

Täpsuskarakteristikute diskussioon

- Vaatleme erinevaid praktilisi näiteid/olukordi valideerimise, mõõtemääramatuse ja kvaliteedikontrolli alalt
 - Kuidas leida?
 - Mida see karakteristik reaalsuses väljendab?
 - Mis muutub, kui muutuvad eksperimendi tingimused?
 - Mida võiks konkreetses olukorras paremini teha?
- Eeldatavasti on põhimõisted enam vähem teada, vajadusel selgitame neid jooksvalt

12.11.2014

1

Töö vorm

- Seminar
 - Juhendaja seletab teemat ja küsib suunavaid küsimusi
 - Slaididel on vastuste asemel sageli küsimused**
 - Vastused leiame koos

12.11.2014

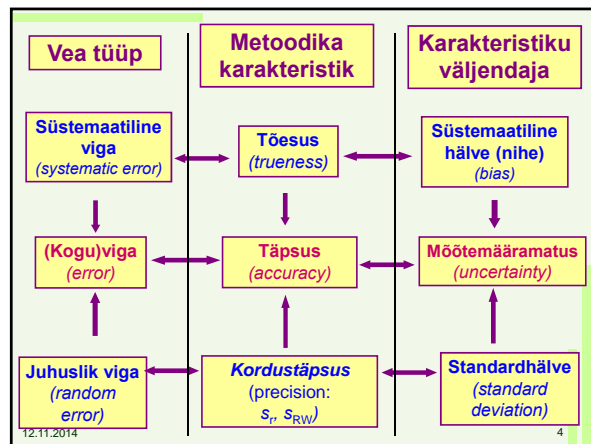
2

Metoodikat iseloomustavad karakteristikud (valideeritavad parameetrid)

- selektiivsus, spetsiifilisus, analüüdi identiteet
- avastamispiir, määramispiir, otsustuspiir, avastamisvõime
- lineaarsus, lineaarne ala
- tundlikkus
- täpsus, kordustäpsus**
- tõesus (õigsus), saagis (recovery)**
- (mõõtemääramatus)**
- kapriissus/(mittekapriissus=robustsus)

12.11.2014

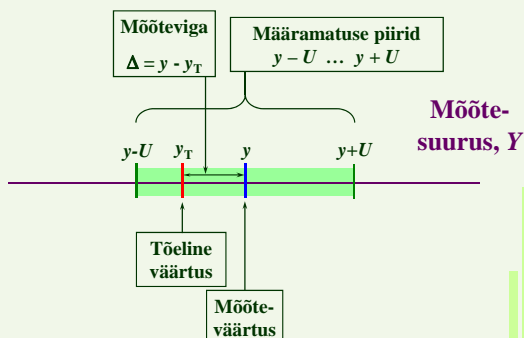
3



12.11.2014

4

Mõõteväärtus, -viga ja -määramatus



12.11.2014

5

Kordustäpsus

Kordustäpsus

- Väljendab sama prooviga tehtud korduvmõõtmiste tulemuste kokkulangevust
- Enamasti väljendatakse korduvmõõtmiste tulemuste **standardhälbe** kaudu
- Erinevad kordustäpsuse tüübid:
 - Korduvus (s_r)
 - Korratavus
 - Laborisisene (pikaajaline) korratavus (s_{RW}) (intermediate precision)
 - Laboritevaheline korratavus (s_R)
 - ...

12.11.2014

6

Kuidas määrata?

Kordustäpsus

- Näide:

Analüütik analüüsis toiduproovi. Ta peenestas proovi hoolikalt mikseris ja võttis sellest alamproovi. Selle alamprooviga viis ta läbi ekstraheerimise, sadestamise ja tsentrifugimise koosneva proovi eeltötluse. Selle tulemusena sai ta lahuse, mille ruumala ta viis 100 ml-ni. Saadud lahusest võttis ta kümme 5 ml alikvooti. Ta analüüsis neid sama päeva jooksul ja arvutas laborisisesse korratavuse saadud tulemuste standardhälvena.

Kas ta talitas õigesti?

Kas/mida peaks ta teisiti tegema?

12.11.2014

7

Kordustäpsuse määramine stabiilse proovi olemasolul

Kordustäpsus

Kordustäpsus tavalise standardhälbe kaudu
Rasvasisalduse määramine

Kuupäev	Proov	Tulemus (g/100g)		
10.02.2008	27	20.5		
13.02.2008	27	20.8		
16.02.2008	27	20.4		
21.02.2008	27	23.6		
22.02.2008	27	23.9		
26.02.2008	27	20.4		
28.02.2008	27	23.7		
1.03.2008	27	23.9		
3.03.2008	27	22.1		
6.03.2008	27	25.8		
7.03.2008	27	22.1		
9.03.2008	27	23.2		
10.03.2008	27	25.2		
13.03.2008	27	24.6		
			Keskmine:	22.9 g/100g
			Standardhälve:	1.8 g/100g

12.11.2014

8

Kogutud standardhälve

Kordustäpsus

- Kogutud standardhälve:

$$s_{\text{kogutud}} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2 + \dots + (n_k - 1)s_k^2}{n_1 + n_2 + \dots + n_k - k}}$$

- Tähistused:
 - k on gruppide arv
 - s₁, s₂ jne on vastavate gruppide standardhälbed
 - n₁, n₂ jne on vastavate gruppide paralleelmõõtmiste arvud

12.11.2014

9

Kordustäpsuse määramine, kui proov pole pikaajaliselt stabiilne

Kordustäpsus

Kordustäpsus kogutud standardhälbe kaudu No 2
Valgusisalduse määramine

Kuupäev	Proov	Tulemus (g/100g)	Proov	n-1	s	s ²
10.02.2008	1	10.2	1	1	0.707107	0.5
10.02.2008	2	13.4	2	1	0.535413	0.286667
10.02.2008	3	17.6	3	2	0.351188	0.123333
13.02.2008	1	11.2	4	2	0.305505	0.093333
13.02.2008	2	14.2	5	1	0.636396	0.405
13.02.2008	3	16.9				
18.02.2008	2	12.9				
18.02.2008	3	17.3				
18.02.2008	4	12.1				
25.02.2008	2	13.5				
25.02.2008	4	12.7				
25.02.2008	5	19.2				
4.03.2008	4	12.3				
4.03.2008	5	18.3				
					Kogutud std hälve:	0.494 g/100g

12.11.2014

10

Süsteemaatiline nihe (tõesus)

Tõesus

- Tõesus kajastab...
 - Erinevust **mõõdetud väärtuse** ja **tõelise väärtuse** vahel
 - Erinevust **mõõdetud väärtuse** ja **referentsväärtuse** vahel
 - Erinevust **suure arvu mõõtmiste keskmise** ja **tõelise väärtuse** vahel
 - Erinevust **suure arvu mõõtmiste keskmise** ja **referentsväärtuse** vahel

12.11.2014

11

Tõesuse väljendamine

Tõesus

- Saadud väärtuse ja referentsväärtuse **vahena (nihkena) (bias)**
 - Võib olla väljendatud absoluutse või suhtelise vahena
- **Saagise (recovery) R** kujul
- Võrdlus keskmise tulemus ja referentsväärtuse vahel vormistatuna mõneks matemaatiliseks kriteeriumiks, nt **E_n arv**

Mida meil tõesuse määramise jaoks vaja on?

Millest see sõltub, kuidas me tõesust väljendame?

12.11.2014

12

Kuidas tõesust/nihet väljendada?

Tõesus
Saagis

Väljendusviis	Valem	Millal kasutada?
Absoluutne hälve	$bias = C_{lab_mean} - C_{ref}$	
Suhteline hälve	$bias = \frac{C_{lab_mean} - C_{ref}}{C_{ref}}$	
Saagis	$R = \frac{C_{mean_uncorrected}}{C_{Ref}}$	
Saagis	$R = \frac{C_1 - C_0}{\Delta C}$	

12.11.2014

13

Millistel juhtudel on analüüsi tulemused süstemaatiliselt nihkes?

Tõesus

- Kõik sama päeva tulemused on süstemaatiliselt kallutatud kui sellel päeval tehtud kalibreerimisgraafik on kallutatud
- Analüüt on proovimatriksis ebapüsiv ja osaliselt laguneb analüüsi käigus
- Nii kalibreerimislahused kui uuritavad proovid mõõdeti spektrofotomeetriga, mille neelduvuse väärtused on süstemaatiliselt 5% tegelikest madalamad
- Samal päeval määratud titrandi kontsentratsioon on veidi „tõelisest“ erinev
- Elementide määramisel on teatava proovitüübi mineraliseerumine ebataäielik ja see viib alandatud tulemustele

12.11.2014

14

Kas süstemaatiline nihe sõltub ajaraamistikust?

Tõesus

- Jah, ühe päeva siseselt määratud süstemaatiline nihe on erinev sellest, mis saadakse, kui määramised tehakse pikema aja jooksul (ja keskmistatakse)
- Ei

12.11.2014

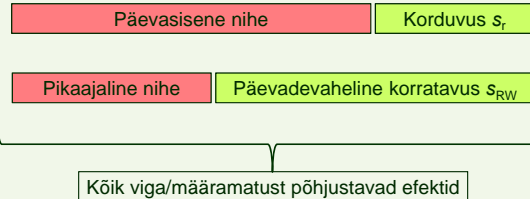
15

Süstemaatilised ja juhuslikud efektid

Tõesus

Kordustäpsus

- Juhuslikud ja süstemaatilised efektid võivad olla erinevalt grupeeritud:



Mida pikem ajaperiood, seda rohkem on efekte, mille „staatus“ muutub: süstemaatiline → juhuslik

Näide: Bioaktiivse aine määramine vereplasmas LC-MS meetodil

Tõesus

Kordustäpsus

Efekt	Süstemaatiline päeva sees	Süstemaatiline pika aja jooksul
Ühe päeva kalibreerimisgraafik		
Autosampleri süsti ruumala on 5% nominaalsest kõrgem		
Ebapüsiv analüüt laguneb osaliselt toatemperatuuril enne autosamplerisse panemist		
Piikide pindalade korduvus		
Ionisatsiooni mahasurumine ESI allikas kaasaalueruva aine poolt		
Baasjoone müra		

12.11.2014

17

Miks on pikaajaline nihe informatiivsem kui päevasisene?

Tõesus

Kordustäpsus

- Päevasisene nihe võib olla iga päev erinev
 - Tuleks määrata iga päev
- Kasulik on töötada nii, et suurem jagu efekte on juhuslikud
 - s_{RW} on usaldusväärsemalt määratav kui nihe
 - Mõõtemääramatuse hindamisel on hea, kui suurema jao määramatuse allikaid katab s_{RW}

Siit edasi vaatleme ainult pikaajalist nihet (labori/meetodi nihet)

Töetus
Kordustäpsus

Olulised aspektid süsteemaatilise nihke ja s_{RW} määramisel?

Aspekt	Bias	s_{RW}
Piisavalt palju kordusmõõtmisi		
Piisavalt pikk ajaperiood		
Usaldusväärne referentsväärtus		
Maatriksi kokkulangevus tavaliselt analüüsitava maatriksiga		
Kontsentratsioonivahemiku kokkulangevus		
Homogeenne testproov		
„Üks segab teist“		

12.11.2014 19

Töetus

Kuidas määrata süsteemaatilist nihet?

Läheneemisviis	Kui hea see on?
Tühimaatriksi või tavalise proovi rikastamine	
Kordusmõõtmised tavalise prooviga	
Kasutada Ringtesti proovi ja referentsväärtusena ringtesti konsensusväärtust	
Sertifitseeritud referentsmaterjali analüüs	
Tavalise proovi analüüsimine referentsmeetodiga	

12.11.2014 20

Töetus
Saagis

Saagis rikastamiskatsetest (spaikimiskatsetest)

$$R = \frac{C_1 - C_0}{\Delta C}$$

Mida need suurused võrrandis tähistavad?

Kas võrrand lihtsustub, kui on võimalik saada tühiproov?

12.11.2014 21

Töetus
Saagis

Rikastamiskatsete läbiviimine

- Kaks analüütikut määrasid meropenemi (antibiootikum) vereplasmas. Mõlemal oli vaja hinnata meetodika saagist. Nad toimisid plasma tühiproovidega järgmiselt:
- 1. Analüütik võttis 500 µl plasma tühiproovi ja lisas sellele 400 µl metanooli. Sadestunud valgud eraldas ta tsentrifuugimise abil. Saadud supernatandi viis ta üle HPLC viaali, lisas sellele 100 µl meropenemi sobiva kontsentratsiooniga standardlahust, segas ning sisestas saadud lahuse HPLC seadmesse analüüsiks.
- 2. Analüütik võttis 500 µl plasma tühiproovi, lisas sellele 100 µl meropenemi sobiva kontsentratsiooniga standardlahust, segas ja lisas seejärel 500 µl metanooli. Sadestunud valgud eraldas ta tsentrifuugimise abil. Saadud supernatandi viis ta üle HPLC viaali ning sisestas saadud lahuse HPLC seadmesse analüüsiks.

Kumb neist toimis õigemini? Miks?

12.11.2014 22