a I_A porovnávacího prvku a analytu musí být blízký jedničce;
 3. pokud není hodnota pozadí zanedbatelná vzhledem k signálům I_P a I_A , je nutno provést před výpočtem poměru I_A / I_P korekci pozadí;
 4. šum detekčního systému musí být zanedbatelný vůči šumu zdroje ICP. Zlepšení R_P dosažené použitím porovnávacího prvku je definováno vztahem

Přesnost a správnost

$$R_P = \frac{\sigma_{A,r}}{\sigma_{(A/P),r}}$$

kde $\sigma_{A,r}$ a $\sigma_{(A/P),r}$ jsou relativní směrodatná odchylka signálu analytu I_A a relativní směrodatná odchylka podílu $I_{(A/P)} = I_A/I_P$. Je-li splněna podmínka 1) a současně $b = \sigma_{P,r}/\sigma_{A,r} \neq 1$, lze vypočítat R_P podle vztahu

$$R_P = \left| \frac{b}{b - 1} \right|$$

Přesnost a správnost

Pro platnost podmínky 2) a $r < 1$ je zlepšení přesnosti dáno vztahem

$$R_P = \frac{1}{\sqrt{2(1-r)}}$$

Přesnost a správnost

Porovnávací prvek musí splňovat následující podmínky:

- a) přirozený obsah porovnávacího prvku ve vzorcích musí být nižší než jeho mez detekce metody ICP-AES;
- b) preparát porovnávacího prvku musí být dostatečně čistý, aby jeho přídavek nezvyšoval slepý pokus pro analyty;
- c) spektrum porovnávacího prvku nesmí obsahovat příliš mnoho spektrálních čar, aby nedocházelo ke spektrálnímu rušení čar analytů;
- d) porovnávací čára prvku musí být přiměřeně citlivá, aby koncentrace vnitřního standardu mohla být co nejnižší;
- e) porovnávací prvek musí být v roztoku stálý, tj. nesmí těkat, tvořit nerozpustné hydrolytické produkty nebo tvořit sraženiny s ionty analytů či se složkami osnovy vzorku.

Analytické spektrální čáry, korekce interferencí

Výběr analytických čar pro stanovení v konkrétní osnově vzorku se provádí

- i) s ohledem na obsah stanovované složky;
- ii) s uvážením možných spektrálních interferencí.

Spektrální interference lze klasifikovat takto:

- i) přímá koincidence spektrálních čar nerozlišitelná ve spektrálním přístroji;
- ii) překryv čar závislý na propouštěném spektrálním intervalu spektrometru;
- iii) překryv křídlem rozšířené čáry;
- iv) interference vyvolaná strukturním pozadím;
- v) rozptýlené záření.

Většina prvků má alespoň jednu citlivou analytickou čáru, která není spektrálně rušena.

Korekce spektrálních interferencí

- Korekce spektrální interference je obvykle kombinací korekce pozadí a korekce překryvu čarou. Při korekci pomocí korekčních faktorů se od nekorigované koncentrace j -tého analytu c_{xj} vypočtené z kalibrační přímky odečítá zdánlivá koncentrace analytu vyjádřená jako součin korekčního faktoru a_{ij} a koncentrace c_i i -tého rušícího prvku, stanovené na jeho analytické čáře. Pro n interferentů se vypočte korigovaná koncentrace j -tého analytu c_j podle vztahu

$$c_j = c_{xj} - \sum_{i=1}^n c_i a_{ij}$$

Vývoj metody

1. Na základě známého složení typu vzorku se zvolí vhodné spektrální čáry. Kritériem jsou požadované meze detekce, citlivost čar a případné spektrální interference.
2. Pro očekávané koncentrace a koncentrační poměry jednotlivých složek se měřením jednoprvkových roztoků interferentů ověří předpokládané spektrální interference a zvolí se body pro korekci pozadí.

Vývoj metody

3. Optimalizují se parametry ICP: příkon do plazmatu, průtok nosného plynu, rychlost čerpání roztoku do zmlžovače v případě radiálního ICP výška pozorování, v případě axiálního ICP centrování kanálu vůči optické ose. Optimalizace se provede s čistými roztoky s cílem dosáhnout obvykle maximálního poměru signál/pozadí a minimálního poměru signál/šum. Čistým roztokem se rozumí roztok obsahující analyt v prostředí pouze zředěné kyseliny (k zabránění hydrolýze) a odpovídající slepý roztok. Měření se provádí s vypnutou korekcí pozadí, aby se neztratily informace o změnách pozadí, měřeného on-peak při zmlžování slepého roztoku.

Vývoj metody

4. Za optimalizovaných podmínek se ověří vliv kyselin a tavidel používaných k rozkladu vzorku na směrnice kalibračních závislostí. Změří se velikost matriční interference (obvykle deprese signálu ve srovnání s čistými roztoky) a závislost této nespektrální interference na koncentraci tavidel a kyselin v přiměřeném rozmezí. Vyhodnotí se kompenzace matričního efektu porovnávacími prvky. Vyvodí se závěry pro přípravu kalibračních roztoků z hlediska obsahu tavidel a kyselin, zejména rozmezí obsahů těchto reagensů, při nichž není pozorována změna analytických signálů.

Vývoj metody

5. Jestliže byly zjištěny podle bodu 2 spektrální interference, které nelze korigovat měřením a odečtem pozadí, změří se hodnoty korekčních faktorů v přítomnosti tavidel a kyselin používaných k rozkladu. Korekční faktory takto zjištěné mají obvykle mírně odlišné hodnoty ve srovnání s hodnotami naměřenými s čistými roztoky. Určí se meze detekce v přítomnosti matrice.

Vývoj metody

6. Řízenou změnou parametrů ICP v definovaném malém rozmezí (průtoky, příkon, výška pozorování) se změří trendy signálů jednotlivých analytů v úplné matici (včetně tavidla a kyselin) a zjistí se, zda jsou tyto trendy kompenzovány porovnávacími prvky. Tyto trendy lze pak předpokládat v případě driftu přístroje.
7. Vyhodnotí se kompenzace skutečného driftu porovnávacím prvkem v průběhu měření modelového nebo vybraného sériového vzorku v delším časovém úseku. Zvolí se optimální porovnávací prvek. Odhadne se nutný časový interval mezi provedením kalibrací (rekalibrací).

Vývoj metody

8. Zjistí se opakovatelnost měření a shodnost s certifikovanými hodnotami referenčních materiálů případně modelových vzorků, pokud nejsou referenční materiály k dispozici.

Věrohodnost lineární regrese

Lineární regresní model -metoda nejmenších čtverců, předpoklady:

- regresní parametry mohou nabývat libovolných (smysluplných) hodnot
- regresní model je lineární v parametrech
- matice nenáhodných (nastavovaných) hodnot nezávislých (vysvětlujících) proměnných neobsahuje 2 sloupcové kolineární vektory
- náhodné chyby mají nulovou střední hodnotu
- náhodné chyby mají konstantní a konečný rozptyl (homoskedasticita)
- náhodné chyby jsou vzájemně nekorelované ($\text{cov} = 0$)
- chyby mají normální rozdělení

Lineární regrese

- ✎ Celkový součet čtverců = regresní součet čtverců + reziduální součet čtverců
 - 📄 Konstrukce intervalů spolehlivosti a testování významnosti parametrů přímky (F-test: významnost koeficientu determinace, t-test: významnost regresních parametrů)
 - 📄 Test multikolinearity mezi sloupci matice- vysoké hodnoty korelačních koeficientů mezi nezávisle proměnným
 - 📄 Test složených hypotéz
 - 📄 Test vhodnosti (správnosti) lineárního modelu, střední kvadratická chyba predikce, Akaikevo informační kritérium

Regresní diagnostika

- Regresní triplet: data, model, metoda odhadu.
- Regresní diagnostika: identifikace
 - 📄 kvality dat pro navržený model
 - 📄 kvality modelu pro daná data
 - 📄 splnění základních předpokladů MNČ (7)
- Regresní diagnostika:
 - 📄 identifikace vlivných bodů
 - 📄 identifikace multikolinearity
- Regresní diagnostika:
 - 📄 ověření předpokladů užitých k odhadu parametrů
 - 📄 statistická analýza parametrů (kritika modelu)
 - 📄 identifikace vlivných bodů (kritika dat)

Regresní diagnostika

- Exploratorní analýza dat umožňuje před vlastní regresní analýzou identifikovat:
 - 📄 nevhodnost dat (malé rozmezí, přítomnost vybočujících bodů)
 - 📄 nesprávnost navrženého modelu (skryté proměnné)
 - 📄 multikolinearitu
 - 📄 nenormalitu v případě, kdy jsou vysvětlující proměnné (nezávisle proměnné) náhodné veličiny.
- Posouzení kvality dat: výskyt vlivných bodů - 3 skupiny
 - 📄 hrubé chyby = vybočující pozorování
 - 📄 body s vysokým vlivem (golden points) - rozšiřují predikční schopnosti modelu, speciálně vybrané, přesně změřené body
 - 📄 zdánlivě vlivné body = důsledek nesprávně navrženého regresního modelu

Regresní diagnostika

- Vlivné body:
 - 📄 vybočující pozorování (outliers) - výrazná odchylka na ose y
 - 📄 extrémny (high leverage points) - liší se v hodnotách na ose x od ostatních bodů

Nástroje:

- statistická analýza reziduí
- analýza prvků projekční matice
- grafy identifikace vlivných bodů
- Posouzení kvality navrženého regresního modelu:

Nástroje:

- parciální regresní grafy
- parciální reziduální grafy
- znaménkový test vhodnosti modelu

Regresní diagnostika

- Posouzení kvality navrženého regresního modelu:

Diagnostika:

- heteroskedsticity (nekonstantnosti rozptylu)
- autokorelace (časové řady, chyby jsou vzájemně korelované)
- nenormalita chyb

Kalibrační přímka - přesnost kalibrace:

- **Kritická úroveň y_c** - horní mez $100(1-\alpha)\%$ -ního intervalu spolehlivosti predikce signálu z kalibračního modelu pro koncentraci rovnou nule = slepý pokus
- **Limita detekce y_D** - odpovídá hodnotě koncentrace, pro kterou je dolní mez $100(1-\alpha)\%$ -ního intervalu spolehlivosti predikce signálu z kalibračního modelu rovna y_c
- **Limita stanovení y_s** - je nejmenší hodnota signálu, pro kterou je relativní směrodatná odchylka predikce z kalibračního modelu dostatečně malá a rovna číslu C, např. 0,1.