

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

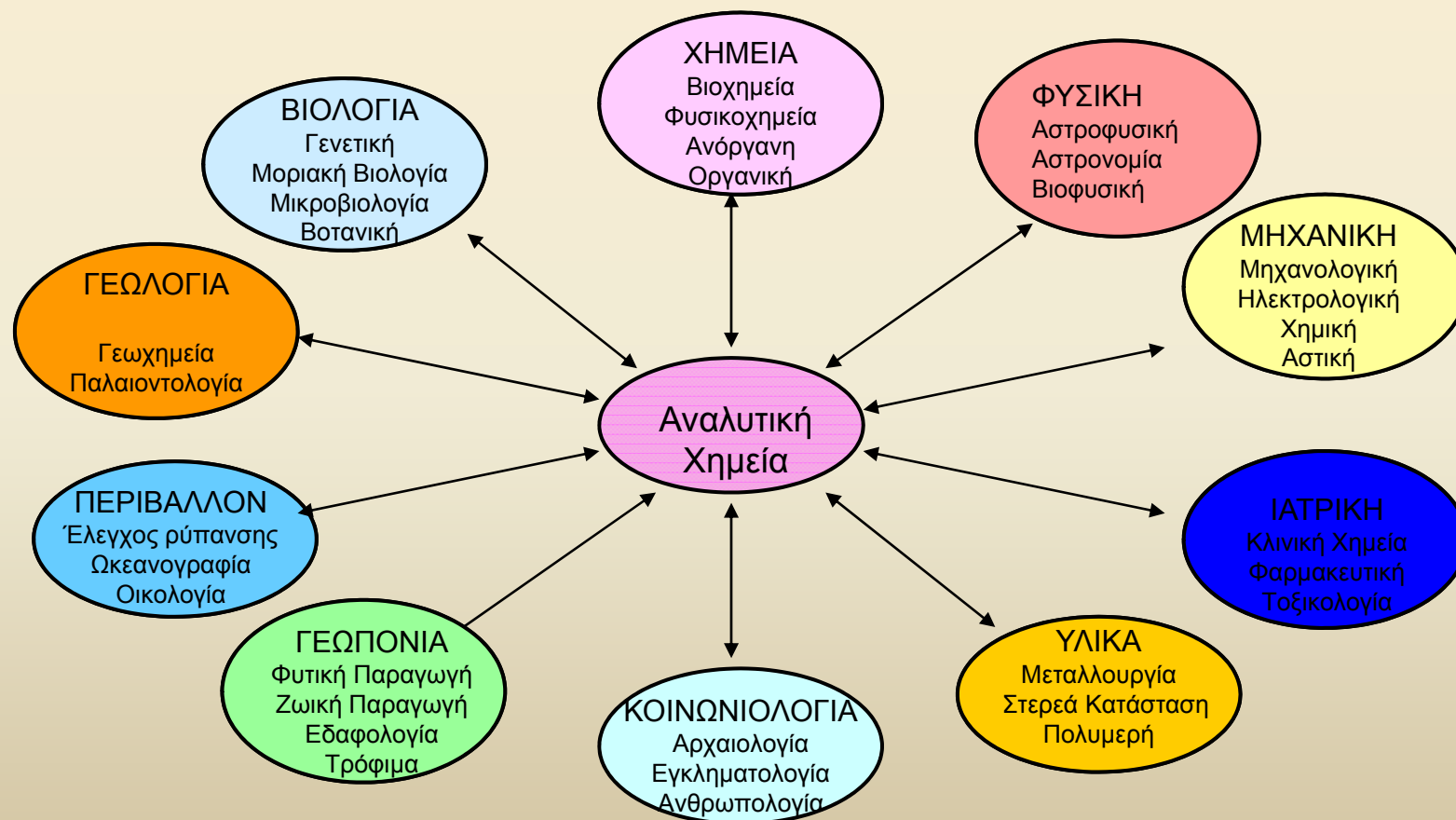
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΧΗΜΕΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ

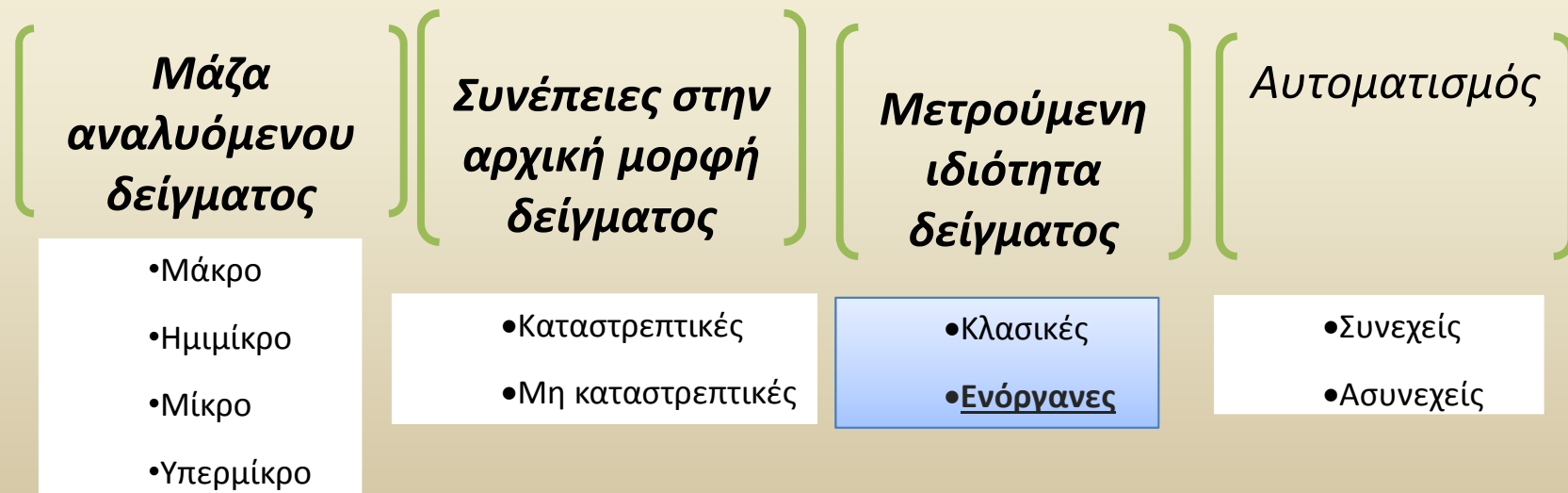
Εισαγωγή

Αναλυτική Χημεία Αναπτύσσει και εφαρμόζει μεθόδους όργανα και στρατηγικές για να δώσει πληροφορίες σχετικά με τη σύσταση, την φύση και την ποσότητα υλικών στο χώρο.



Ταξινόμηση αναλυτικών μεθόδων

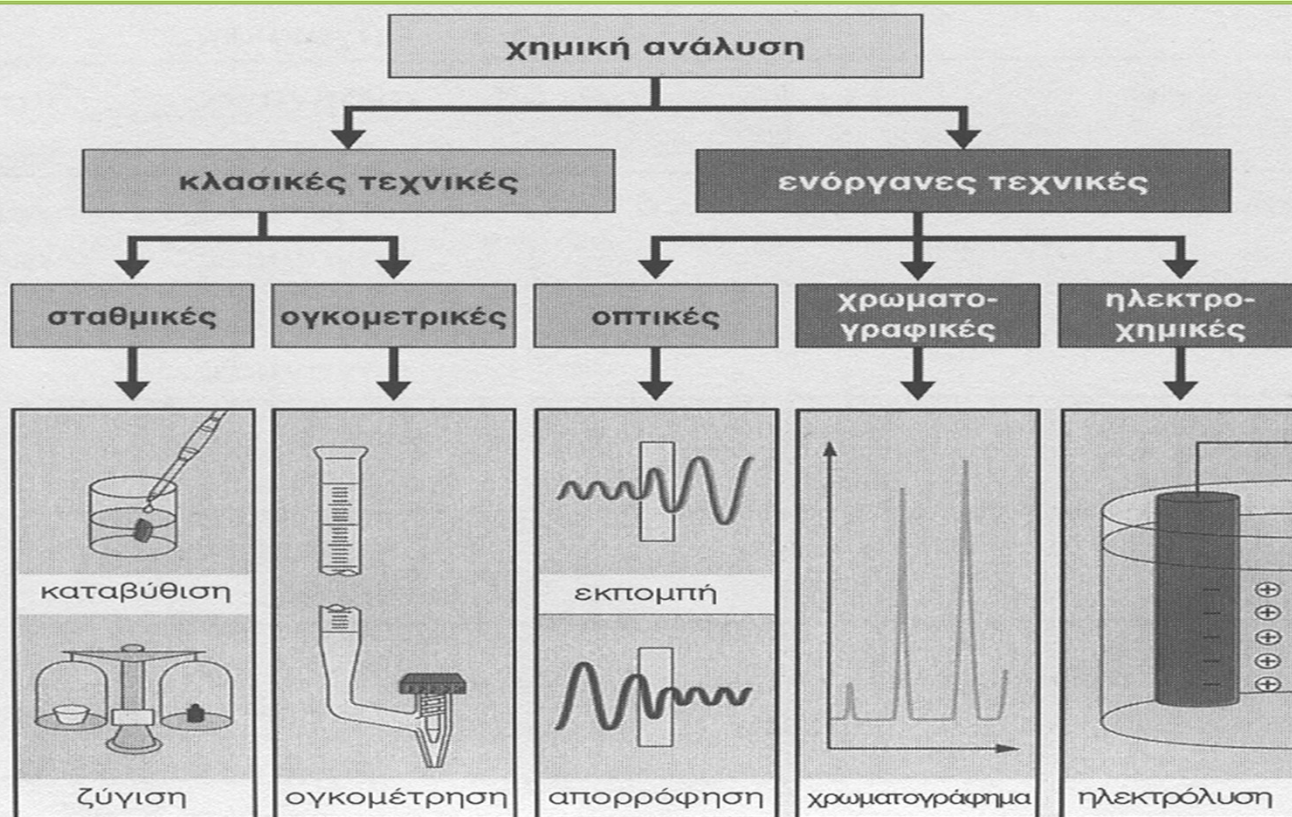
ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ



Ταξινόμηση αναλυτικών μεθόδων

-Με Βάση τη Μετρούμενη Ιδιότητα του Δείγματος

- Μέτρηση μιας ιδιότητας του δείγματος που σχετίζεται με τη φύση, μάζα, ή τη συγκέντρωση της ουσίας.



Σχηματική παρουσίαση ταξινόμησης αναλυτικών τεχνικών με βάση τη μετρούμενη ιδιότητα του δείγματος.

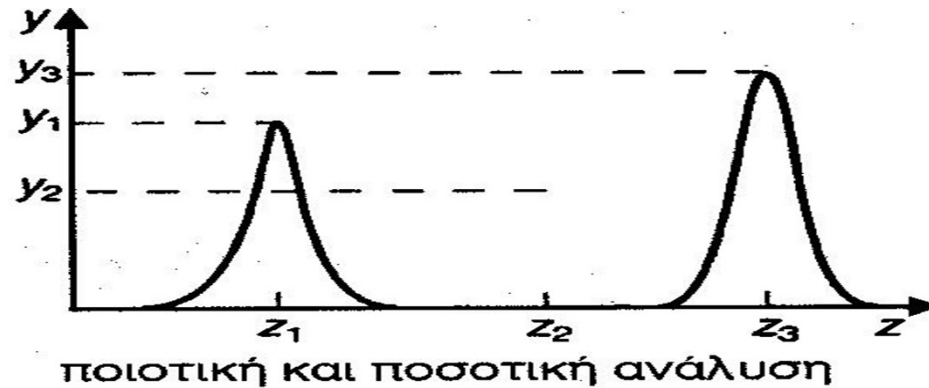
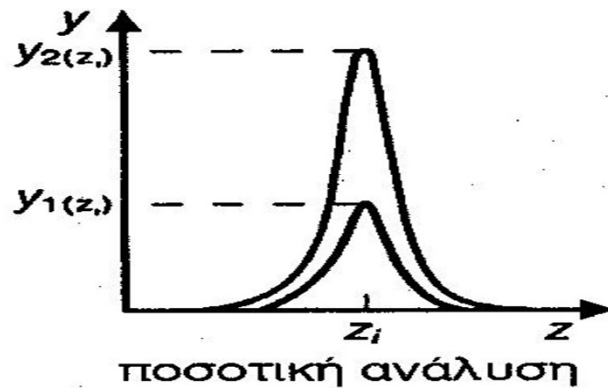
Ταξινόμηση αναλυτικών μεθόδων

- Με βάση τις εφαρμογές ανάλυσης

A. Ανάλυση περιεκτικότητας

- Ποιοτική Ανάλυση: Ταυτοποίηση των συστατικών (στοιχείων ή ενώσεων)

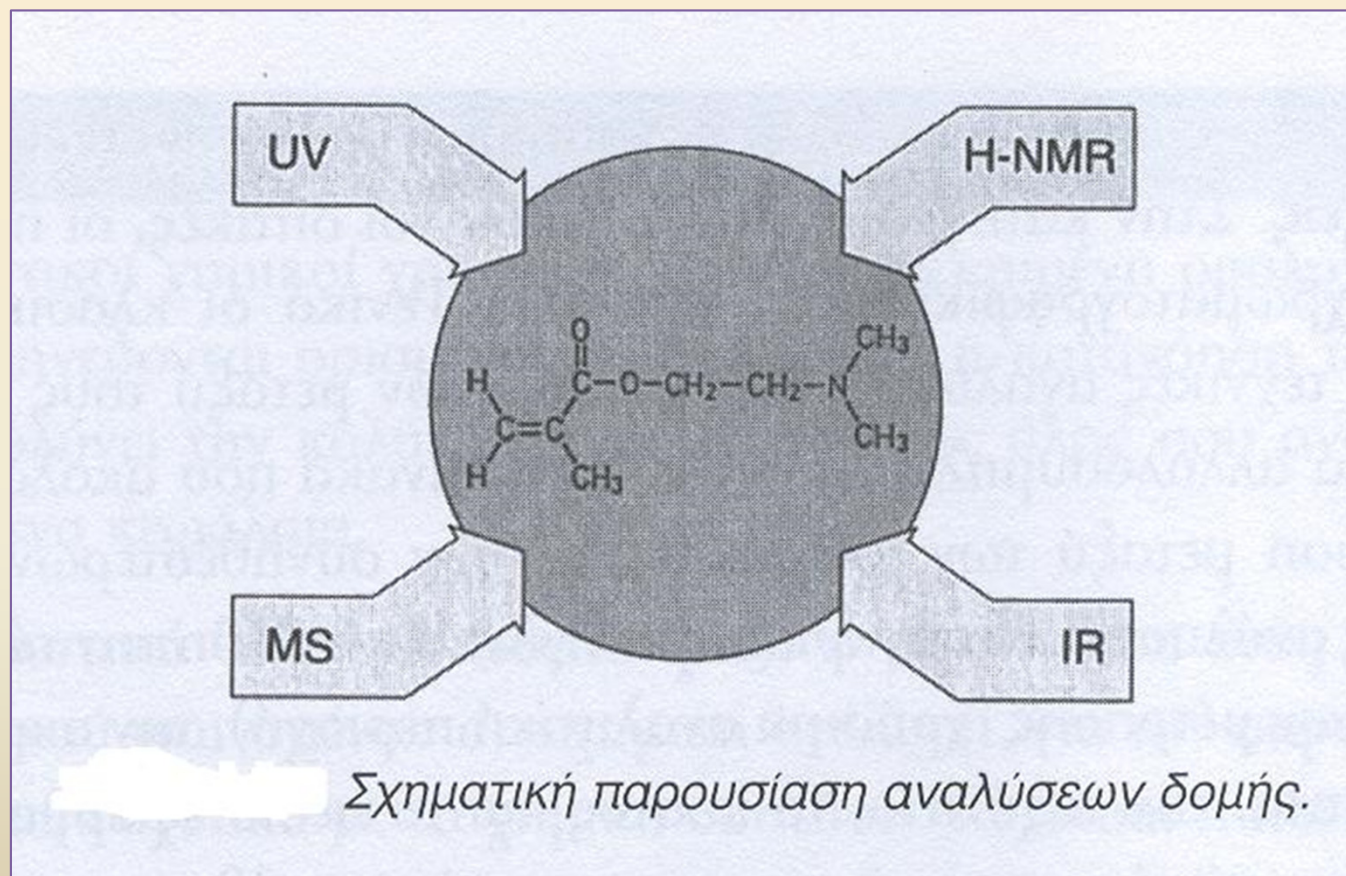
- Ποσοτική Ανάλυση: Ακριβή προσδιορισμό ενός ή περισσότερων συστατικών του δείγματος



Ταξινόμηση αναλυτικών μεθόδων

-Ανάλυση Δομής:

Προσδιορίζεται ο τρόπος και η σειρά που συνδέονται τα άτομα ή οι χαρακτηριστικές ομάδες στο μόριο μιας ένωσης



**ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ
ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

ΣΦΑΛΜΑΤΑ

ΜΕΤΡΑ ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑΣ-ΟΡΙΣΜΟΙ

- Αληθινή η πραγματική τιμή (μ) είναι μια 'παραδεικτική' τιμή προς την οποία μπορούν να συγκριθούν όλες οι πειραματικές τιμές.
- Μετά την εκτέλεση αριθμού (n) επαναλαμβανόμενων μετρήσεων και τη λήψη x_i αριθμητικών τιμών, ως αντιπροσωπευτικότερη της (μ) προτείνεται η μέση τιμή των πειραματικών μετρήσεων.

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Ακρίβεια είναι η συμφωνία της μέσης τιμής μιας σειράς αναλύσεων, με την αληθινή τιμή μ. Εκφράζεται με το σφάλμα, E και το %σχετικό σφάλμα, %Er.

$$E = \bar{x} - \mu \qquad \%E_r = \frac{E}{\mu} \times 100$$

Όσο μικρότερο είναι το σφάλμα, τόσο μεγαλύτερη είναι η ακρίβεια.

Επαναληπτικότητα είναι η διασπορά των μετρούμενων τιμών γύρω από τη μέση τιμή. Εκφράζεται με την τυπική απόκλιση, **s (standard deviation)** και την %σχετική τυπική απόκλιση, %RSD (%relative standard deviation).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad \%RSD = \frac{s}{\bar{x}} \times 100$$

Η τυπική απόκλιση εκτός από **s** συμβολίζεται και με **SD**

Η %σχετική τυπική απόκλιση εκτός από %RSD συμβολίζεται και με **CV (Coefficient of Variation)**

Όταν έχει γίνει σειρά αναλύσεων ως αποτέλεσμα δίνεται ο μέσος όρος των αναλύσεων, συνοδευμένος από την τυπική απόκλιση και τον αριθμό των αναλύσεων: $\pm SD, (n=...)$, π.χ. $1,99 \pm 0,02 \text{ mM } (n=5)$

Για υπολογισμό της τυπικής απόκλισης πρέπει $n \geq 3$.

Όσο μεγαλύτερη είναι η τυπική απόκλιση τόσο μεγαλύτερη είναι η διασπορά των παρατηρήσεων από το μέσο όρο

Ένα χρήσιμο μέτρο επαναληπτικότητας για μικρό αριθμό αναλύσεων είναι το εύρος, R (range) και το σχετικό εύρος, $\%R_r$

$$R = x_{max} - x_{min} \qquad \%R_r = \frac{R}{x} \times 100$$

Η απόκλιση μιας τιμής d_i ορίζεται ως η διαφορά της μέσης τιμής από την τιμή αυτή.

$$d_i = x_i - \bar{x}$$

Η μέση απόκλιση

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}|}{n - 1}$$

Η ποσότητα $n-1$ καλείται βαθμοί ελευθερίας.

Παράδειγμα 1.

Ανάλυση δείγματος αίματος για φωσφορικά δίνει:

4.00, 4.20, 3.60 και 4.20 mg PO₄³⁻/ 100 mL αίματος.

Να υπολογιστεί η μέση τιμή και η τυπική απόκλιση.

Λύση.

$$\bar{x} = \frac{4.00 + 4.20 + 3.60 + 4.20}{4} = 4.00$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{(4.00 - 4.00)^2 + (4.20 - 4.00)^2 + (3.60 - 4.00)^2 + (4.20 - 4.00)^2}{4-1}} = 0.28$$

Παράδειγμα 2.

Σε ένα πείραμα καταμέτρησης κοσμικών ακτίνων που προσπίπτουν σε έναν ανιχνευτή ανά ώρα, έγιναν εννέα μετρήσεις και τα αποτελέσματα καταγράφονται στον παρακάτω πίνακα. Να βρεθεί ο αριθμός των κοσμικών ακτίνων που μετρήθηκαν.

i	x_i	$(x_i - \bar{x})^2$
1	80	400
2	95	25
3	100	0
4	110	100
5	90	100
6	115	225
7	85	225
8	120	400
9	105	25
Σ	900	1500

$$\bar{x} = \frac{900}{9} = 100$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1500}{8}} = 14$$

Άρα τελικά ο αριθμός των κοσμικών ακτίνων που μετρήθηκαν είναι $x = 100 \pm 14$

Παράδειγμα 3.

Κατά τον έλεγχο μιας αναλυτικής μεθόδου για τον προσδιορισμό ασκορβικού οξέος, ένα "γνωστό" πρότυπο διάλυμα περιεκτικότητας 2,000 mg/mL, αναλύθηκε πέντε φορές και πάρθηκαν τα εξής αποτελέσματα (mg/mL): 1,986, 2,013, 2,007, 1,973 και 1,981. Να υπολογισθούν η μέση τιμή, το εύρος, το σχετικό εύρος, η μέση απόκλιση, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση (%RSD), το σφάλμα και το σχετικό σφάλμα (%).

Μέση τιμή:
$$\bar{x} = \frac{1,986 + 2,013 + 2,007 + 1,973 + 1,981}{5} = 1,992 \text{ mg / ml}$$

Εύρος:
$$R = 2,013 - 1,973 = 0,040 \text{ mg / mL}$$

Σχετικό εύρος (%):
$$R r(\%) = (0,040 / 1,992) \times 100 = 2,0 \%$$

Μέση απόκλιση:
$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}|}{n} = \frac{0,006 + 0,021 + 0,015 + 0,019 + 0,011}{5} = 0,014 \text{ mg / mL}$$

Τυπική απόκλιση:
$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} = 0.017 \text{ mg / ml}$$

Σχετική τυπική απόκλιση(%):
$$RSD(\%) = (0,017/1,992) \times 100 = 0,9\%$$

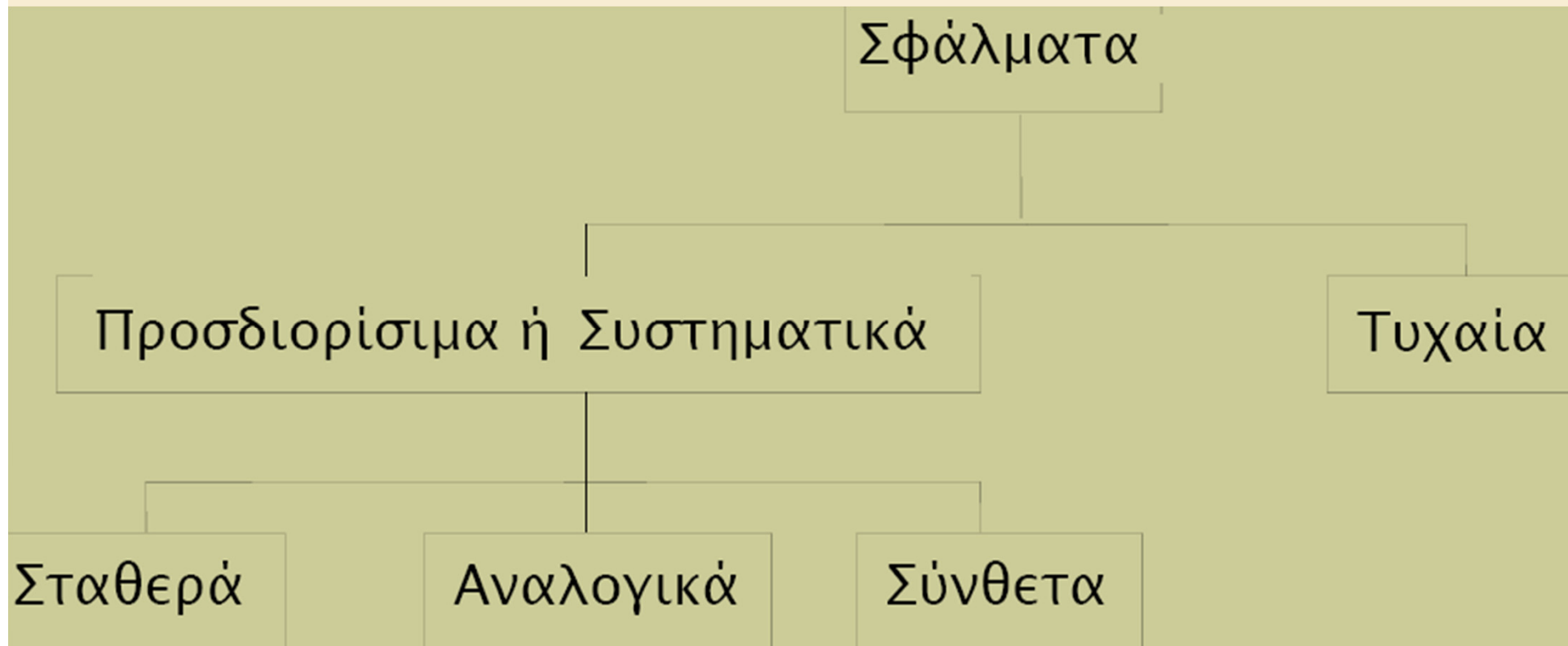
Σφάλμα:
$$E = 1,992 - 2,000 = - 0,008 \text{ mg/mL}$$

Σχετικό Σφάλμα (%):
$$Er(\%) = (- 0,008 / 2,000) \times 100 = -0,4 \text{ mg/mL}$$

ΣΦΑΛΜΑΤΑ

Κάθε πειραματική μέτρηση υπόκειται σε ένα βαθμό αβεβαιότητας (σφάλμα), που στην καλύτερη περίπτωση μπορεί να ελαττωθεί σε ένα αποδεκτό επίπεδο.

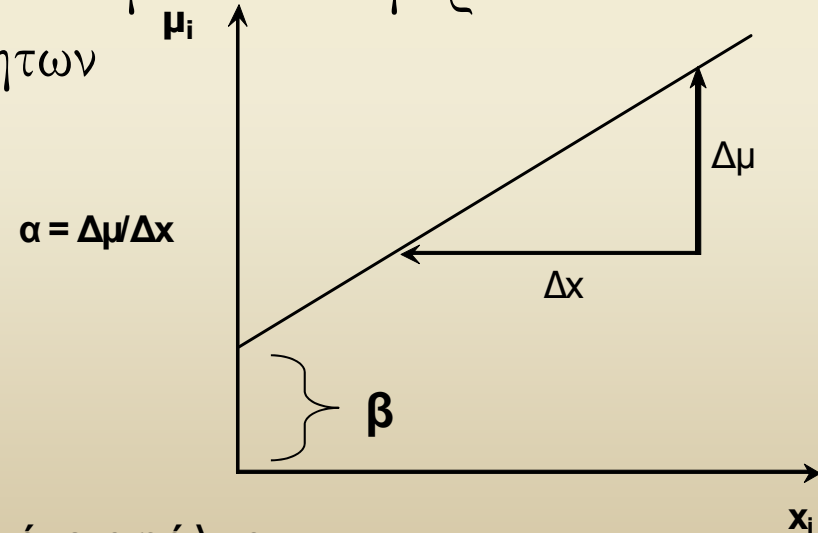
Τα σφάλματα μπορούν να ταξινομηθούν σε 2 κατηγορίες



Προσδιορίσιμα ή Συστηματικά σφάλματα

- Είναι μονοκατευθυνόμενα
- Οφείλονται σε συγκεκριμένα αίτια όπως: Ατέλειες οργάνων, προσμίξεις των αντιδραστηρίων, προσωπικά σφάλματα, σφάλματα της μεθόδου κ.α.
- Εξουδετερώνονται με διάφορους τρόπους όπως: Θεωρητικό υπολογισμό, βαθμονόμηση οργάνων, μέτρηση τυφλού, ανάλυση προτύπων κ.α.
- Το είδος και το μέγεθος καθορίζονται με ανάλυση προτύπων δειγμάτων διαφόρων περιεκτικοτήτων

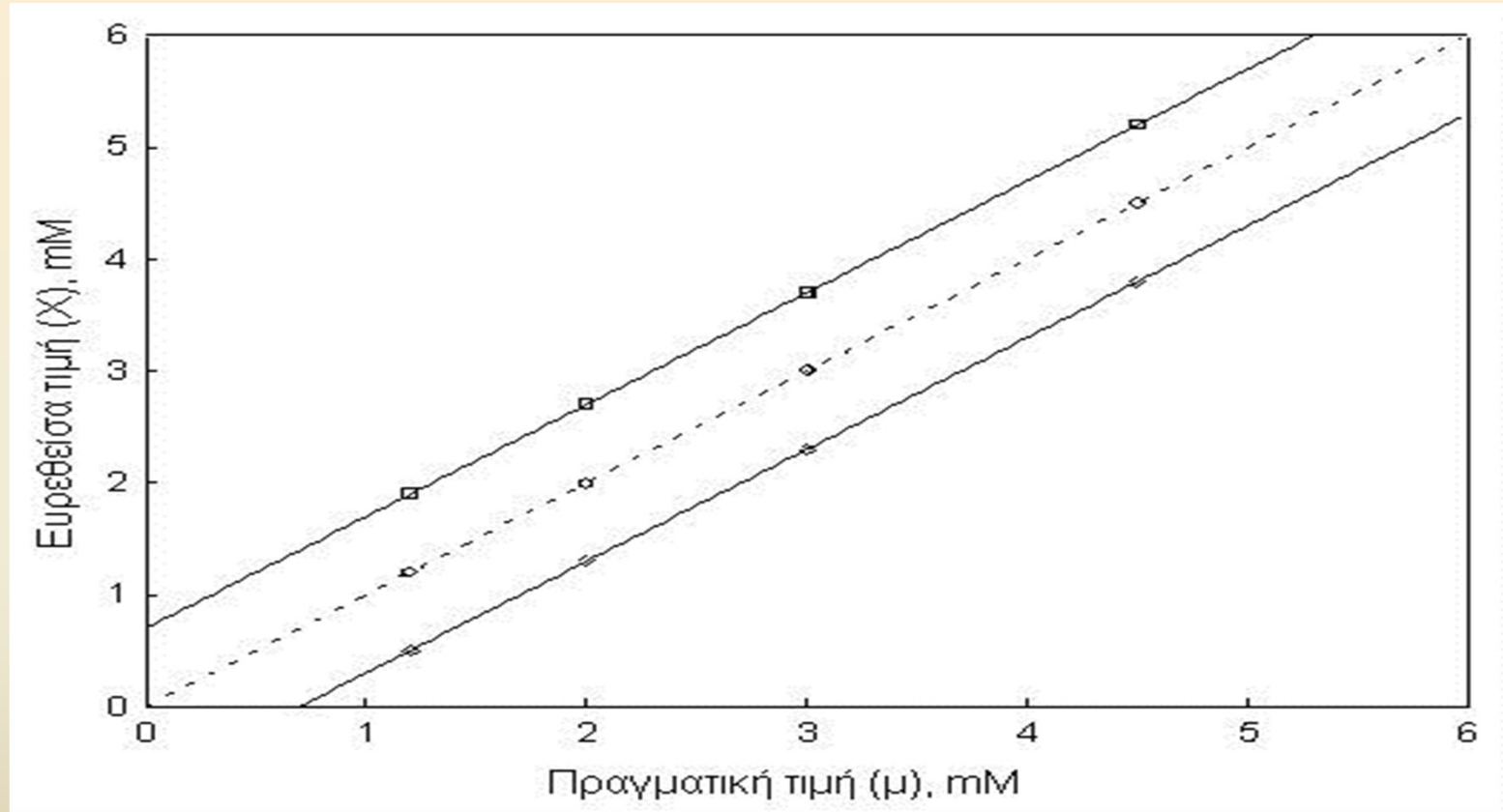
$$x_i = \alpha \mu_i + \beta$$



Ο όρος β ισούται με το με το σταθερό καθορισμένο σφάλμα
Το μέγεθος $(\alpha-1) \times 100$ με το %σχετικό αναλογικό σφάλμα

Σταθερά Προσδιορίσιμα Σφάλματα

Το σφάλμα (E) είναι το ίδιο σε όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από την ποσότητα του προσδιοριζόμενου συστατικού.



α) Μέθοδος χωρίς σφάλμα

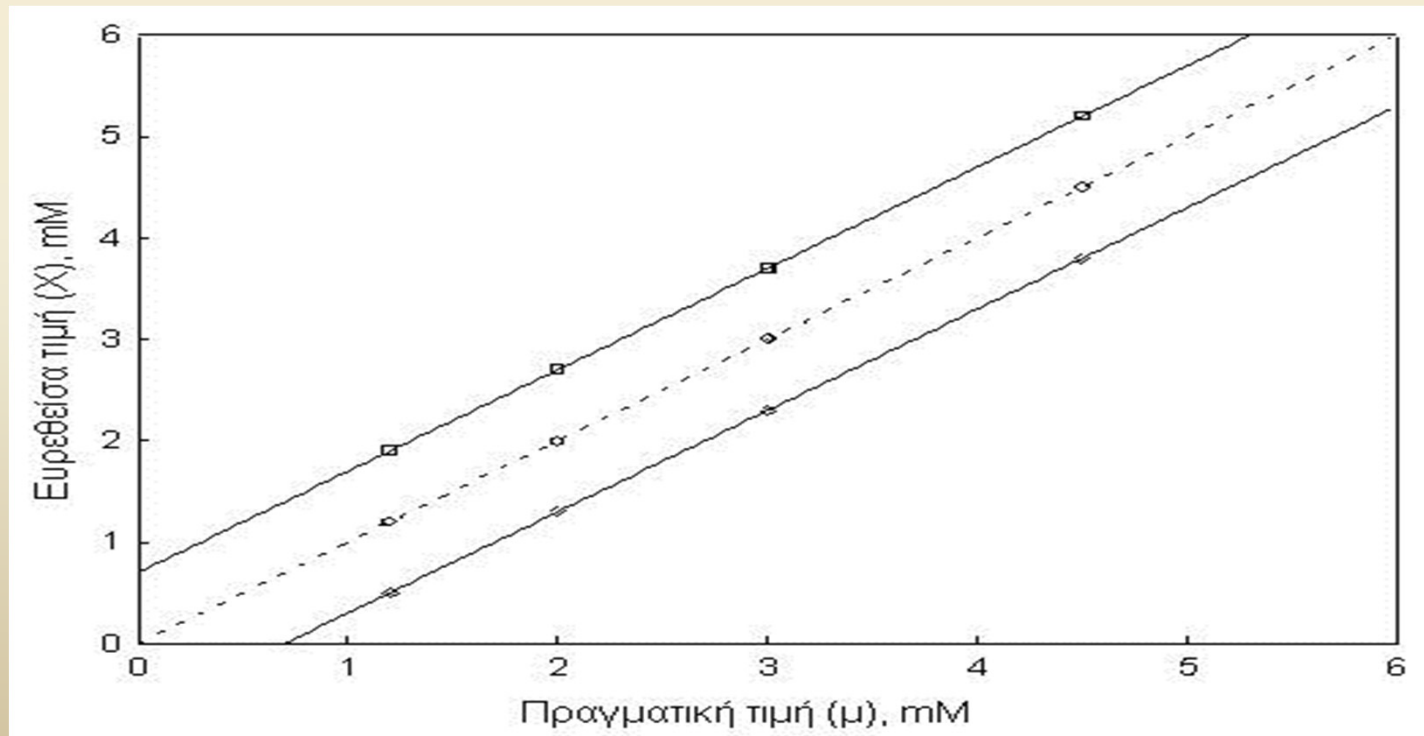
β) Μέθοδος με θετικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα : + 0.7 mM

γ) Μέθοδος με αρνητικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα : - 0.7 mM

Σταθερά Προσδιορίσιμα Σφάλματα

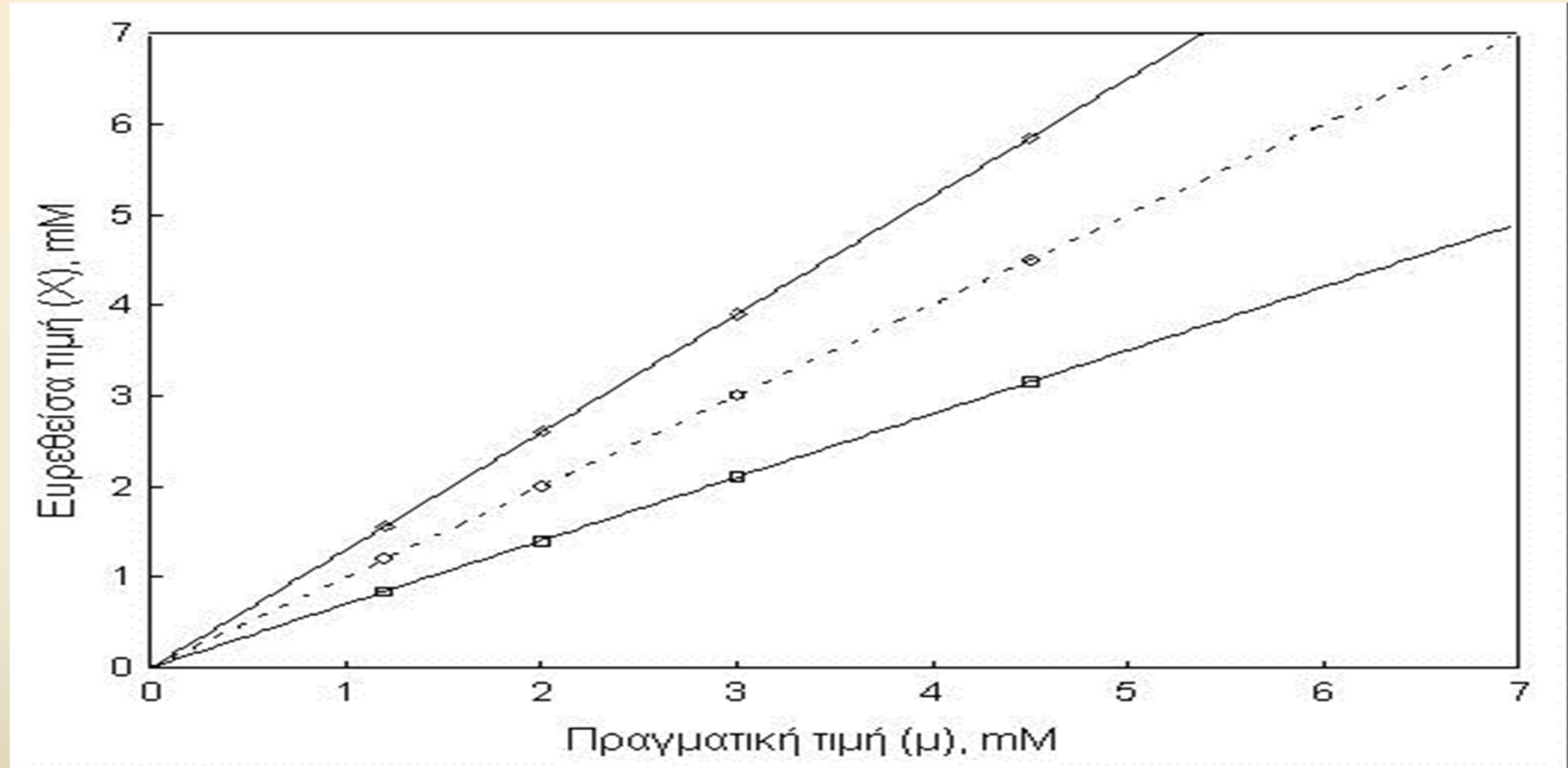
Περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C, mM

Πραγματική (μ)	Ευρεθείσα (\bar{X})	Σφάλμα (E)	%Σχετικό Σφάλμα (%E _r)
1,200	1,326	0,126	+10,5%
2,000	2,100	0,100	+5,0%
3,000	3,102	0,102	+3,4%
4,500	4,605	0,105	2,3%



Αναλογικά Προσδιορίσιμα Σφάλματα

Το σφάλμα (E) είναι ανάλογο της ποσότητας του προσδιοριζόμενου συστατικού ενώ το %σχετικό σφάλμα σταθερό.



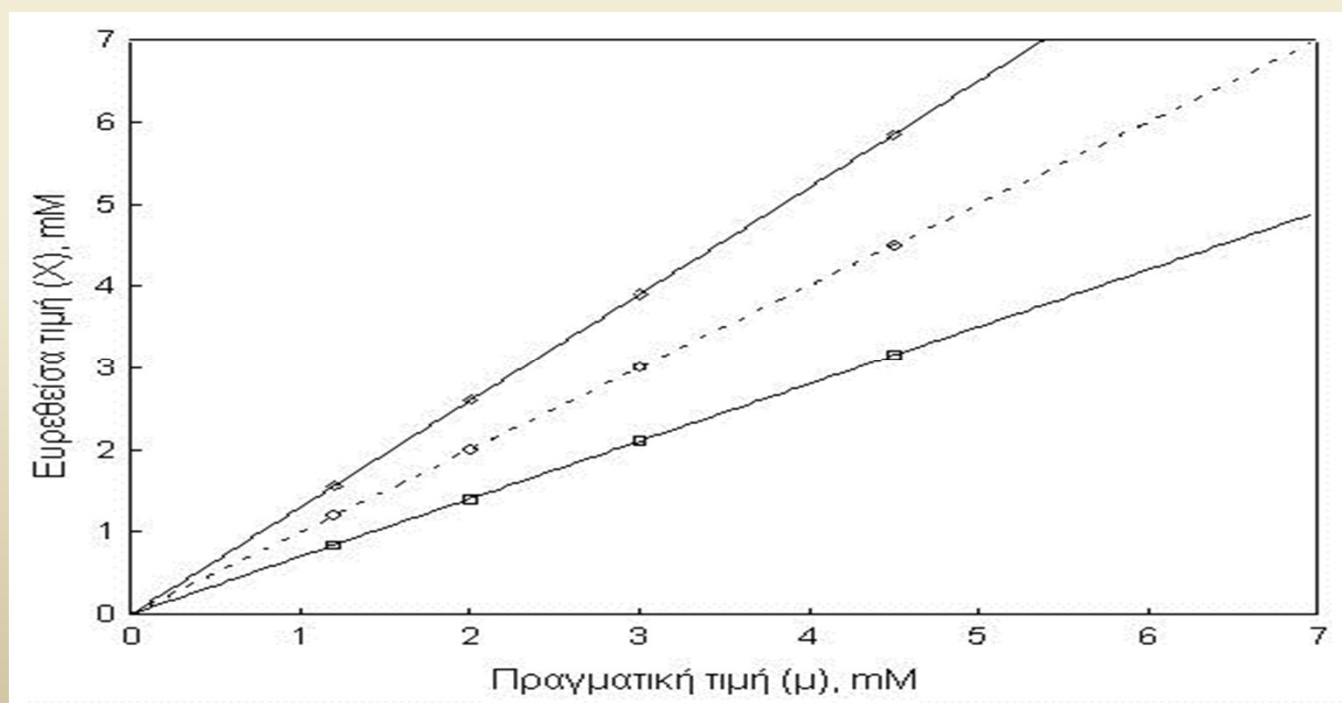
α) Μέθοδος χωρίς σφάλμα

β) Μέθοδος με θετικό αναλογικό σφάλμα : + 30%

γ) Μέθοδος με αρνητικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα : - 30%

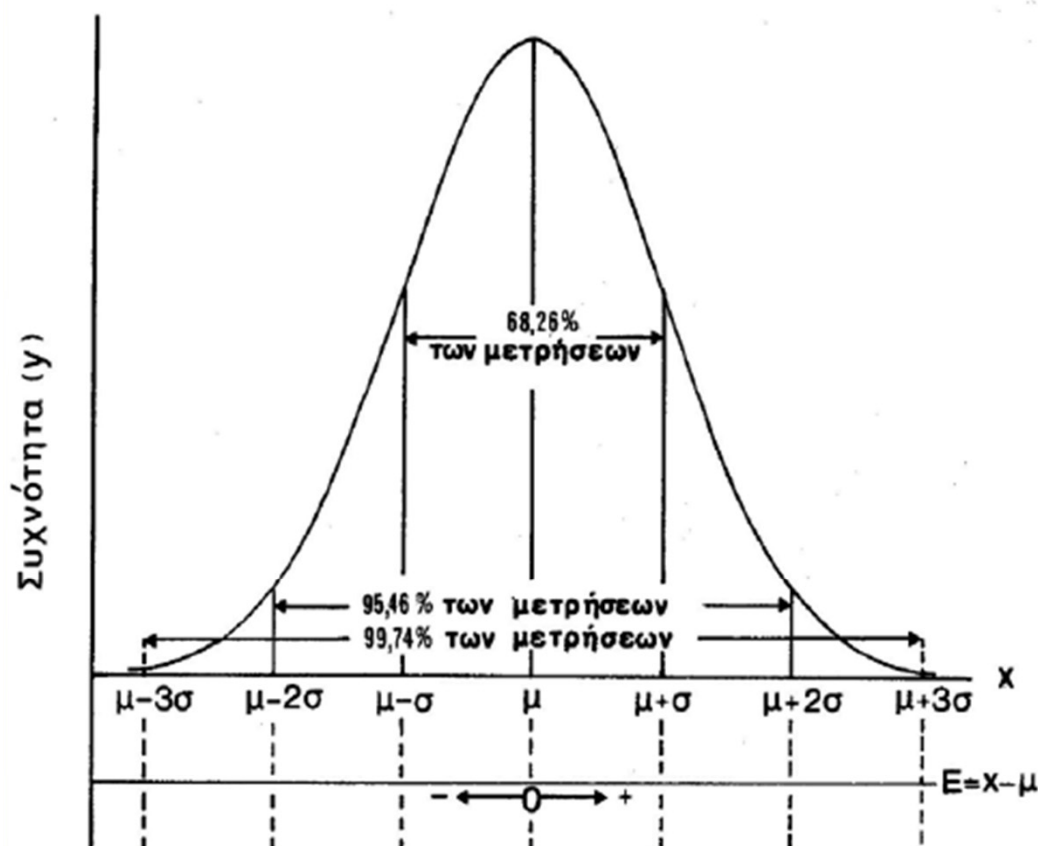
Περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C, mM

Πραγματική (μ)	Ευρεθείσα (\bar{X})	Σφάλμα (E)	%Σχετικό Σφάλμα (% E_r)
1,200	1,326	0,126	+10,5%
2,000	2,201	0,201	+10,1%
3,000	3,304	0,304	+10,1%
4,500	4,950	0,450	+10,0%



Τυχαία σφάλματα

- Είναι δिकाτευθυνόμενα
- Δεν οφείλονται σε συγκεκριμένο αίτιο
- Εξουδετερώνονται ως ένα σημείο με αύξηση του αριθμού των αναλύσεων, αλλά δεν εξαλείφονται διότι απαιτείται άπειρος αριθμός αναλύσεων
- Η κατανομή τους ακολουθεί το νόμο της κανονικής κατανομής κατά Gauss



y = συχνότητα εμφάνισης των σφαλμάτων

$x - \mu$ = διαφορά μιας τιμής x και της αληθινής τιμής μ (σφάλμα)

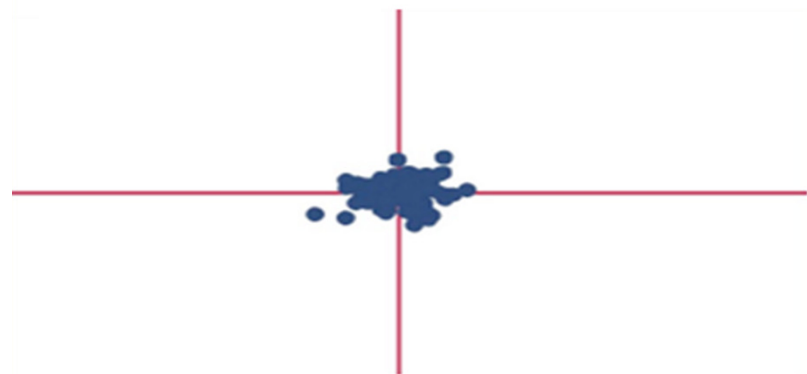
σ = τυπική απόκλιση

Το πλάτος της καμπύλης δηλώνει την επαναληπτικότητα και είναι τόσο μικρότερο όσο καλύτερη είναι η επαναληπτικότητα.

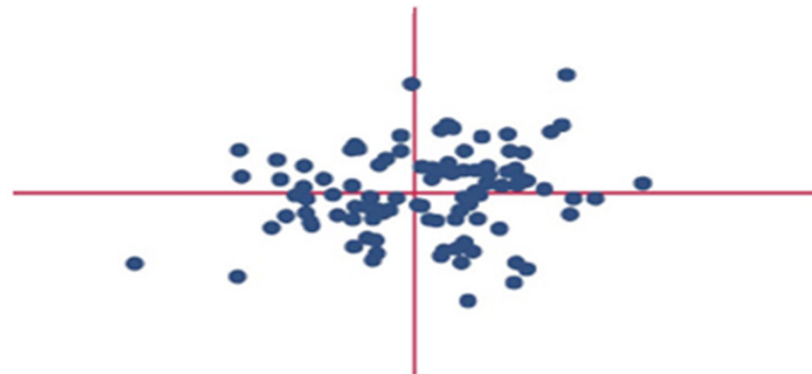
Η αληθινή τιμή μ αντιστοιχεί στο μέγιστο της καμπύλης.

Τυχαία vs. συστηματικά σφάλματα (random vs. systematic errors)

Μη συστηματικό σφάλμα Μικρό τυχαίο σφάλμα
Ακριβή και επαναλήψιμα



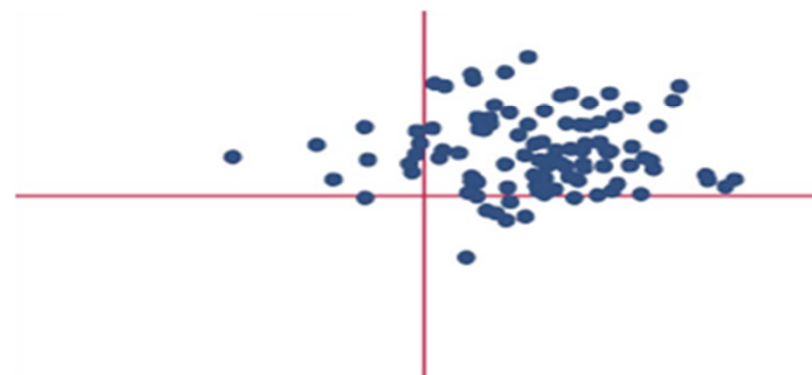
Μη συστηματικό σφάλμα Ουσιώδες τυχαίο σφάλμα
Ακριβή αλλά μη επαναλήψιμα



Συστηματικό σφάλμα Μικρό τυχαίο σφάλμα
Ανακριβή αλλά επαναλήψιμα



Συστηματικό σφάλμα Ουσιώδες τυχαίο σφάλμα
Ανακριβή και μη επαναλήψιμα



Εκτιμητική Στατιστική-Όρια και περιοχή εμπιστοσύνης

- ❑ Η πραγματική τιμή (μ) είναι μια σταθερά που πάντα παραμένει άγνωστη
- ❑ Με ένα βαθμό πιθανότητας, μπορούν όμως να τεθούν όρια γύρω από την πειραματική μέση τιμή, μέσα στα οποία αναμένεται να βρίσκεται η πραγματική τιμή.
- ❑ Όρια και περιοχή εμπιστοσύνης είναι 2 τιμές, αριστερά και δεξιά της μέσης τιμής που καθορίζουν την περιοχή τιμών, (διάστημα εμπιστοσύνης, confidence interval) μέσα στην οποία προβλέπεται με ορισμένη πιθανότητα ότι βρίσκεται η μ .
- ❑ Η πιθανότητα αυτή εκφράζεται στα % και καλείται στάθμη εμπιστοσύνης (confidence level). Συνήθως αρκούμαστε σε στάθμη εμπιστοσύνης 95% ή 99% και μερικές φορές σε 90%.
- ❑ Τα όρια εμπιστοσύνης υπολογίζονται από την σχέση

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}}$$

t = μεταβλητή η οποία αυξάνεται με τη στάθμη εμπιστοσύνης και όταν ελαττώνονται οι βαθμοί ελευθερίας ν ($\nu = n-1$).

- ❑ Η διαφορά (100 – στάθμη εμπιστοσύνης) καλείται πιθανότητα σφάλματος (%) και παρέχει την πιθανότητα (P), με την οποία η μ βρίσκεται έξω από το διάστημα εμπιστοσύνης.

Π.χ. για $P = 0.05$ η πιθανότητα σφάλματος είναι 5% και το διάστημα εμπιστοσύνης 95%.

Στάθμη εμπιστ. % $v = N - 1$	50	90	95	99	99,9
1	1,000	6,314	12,706	63,657	636,619
2	0,816	2,920	4,303	9,925	31,598
3	0,765	2,353	3,182	5,841	12,941
4	0,741	2,132	2,776	4,604	8,610
5	0,727	2,015	2,571	4,032	6,859
6	0,718	1,943	2,447	3,707	5,959
7	0,711	1,895	2,365	3,500	5,405
8	0,706	1,860	2,306	3,355	5,041
9	0,703	1,833	2,262	3,250	4,781
10	0,700	1,812	2,228	3,169	4,587
11	0,697	1,796	2,201	3,106	4,437
12	0,695	1,782	2,179	3,055	4,318
13	0,694	1,771	2,160	3,012	4,221
14	0,692	1,761	2,145	2,977	4,140
15	0,691	1,753	2,131	2,947	4,073
20	0,687	1,725	2,086	2,845	3,850
25	0,684	1,708	2,060	2,787	3,725
30	0,683	1,697	2,042	2,750	3,646
∞^a	0,674	1,645	1,960	2,576	3,291

Τιμές του t (θεωρητικού) σε συνάρτηση των βαθμών ελευθερίας και της στάθμης εμπιστοσύνης.

Παράδειγμα

Έγινε προσδιορισμός νικελίου σε άγνωστο δείγμα τέσσερις φορές και έδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα:

X : 10,1 9,8 10,2 και 9,9 σε ppm.

Να υπολογιστεί το διάστημα εμπιστοσύνης της μέσης τιμής (μ) με πιθανότητα 95%.

Ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση είναι:

x_i		$(x_i - \bar{x})^2$
10,1		$(10,1 - 10)^2$
9,8		$(9,8 - 10)^2$
10,2		$(10,2 - 10)^2$
9,9		$(9,9 - 10)^2$
$\sum x_i = 40,0$	$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = \frac{40,0}{4} = 10,0$	$\sum (x_i - \bar{x})^2 = 0,10$

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{v-1}} = \sqrt{\frac{0.1}{3}} = 0,18$$

Οι βαθμοί ελευθερίας είναι $v-1 = 4-1 = 3$.

Από τον πίνακα κατανομής για 3 βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%: $t_{\text{θεωρητικό}} = 3,182$

Το διάστημα εμπιστοσύνης βρίσκεται από τον τύπο:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{ts}{\sqrt{n}} = 10,0 \pm \frac{3,182 \times 0,18}{\sqrt{3}} = 10,0 \pm 0,29$$

Οπότε: $9,71 < \mu < 10,29$

Αυτό σημαίνει ότι η πραγματική μέση τιμή μ βρίσκεται μεταξύ 9,71 και 10,29 με πιθανότητα 95%.

Σύγκριση της πειραματικής μέσης τιμής, με την αληθή τιμή, μ : Δοκιμασία Student ή t-test

Ερώτημα: Η διαφορά $|\bar{x} - \mu|$ οφείλεται σε προσδιορισμο σφάλμα ή σε τυχαίο.

Αν $|\bar{x} - \mu| > ts/\sqrt{n}$ Τότε το μ είναι σημαντικά διαφορετικό από το \bar{x} για καθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης (υπάρχει προσδιορισμο σφάλμα)

Γίνεται σύγκριση του \bar{x} με το μ και υπολογίζεται η τιμή

$$t_{\text{πειρ}} = \frac{|\mu - \bar{x}| \sqrt{n}}{s}$$

➤ Αν $t_{\text{πειρ}} > t_{\text{θεωρητικό}}$ τότε το μ είναι σημαντικά διαφορετικό από το \bar{x} για καθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης (υπάρχει σφάλμα)

➤ Αν $t_{\text{πειρ}} < t_{\text{θεωρητικό}}$ τότε το μ δεν διαφέρει σημαντικά από το \bar{x} για καθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης (δεν υπάρχει σφάλμα).

➤ Η στάθμη εμπιστοσύνης είναι αντίστροφα ανάλογη της πιθανότητας να διαφέρουν οι δύο τιμές

➤ Η δοκιμασία t γίνεται πιο αυστηρή, δηλαδή περισσότερες πειραματικές τιμές φαίνεται να διαφέρουν σημαντικά από το μ όταν:

- Μειώνεται η στάθμη εμπιστοσύνης
- Αυξάνεται ο αριθμός μετρήσεων, n
- Μειώνεται η τυπική απόκλιση, s

Παράδειγμα

Αναλύεται πιστοποιημένο ελαιόλαδο αναφοράς με οξύτητα 2,00 % (w/w) πέντε φορές και βρίσκεται ότι έχει οξύτητα (% , w/w): a) 1,99 b) 2,10 c) 2,08 d) 1,97 e) 2,09. Να εξεταστεί αν υπάρχει προσδιορισμο σφάλμα στη μέθοδο για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

$$\mu = 2,00 \%$$

$$\bar{x} = \frac{1,99 + 2,10 + 2,08 + 1,97 + 2,09}{5} = 2,05 \%$$

$$s = \sqrt{\frac{(1,99 - 2,05)^2 + (2,10 - 2,05)^2 + (2,08 - 2,05)^2 + (1,97 - 2,05)^2 + (2,09 - 2,05)^2}{5 - 1}} = 0,06\%$$

$$t_{\text{πειρ}} = \frac{|2,00 - 2,09| \sqrt{5}}{0,06} = 3,35$$

tθεωρητικό = 2,78 για 4 (=5-1) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%
Επειδή tπειρ > tθεωρητικό υπάρχει προσδιορισμο σφάλμα στη μέθοδο

Παράδειγμα

Δοκιμάστηκε μια νέα μέθοδος ταχείας ανάλυσης θείου (S) σε κηροζίνες με ανάλυση δείγματος που από την μέθοδο παρασκευής του ήταν γνωστό ότι περιείχε 0,123% S. Τα αποτελέσματα ήταν %S= 0,112, 0,118, 0,115 και 0,119.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν αρνητικό συστηματικό σφάλμα της νέας μεθόδου;

$$\bar{x} = \frac{0,112 + 0,118 + 0,115 + 0,119}{4} = 0,116$$

$$\bar{x} - \mu = 0,116 - 0,123 = -0,007$$

$$s = \sqrt{\frac{(0,0040)^2 + (0,0020)^2 + (0,0010)^2 + (0,0030)^2}{4 - 1}} = 0,0032$$

τθεωρητικό = 2,78 για 4 (=5-1) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%
Επειδή πειρ > τθεωρητικό υπάρχει προσδιορισμό σφάλμα στη μέθοδο

Παράδειγμα

Δοκιμάστηκε μια νέα μέθοδος ταχείας ανάλυσης θείου (S) σε κηροζίνες με ανάλυση δείγματος που από την μέθοδο παρασκευής του ήταν γνωστό ότι περιείχε 0,123% S. Τα αποτελέσματα ήταν %S= 0,112, 0,118, 0,115 και 0,119.

Τα αποτελέσματα παρουσιάζουν αρνητικό συστηματικό σφάλμα της νέας μεθόδου;

$$\bar{x} = \frac{0,112 + 0,118 + 0,115 + 0,119}{4} = 0,116$$

$$\bar{x} - \mu = 0,116 - 0,123 = -0,007$$

$$s = \sqrt{\frac{(0,0040)^2 + (0,0020)^2 + (0,0010)^2 + (0,0030)^2}{4 - 1}} = 0,0032$$

τθεωρητικό = 2,78 για 4 (=5-1) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%
Επειδή πειρ > τθεωρητικό υπάρχει προσδιορισμο σφάλμα στη μέθοδο

Παράδειγμα

Κατά τον έλεγχο μιας νέας μεθόδου αναλύσεως δισκίων συνδυασμού θεοφυλλίνης-υδροχλωρικής εφεδρίνης-φαινοβαρβιτάλης που γίνεται με φασματοφωτομετρία Υπεριώδους μετά από διαχωρισμό με χρωματογραφία στήλης, πάρθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα μετά την ανάλυση “πρότυπων δισκίων”

Δραστικό συστατικό	Αριθμ. Αναλύσεων N	Μέση τιμή mg/δισκίο	Σχετική τυπική απόκλιση, %	Τιμές προτύπων mg/δισκίο
α) θεοφυλλίνη	6	44.1	4.1	50.0
β)υδροχ. εφεδρίνης	7	4.87	3.2	5.00
γ) Φαινοβαρβιτάλη	8	10.8	6.2	10.0

Δεδομένου ότι οι τιμές των προτύπων είναι οι αληθινές τιμές, να καθοριστεί εάν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα κατά τον προσδιορισμό οποιουδήποτε δραστικού συστατικού, για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

(Δίνονται: $t_{\text{θεωρητικό}} = 2.571$ για 5 βαθμούς ελευθερίας, $t_{\text{θεωρητικό}} = 2.447$ για 6 βαθμούς ελευθερίας, $t_{\text{θεωρητικό}} = 2.365$ για 7 βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%).

α) Για τη θεοφυλλίνη

$$|\bar{x} - \mu| = |44.1 - 50.0| = |-5.9| \text{mg} / \text{δισκίο}$$

$$\%RSD = \frac{S}{\bar{X}} 100 \Rightarrow S = \frac{RSD * \bar{X}}{100} = \frac{4.1 * 44.1}{100} = 18.1 \text{mg} / \text{δισκίο}$$

Για $\nu = N-1 = 6-1 = 5$ $t_{\text{θεωρητικό}} = 2.571$

$$t_{\text{πειρ}} = \frac{|\mu - \bar{x}|}{s} \sqrt{n} = \frac{5.9\sqrt{6}}{1.81} = 7.98 > 2.571$$

Επειδή πειραματικό > θεωρητικό

Η ύπαρξη σφάλματος πιθανή

Ομοίως και για τα β) και γ)

Σύγκριση δύο μέσων πειραματικών τιμών x_1 και x_2

Ερώτημα: Η διαφορά $|x_1 - x_2|$ είναι σημαντική ή οφείλεται σε τυχαίους παράγοντες

Χρήση: Σύγκριση αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από δύο μεθόδους, δύο εργαστήρια, δύο πειραματικές συνθήκες (κλπ).

Υπολογίζεται η συγκεντρωτική τυπική απόκλιση, *Spooled*:

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$t_{πειρ.} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_{pooled}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

- Αν : $t_{πειρ} > t_{θεωρητικό}$ τότε το είναι σημαντικά διαφορετικό από το για καθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης
- Αν : $t_{πειρ} < t_{θεωρητικό}$ τότε το δεν διαφέρει σημαντικά από το για καθορισμένο επίπεδο εμπιστοσύνης.

Παράδειγμα

Σε δείγμα ελαιόλαδου προσδιορίζεται ο αριθμός υπεροξειδίων (meq O₂/kg) με δύο μεθόδους α) με την πρότυπη μέθοδο του AOAC (Association of Official Analytical Chemists) και β) με μέθοδο flow injection (FI). Να εξεταστεί αν οι δύο μέθοδοι διαφέρουν για στάθμη εμπιστοσύνης 99%.

	Αριθμός υπεροξειδίων, meq O ₂ /kg					
Μέθοδος AOAC:	39,5	40,1	39,7	40,5	39,7	
Μέθοδος FI:	40,0	41,0	40,7	40,2	40,5	40,6

Μέθοδος AOAC

$$n_1 = 5$$

$$\bar{x}_1 = \frac{39,5 + 40,1 + 39,7 + 40,5 + 39,7}{5} = 39,9 \text{ meq O}_2/\text{kg}$$

$$s_1 = \sqrt{\frac{(39,5 - 39,9)^2 + (40,1 - 39,9)^2 + (39,7 - 39,9)^2 + (40,5 - 39,9)^2 + (39,7 - 39,9)^2}{5 - 1}} = 0,40$$

$$n_2 = 6$$

$$\bar{x}_2 = \frac{40,0 + 41,0 + 40,7 + 40,2 + 40,5 + 40,6}{6} = 40,5 \text{ meq O}_2/\text{kg}$$

$$s_2 = \sqrt{\frac{(40,0 - 40,5)^2 + (41,0 - 40,5)^2 + (40,7 - 40,5)^2 + (40,2 - 40,5)^2 + (40,5 - 40,5)^2 + (40,6 - 40,5)^2}{6 - 1}} = 0,36$$

Μέθοδος FI

Εύρεση tπειρ.:

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{0,40^2(5-1) + 0,36^2(6-1)}{5+6-2}} = 0,38$$

$$t_{πειρ.} = \frac{|399-405|}{0,38} \sqrt{\frac{5 \cdot 6}{5+6}} = 2,61$$

tθεωρητικό = 3,25 για 9 (=5+6-2) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 99%.

Επειδή tπειρ < tθεωρητικό οι δύο μέθοδοι είναι ισοδύναμες. Για στάθμη εμπιστοσύνης 90% tθεωρητικό = 1,83 οπότε tπειρ > tθεωρητικό και οι δύο μέθοδοι δεν είναι ισοδύναμες.

Παράδειγμα

Μια ενζυματική μέθοδος (ENZ) προσδιορισμού αιθυλικής αλκοόλης στο αίμα συγκρίνεται με μια μέθοδο αέριας χρωματογραφίας (GC). Το δείγμα αναλύεται πολλές φορές με τα ακόλουθα αποτελέσματα (% EtOH). ENZ: 13.1, 12.7, 12.6, 13.3, 13.3; GC: 13.5, 13.3, 13.0, 12.9. Διαφέρει σημαντικά η ENZ μέθοδος από τη GC για στάθμη εμπιστοσύνης 95% (tθεωρητικό = 2,365 για 7 βαθμούς ελευθερίας).

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$t_{\text{περιφ.}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_{pooled}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$x_1 = \frac{13,1 + 12,7 + 12,6 + 13,3 + 13,3}{5} = 13,0$$

$$x_2 = \frac{13,5 + 13,3 + 13,0 + 12,9}{4} = 13,2$$

$$s_1 = \sqrt{\frac{(0,1)^2 + (0,3)^2 + (0,4)^2 + (0,3)^2 + (0,3)^2}{5}} = 0,30$$

$$s_2 = \sqrt{\frac{(0,3)^2 + (0,1)^2 + (0,2)^2 + (0,3)^2}{4}} = 0,24$$

$$s_{pooled} = \sqrt{\frac{(0,30)^2 (5-1) + (0,24)^2 (4-1)}{5+4-2}} = 0,28$$

$$t_{\text{πειραματικ\o}} = \frac{|13,0 - 13,2|}{0,28} \sqrt{\frac{4 * 5}{4 + 5}} = 1,065$$

Παράδειγμα

Κατά την ανάλυση δύο παρτίδων δισκίων Νιφεδιπίνης με την ίδια αναλυτική μέθοδο και τον ίδιο αναλυτή, πάρθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα:

x_{i1} (mg/δισκίο): 395,4, 401,1, 397,8, 405,0, 397,5

x_{i2} (mg/δισκίο): 400,5, 410,9, 407,1, 402,6, 405,9, 406,3

Να εξετασθεί αν οι δύο παρτίδες διαφέρουν ως προς την περιεκτικότητα τους σε Νιφεδιπίνη, για στάθμη εμπιστοσύνης 99%.

($t_{θεωρ.} = 3.25$ για 9 βαθμούς ελευθερίας).

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$t_{περιφ.} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_{pooled}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$x_1 = \frac{395,4 + 401,1 + 397,8 + 405,0 + 397,5}{5} = 399,4$$

$$x_2 = \frac{400,6 + 410,9 + 407,1 + 402,6 + 405,9 + 406,3}{6} = 405,6$$

$$s_2 = \sqrt{\frac{(5)^2 + (5,3)^2 + (1,5)^2 + (3)^2 + (0,3)^2 + (0,7)^2}{6}} = 3,29$$

$$s_1 = \sqrt{\frac{(4)^2 + (1,7)^2 + (1,6)^2 + (5,6)^2 + (1,9)^2}{5}} = 3,36$$

$$s_{pooled} = \sqrt{\frac{(3,36)^2(5-1) + (3,29)^2(6-1)}{6+5-2}} = 3,32$$

$$t_{\text{πειραματικ\acute{o}}} = \frac{|399,4 - 405,6|}{3,32} \sqrt{\frac{5*6}{5+6}} = 3,084$$

Παράδειγμα

Οι συγκεντρώσεις αρσενικού [As] σε δείγματα βιομηχανικών αποβλήτων προσδιορίστηκαν με δύο μεθόδους και έδωσαν τα κάτωθι αποτελέσματα.

A/A	Μέθοδος A [As] (mg)	Μέθοδος B [As] (mg)
1	57.5	57.2
2	55.8	57.2
3	57.0	56.1
4	57.1	54.6
5	57.3	56.2
6	55.8	-

Να εξετασθεί αν οι δύο μέθοδοι διαφέρουν ως προς την συγκέντρωσή τους σε αρσενικό, για στάθμη εμπιστοσύνης 99%. (tθεωρ. = 3.25 για 9 βαθμούς ελευθερίας).

$$S_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

$$t_{\text{περιφ.}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{S_{pooled}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

Απόρριψη Πειραματικής Τιμής

- Όταν υπάρχουν διαθέσιμες λίγες πειραματικές τιμές (λιγότερες από δέκα) και κάποια από αυτές φαίνεται να είναι λάθος, γιατί απέχει πολύ από τον μέσο όρο των μετρήσεων, για να αποφασίσουμε αν θα δεχθούμε την τιμή αυτή ή θα την απορρίψουμε και θα προχωρήσουμε στην στατιστική επεξεργασία των υπόλοιπων πειραματικών τιμών, μπορούμε να εφαρμόσουμε ένα αξιόπιστο κριτήριο, που είναι γνωστό σαν **Q-test**.
- Για την εφαρμογή του Q-test προσδιορίζουμε την τιμή του Q από την σχέση:

$$Q = \frac{\text{ύποπτη τιμή} - \text{πλησιέστερη τιμή}}{\text{μεγαλύτερη τιμή} - \text{μικρότερη τιμή}}$$

Απόρριψη αμφίβολης τιμής σε μία σειρά πειραματικών δεδομένων

Η περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C μετρείται πέντε φορές και τα αποτελέσματα που λαμβάνονται είναι:

αριθμός μέτρησης	βιταμίνη C, mM
1	2,01
2	2,00
3	1,99
4	1,98
5	1,00

Διάμεση τιμή

Μέση τιμή με την αμφίβολη = 1,80

Μέση τιμή χωρίς την αμφίβολη = 1,99

Διάμεση τιμή = 1,99

Κριτήριο Q

Η πέμπτη τιμή αποκλίνει και ίσως πρέπει να απορριφθεί. Όταν υπάρχει αμφιβολία για την απόρριψη κάποιας τιμής εφαρμόζεται το κριτήριο Q:

$$Q_{\text{πειρ.}} = \frac{|x_{\text{αμφιβαλη}} - x_{\text{πλησιόστερη}}|}{x_{\text{max}} - x_{\text{min}}} = \frac{|1,00 - 1,98|}{2,01 - 1,00} = 0,97$$

Ο αριθμός αυτός συγκρίνεται με τον θεωρητικό από πίνακες για δεδομένη στάθμη εμπιστοσύνης και αριθμό μετρήσεων

Τιμές του Q συναρτήσει της στάθμης εμπιστοσύνης και του αριθμού μετρήσεων

Αριθμός μετρήσεων	$Q_{0,90}$	$Q_{0,95}$	$Q_{0,99}$
3	0,94	0,98	0,99
4	0,76	0,85	0,93
5	0,64	0,73	0,82
6	0,56	0,64	0,74
7	0,51	0,59	0,68

Για στάθμη εμπιστοσύνης 90% και 5 μετρήσεις
 $Q_{\text{θεωρητικό}} = 0,64$

$Q_{\text{πειραματικό}} > Q_{\text{θεωρητικό}}$ απόρριψη

Με το κριτήριο Q απορρίπτονται δυσκολότερα τιμές όταν:

- ✓ αυξάνεται η στάθμη εμπιστοσύνης
- ✓ μειώνεται ο αριθμός μετρήσεων

Παράδειγμα

Κατά την ανάλυση χλωριούχων ιόντων σε ορό του αίματος βρέθηκαν οι παρακάτω τιμές: 103, 106, 107, 114 mmol/L. Μια από τις τιμές φαίνεται αμφίβολη. Να προσδιοριστεί αν η τιμή αυτή μπορεί να απορριφθεί με 90% εμπιστοσύνη ($Q_{90\%} = 0,76$).

$$Q_{\text{πειρ.}} = \frac{|x_{\text{αμφίβολη}} - x_{\text{πλησιέστερη}}|}{x_{\text{max}} - x_{\text{min}}}$$

Η αμφίβολη τιμή είναι η 114 και διαφέρει από την πλησιέστερη τιμή της 107 κατά $a = 114 - 107 = 7$. Αντίστοιχα το εύρος ισούται με $w = 114 - 103 = 11$ meq/L.

Επομένως:

$Q_{\text{πειραματικό}} = 7/11 = 0,64 < 0,76$ $Q_{\text{θεωρητικό}}$ άρα δεν απορρίπτεται

Παράδειγμα

Κατά τον προσδιορισμό του συντελεστή επιβράδυνσης ενός φαρμάκου πάρθηκαν οι τιμές: 0,60, 0,57, 0,57, 0,58, 0,59, 0,74, 0,59. Να χρησιμοποιηθεί το κριτήριο Q90 για να καθορισθεί, εάν οποιοδήποτε από τα αποτελέσματα πρέπει να απορριφθεί (Q90, θεωρ. = 0,51).

$$Q_{\text{πειρ.}} = \frac{|x_{\text{αμφίβολη}} - x_{\text{πλησιέστερη}}|}{x_{\text{max}} - x_{\text{min}}}$$

Η αμφίβολη τιμή είναι η 0,74 και διαφέρει από την πλησιέστερη τιμή της 0,60 κατά $\alpha = 0,74 - 0,60 = 0,14$. Αντίστοιχα το εύρος ισούται με $W = 0,74 - 0,57 = 0,17$.

Επομένως $Q_{\text{πειρ.}} = 0,14/0,17 = 0,82 > Q_{\text{θεωρ.}} = 0,51$ άρα απόρριψη

ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΨΗΦΙΑ

Η χρήση των αριθμητικών δεδομένων που προκύπτουν κατά την διάρκεια των μετρήσεων πρέπει να γίνεται με βάση των αριθμό των ψηφίων που γνωρίζουμε με βεβαιότητα συν ένα που αντιστοιχεί σε εκτίμηση.

□ Π.χ. Η βεβαιότητα στην μέτρηση όγκου με προχοΐδα επιτρέπει την έκφραση με 3 ψηφία, τα δύο με βεβαιότητα και το 3ο με εκτίμηση.

□ Ως σημαντικά ψηφία ενός αριθμού θεωρούνται τα ψηφία που είναι γνωστά με βεβαιότητα και ένα ψηφίο επιπλέον.

□ Εάν κατά την εκτέλεση μιας σειράς πειραματικών μετρήσεων ληφθούν οι τιμές 61,60, 61,46, 61,55 και 61,61, με $\bar{x} = 61,555$ και $s = \pm 0,069$.

Τα αποτελέσματα πρέπει να δίνονται ως:

$\bar{x} \pm SD, (n = \dots)$

$\bar{x} = 6.56 \pm 0.07$

ΚΑΝΟΝΕΣ ΓΡΑΦΗΣ

- ❑ Σταθερές όπως ατομική μάζα κλπ. χρησιμοποιούνται με όλα τα ψηφία που δίνονται στους πίνακες.
- ❑ Όλα τα μη μηδενικά ψηφία ενός αριθμού, εφόσον αναγράφονται, είναι σημαντικά, είτε βρίσκονται στο ακέραιο είτε στο δεκαδικό μέρος, **π.χ. 35,246**
- ❑ Το 0 είναι πάντοτε σημαντικό όταν βρίσκεται ανάμεσα σε άλλα ψηφία, **π.χ. 1,043, 10,465, 0,0401**
- ❑ Το 0 προ ή μετά την υποδιαστολή αν δεν προηγείται άλλο ψηφίο, δεν είναι ποτέ σημαντικό, **π.χ. 0,152, 0,0038**
- ❑ Τα 0 μετά την υποδιαστολή, εφόσον αναγράφονται, είναι σημαντικά, αλλιώς παραλείπονται, **π.χ. 3,00, 101,0.**
- ❑ Το 0 στο τέλος ενός αριθμού, αν δεν ακολουθεί υποδιαστολή, όταν είναι σημαντικό διατηρείται, ενώ αν δεν είναι σημαντικό γράφεται σαν δύναμη του 10, **π.χ. $1030 = 103 \cdot 10^1$, $10000 = 1 \cdot 10^4$.**

ΚΑΝΟΝΕΣ ΓΡΑΦΗΣ

ΠΡΟΣΘΕΣΗ ΚΑΙ ΑΦΑΙΡΕΣΗ

□ Κατά την πρόσθεση ή αφαίρεση μεταξύ δύο δεκαδικών αριθμών, το αποτέλεσμα είναι αριθμός με τόσα δεκαδικά όσα έχει ο αριθμός με τα λιγότερα δεκαδικά,

$$\text{π.χ. } 20,28 + 1,0194 = (21,2994) = 21,30.$$

$$100,1 + 0,001 + 0,012 = (100,113) = 100,1$$

□ Όταν προσθέτονται δυνάμεις, πρέπει πρώτα να γράφονται με τους ίδιους εκθέτες (διατηρώντας τα σημαντικά τους ψηφία) και στη συνέχεια να αθροίζονται,

$$\text{π.χ. } 3,15 \cdot 10^{-5} + 0,28 \cdot 10^{-6} = (0,315 \cdot 10^{-6} + 0,28 \cdot 10^{-6}) = 0,595 \cdot 10^{-6} = 0,60 \cdot 10^{-6}$$

□ Όταν προσθέτονται ή αφαιρούνται αριθμοί ή δυνάμεις με τον ίδιο αριθμό δεκαδικών ψηφίων, το αποτέλεσμα θα έχει τον ίδιο αριθμό δεκαδικών ψηφίων, ακόμη και αν το σύνολο των σημαντικών ψηφίων αυξήθηκε,

$$\text{π.χ. } 4,35 + 8,70 = 13,05 \text{ ή } 10,39 \cdot 10^{-4} - 10,10 \cdot 10^{-4} = 0,29 \cdot 10^{-4}$$

ΚΑΝΟΝΕΣ ΓΡΑΦΗΣ

ΠΟΛΛΑΠΛΑΣΙΑΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΡΕΣΗ

□ Κατά τον πολλαπλασιασμό ή τη διαίρεση μεταξύ δύο αριθμών, **πρακτικά** το αποτέλεσμα μπορεί να έχει τόσα σημαντικά ψηφία, όσα έχει ο αριθμός με τα λιγότερα σημαντικά .

$$\text{π.χ. } 0,851 \times 0,80 = 0,68, \quad 113,2 : 1,43 = 79,2, \quad 3,25 \times 0,21 / 0,8 = 0,9$$

$$11,3 \times 6,8 = (76,84) = 7,7 \cdot 10^1$$

ΛΟΓΑΡΙΘΜΟΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΛΟΓΑΡΙΘΜΟΣ

□ Κατά τον υπολογισμό του λογαρίθμου ενός αριθμού, το αποτέλεσμα πρέπει να έχει τόσα δεκαδικά όσα είναι τα σημαντικά ψηφία του αρχικού αριθμού,

$$\text{π.χ. } \log(3,12 \cdot 10^{-4}) = (-3,5058454) = -3,506 \text{ και } \log(25) = (1,397940) = 1,40.$$

□ Κατά τον υπολογισμό αριθμού από ένα λογάριθμο (αντιλογάριθμος) το αποτέλεσμα πρέπει να έχει τόσα σημαντικά ψηφία, όσα είναι τα δεκαδικά ψηφία του λογαρίθμου.

$$\text{π.χ. } \text{pH} = 4,75, \quad \text{H}^+ = 10^{-4,75} = 1,7782 \cdot 10^{-5} = 1,8 \cdot 10^{-5}$$

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

Προσδιορίστε τον αριθμό των σημαντικών ψηφίων για τα ακόλουθα:

5280 \Rightarrow 4 σημαντικά ψηφία

0.35 \Rightarrow 2 σημαντικά ψηφία

0.0037 \Rightarrow 2 σημαντικά ψηφία

204100 \Rightarrow 6 σημαντικά ψηφία

180.00 \Rightarrow 5 σημαντικά ψηφία

1.35 \Rightarrow 3 σημαντικά ψηφία

0.107 \Rightarrow 3 σημαντικά ψηφία

500 \Rightarrow 3 σημαντικά ψηφία

500.0 \Rightarrow 4 σημαντικά ψηφία

$50 \cdot 10^1$ \Rightarrow 2 σημαντικά ψηφία

$5 \cdot 10^2$ \Rightarrow 1 σημαντικό ψηφίο

Στρογγυλοποιήστε τα ακόλουθα κρατώντας μόνο τον αριθμό σημαντικών ψηφίων που δείχνει η παρένθεση:

14.356 **(3)** **14.4**

7.5368 **(2)** **7.5**

152.535 **(3)** **153**

152.535 **(5)** **152.54**

Παράδειγμα

Γράψτε παράδειγμα αριθμού (ένα για κάθε περίπτωση) με τους ακόλουθους αριθμούς δεκαδικών ψηφίων (δψ) και σημαντικών ψηφίων (σψ):

α) με 2 δψ και 4 σψ	35,56
β) με 0 δψ και 3 σψ	539
γ) με 4 δψ και 2 σψ	0,061
δ) με 5 δψ και 5 σψ	0,70923
ε) μεγαλύτερου του 1.000.000 με 3 σψ.	1,67 10 ⁶

Διάδοση και συσσώρευση συστηματικών σφαλμάτων

Ο τρόπος με τον οποίο τα σφάλματα μεταδίδονται και συσσωρεύονται με τους υπολογισμούς (propagation of errors) εξαρτάται από την αριθμητική σχέση μεταξύ του όρου που περιέχει το σφάλμα και της ποσότητας που υπολογίζεται.

Error Propagation in Arithmetic Calculations

Type of Calculation	Example*	Standard Deviation of y
Addition or subtraction	$y = a + b - c$	$s_y = \sqrt{s_a^2 + s_b^2 + s_c^2}$ (1)
Multiplication or division	$y = a \cdot b/c$	$\frac{s_y}{y} = \sqrt{\left(\frac{s_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{s_c}{c}\right)^2}$ (2)
Exponentiation	$y = a^x$	$\frac{s_y}{y} = x \frac{s_a}{a}$ (3)
Logarithm	$y = \log_{10} a$	$s_y = 0.434 \frac{s_a}{a}$ (4)
Antilogarithm	$y = \text{antilog}_{10} a$	$\frac{s_y}{y} = 2.303 s_a$ (5)

Παράδειγμα

Έστω το άθροισμα και οι αντίστοιχες τυπικές αποκλίσεις,
 $+ 0,50 + 4,10 - 1,97 = 2,63$ (+0,02), (-0,03), (-0,05)

$$s_y = \sqrt{(+0,02)^2 + (+0,03)^2 + (-0,05)^2} = 0,06$$

Άρα $y = 2,62 \pm 0,06$

Παράδειγμα: Να βρεθεί το σφάλμα του κάτωθι αποτελέσματος

$$y = \frac{(4,10 \pm 0,02)(0,0050 \pm 0,0001)}{1,97 \pm 0,04} = 0,01041 \pm ?$$

$$s_y / y = \sqrt{\left(\frac{0,02}{4,10}\right)^2 + \left(\frac{0,0001}{0,0050}\right)^2 + \left(\frac{0,04}{1,97}\right)^2} = \pm 0,029$$

$$s_y = y \times (\pm 0,029) = \pm 0,0003$$

$$y = \frac{(4,10 \pm 0,02)(0,0050 \pm 0,0001)}{1,97 \pm 0,04} = 0,01041 \pm 0,0003$$

ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΣΚΕΥΩΝ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΩΝ ΜΕΤΡΗΣΗ

Σκεύος η Όργανο	Μέγεθος	Απόλυτη Ακρίβεια
Αναλυτικός Ζυγός	100gr	$\pm 0,0001$ gr
Απλός Ζυγός	1000gr	$\pm 0,001$ gr
Προχοίδα	50mL	$\pm 0,02$ mL
Σιφώνιο πλήρωσης	5mL	$\pm 0,01$ mL
	10mL	$\pm 0,02$ mL
	25mL	$\pm 0,03$ mL
	50mL	$\pm 0,05$ mL
Ογκομετρικές Φιάλες	25mL	$\pm 0,03$ mL
	50mL	$\pm 0,05$ mL
	100mL	$\pm 0,08$ mL
	250mL	$\pm 0,12$ mL
	500mL	$\pm 0,15$ mL
	1000mL	$\pm 0,30$ mL

Παράδειγμα: Να υπολογισθεί η ακρίβεια του προσδιοριζόμενου τίτλου ενός διαλύματος HCl όταν, κατά την τιτλοδότηση με στερεό Na₂CO₃ παρουσία δείκτη ηλιανθίνης λαμβάνονται τα παρακάτω αποτελέσματα και δεδομένα ακριβείας.

Απόβαρο σκεύους	46,0419 g	± 0,0001
Συνολικό βάρος σκεύους και Na ₂ CO ₃	46,2541 g	± 0,0001
Καθαρή μάζα Na ₂ CO ₃	0,2122 g	
Αλλαγή χρώματος δείκτη		± 0,03 mL
Αρχική ανάγνωση προχοϊδας	0,52 mL	± 0,02 mL
Τελική ανάγνωση προχοϊδας	45,21 mL	± 0,02 mL
Όγκος HCl που καταναλώθηκε	44,69 mL	

Λύση

• Η αβεβαιότητα της ζύγισης εκφράζεται με τη συνδυασμένη τυπική απόκλιση των δύο ζυγίσεων:

$$s' = \sqrt{(0,0001)^2 + (0,0001)^2} = \pm 0,00014g$$

Η συνδυασμένη σχετική τυπική απόκλιση είναι: $s'_r =$

$$\frac{0,00014}{0,2122} 100 = 0,07\%$$

• Η αβεβαιότητα του όγκου του HCl επηρεάζεται από τις αποκλίσεις των δύο αναγνώσεων και την απόκλιση λόγω αλλαγής χρώματος του δείκτη:

$$s'' = \sqrt{(0,02)^2 + (0,02)^2 + (0,03)^2} = \pm 0,041mL$$

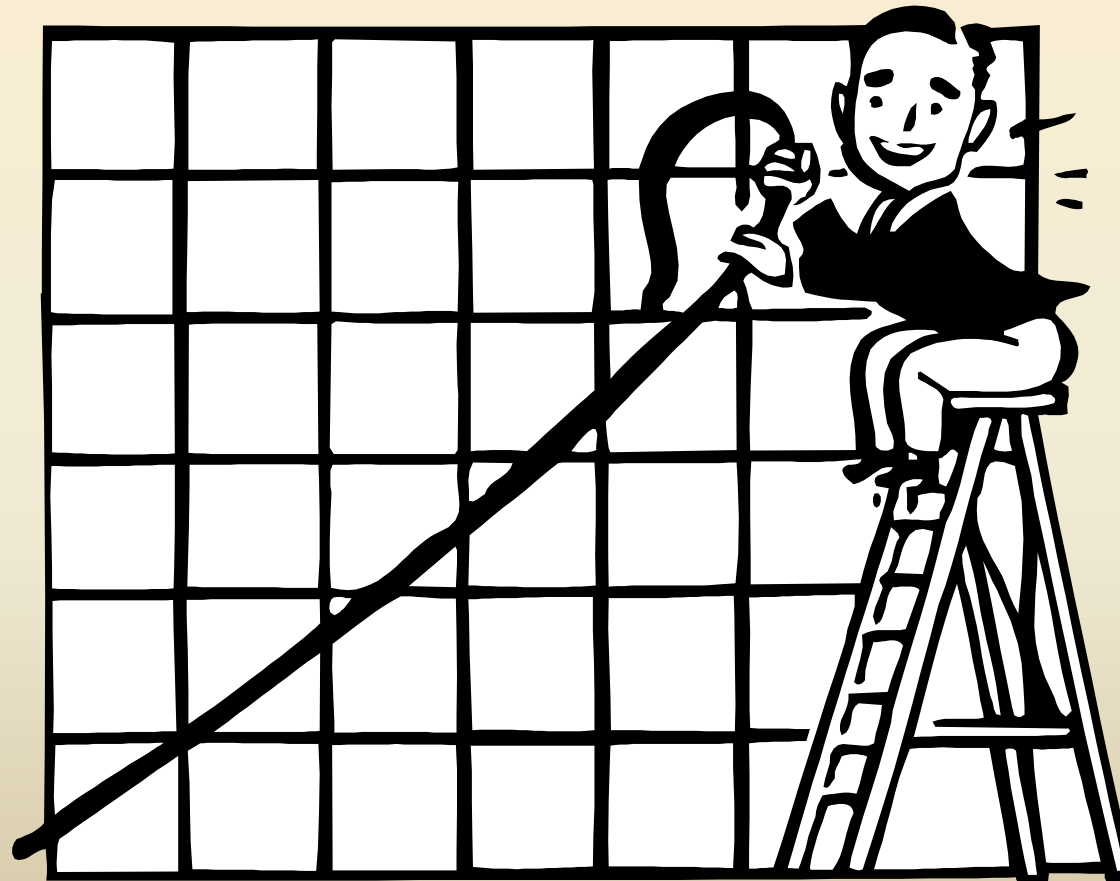
• Η σχετική τυπική απόκλιση είναι:

$$s''_r = \frac{0,041}{44,69} 100 = 0,09\%$$

• Η συνολική αβεβαιότητα του τίτλου του HCl είναι:

$$s_r = \sqrt{(0,07)^2 + (0,09)^2} = \pm 0,1\%$$

*ΓΕΝΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ
ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ
ΑΝΑΛΥΣΗ*



Σχεδόν στο σύνολό τους οι ενόργανες τεχνικές παρέχουν τη μέτρηση μιας φυσικής ή φυσικοχημικής παραμέτρου y η οποία συνδέεται άμεσα ή έμμεσα με την τιμή της επιθυμητής αναλυτικής πληροφορίας που κατά κανόνα είναι η συγκέντρωση C.

Η μετατροπή της μετρούμενης παραμέτρου σε αναλυτική πληροφορία γίνεται με μια από τις τεχνικές ποσοτικοποίησης (quantification techniques).

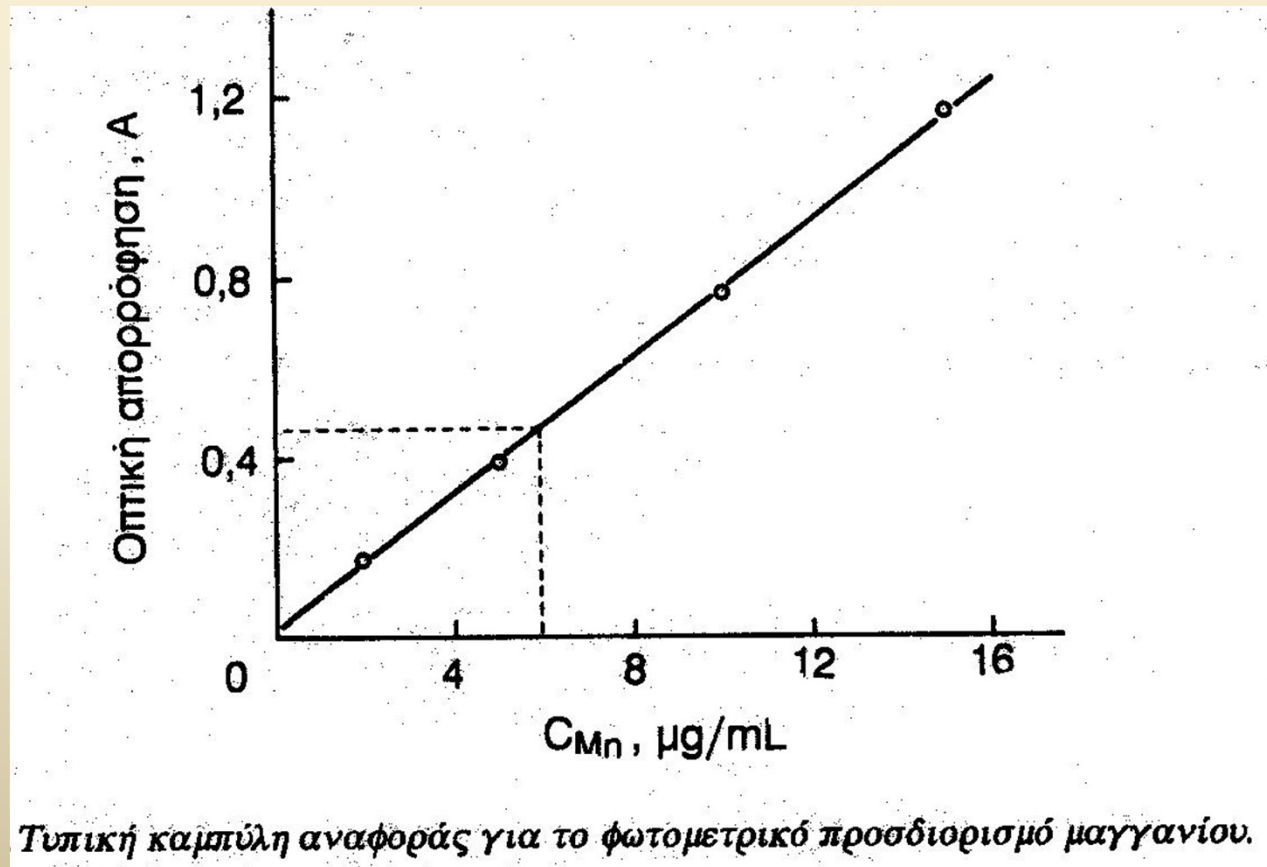
1. ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (CALIBRATION CURVE)
2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΠΟΣΟΤΗΤΑΣ (STANDARD ADDITION)
3. ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ (INTERNAL STANDARD)

ΤΕΧΝΙΚΗ ΚΑΜΠΥΛΗΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (CALIBRATION CURVE TECHNIQUE)

- ✓ Παρασκευή προτύπων δειγμάτων (διαλυμάτων) X_i του προς μέτρηση συστατικού και μετρούνται οι τιμές της αναλυτικής παραμέτρου P_i .
- ✓ Κατασκευάζεται γραφικά σε χιλιοστομετρικούς χάρτες, η καμπύλη αναφοράς, όπου στον άξονα των τεταγμένων τίθενται οι τιμές X_i και στον άξονα των τετμημένων οι τιμές P_i .
- ✓ Ο αριθμός n των μετρήσεων είναι τόσο μεγαλύτερος, όσο μεγαλύτερη είναι η απαιτούμενη αξιοπιστία των τιμών X_i .
- ✓ Χαράζεται η καμπύλη που ορίζεται από τα σημεία (P_i, X_i) . Αν τα σημεία εμφανίζονται με μια φυσιολογική διασπορά η χάραξη γίνεται έτσι ώστε η γραμμή να διέρχεται ανάμεσα από τα πειραματικά σημεία.

Απαγορεύεται η χάραξη τεθλασμένων γραμμών.
Δεν επιτρέπεται η εξαγωγή συμπερασμάτων για δείγματα των οποίων η τιμή της μετρούμενης παραμέτρου P βρίσκεται εκτός των ορίων που ορίζονται από τα πρότυπα.

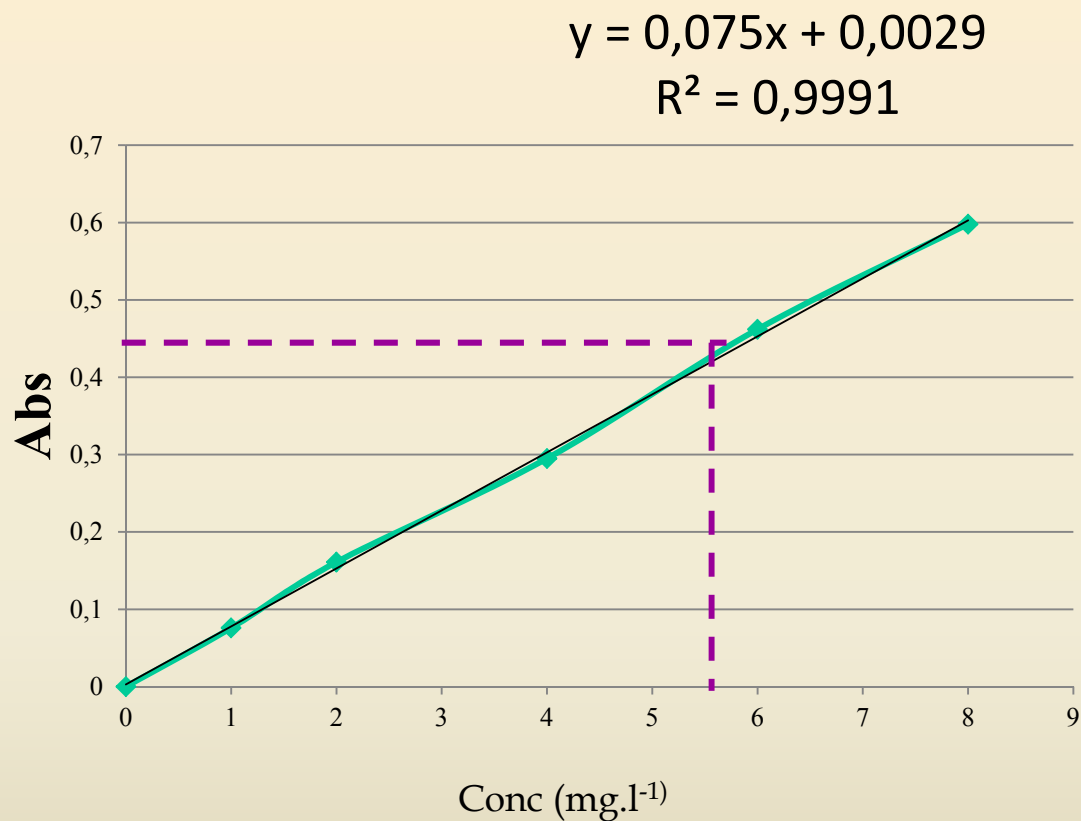
Μετρούμενη παράμετρος είναι η απορρόφηση (A) του διαλύματος Mn (στη μορφή MnO_4^-) σε μήκος κύματος 525 nm και η επιθυμητή αναλυτική πληροφορία είναι η αναλυτική συγκέντρωση του Mn σε $\mu\text{g/mL}$ (ρ_{Mn}). Σημειώνεται η χρησιμοποίηση μικρών κύκλων για την ευκρινή παρουσίαση των θέσεων των πειραματικών σημείων. Η απορρόφηση του άγνωστου διαλύματος είναι $0,465$ που μέσω της καμπύλης αναφοράς οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η συγκέντρωση Mn στο άγνωστο διάλυμα είναι $5,9\ \mu\text{g/mL}$.



Παράδειγμα 1

Διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης Cr^{6+} φωτομετρήθηκαν σε συγκεκριμένο μήκος κύματος και λήφθηκαν τα παρακάτω πειραματικά δεδομένα. Η απορρόφηση αγνώστου δείγματος μετρήθηκε 0.416. Να υπολογίσετε τη συγκέντρωση του αγνώστου μέσω της καμπύλης αναφοράς.

Συγκέντρωση / mg.l^{-1}	Απορρόφηση
0	0.000
1	0.076
2	0.161
4	0.295
6	0.462
8	0.598
άγνωστο	0.416



$$y = 0.0750x + 0.0029$$

$$\text{Abs} = (0.0750 \times \text{Conc}) + 0.0029$$

$$\text{Conc} = (\text{Abs} - 0.0029) / 0.0750$$

Για το άγνωστο :

$$\text{Conc} = (0.416 - 0.0029) / 0.0750$$

$$\text{Conc} = 5.51 \text{mg.l}^{-1}$$

Επιβεβαιώστε με την καμπύλη αναφοράς!!

Για την αντικειμενική χάραξη της καλύτερης καμπύλης (ευθείας) => ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ

Εξίσωση ευθείας:

$$y = ax + \beta$$

Όπου a = κλίση και b = σημείο τομής στον y άξονα

Πρέπει λοιπόν να υπολογίσουμε τα a και β για ένα σύνολο σημείων

Σημεία = (x_i, y_i) για $i = 1$ έως n

(n = συνολικός αριθμός σημείων)

$$a = \frac{n \sum (x_i y_i) - \sum x_i \sum y_i}{n \sum (x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

$$\beta = \frac{n \sum (x_i^2) \sum y_i - \sum (x_i y_i) \sum x_i}{n \sum (x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Συντελεστής συσχέτισεως (CORRELATION COEFFICIENT)

Το μέτρο της καλής προσαρμογής μεταξύ των δύο μεταβλητών x και y , δίδεται από τον συντελεστή συσχέτισεως (correlation coefficient) r .

$$r = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{[n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}}$$

$r = 1 \Rightarrow$ Ακριβής σχέση μεταξύ των δύο μεταβλητών

$r = 0 \Rightarrow$ Πλήρης ανεξαρτησία των μεταβλητών

Γενικά: $0.90 < r < 0.95 \Rightarrow$ ικανοποιητική καμπύλη

$0.95 < r < 0.99 \Rightarrow$ καλή καμπύλη

$r > 0.99 \Rightarrow$ πολύ καλή γραμμικότητα

Παράδειγμα 1

x_i	y_i	$x_i y_i$	x_i^2
0	0.000	0	0
1	0.076	0.076	1
2	0.161	0.322	4
4	0.295	1.180	16
6	0.462	2.772	36
8	0.598	4.784	64
$\Sigma x_i = 21$	$\Sigma y_i = 1.592$	$\Sigma x_i y_i = 9.134$	$\Sigma (x_i^2) = 121$

Κλίση:

$$a = \frac{n \sum (x_i y_i) - \sum x_i \sum y_i}{n \sum (x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

$$\alpha = 0,075$$

σημείο τομής-y:

$$\beta = \frac{\sum (x_i^2) \sum y_i - \sum (x_i y_i) \sum x_i}{n \sum (x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

$$\beta = 0,0029$$

Παράδειγμα 1

x_i	y_i	$x_i y_i$	x_i^2	y_i^2
0	0.000	0	0	0.000
1	0.076	0.076	1	0.00578
2	0.161	0.322	4	0.0259
4	0.295	1.180	16	0.0870
6	0.462	2.772	36	0.213
8	0.598	4.784	64	0.358
$\Sigma x_i = 21$	$\Sigma y_i = 1.592$	$\Sigma x_i y_i = 9.134$	$\Sigma(x_i^2) = 121$	$\Sigma(y_i^2) = 0.690$

Συντελεστής συσχέτισης:

$$r = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{\sqrt{[n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2][n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2]}}$$

$$r = \frac{(6)(9.134) - (21)(1.592)}{\sqrt{\{(6)(121) - (21)^2\}\{(6)(0.690) - (1.592)^2\}}}$$
$$r = 0.999$$

Παράδειγμα

Να βρεθεί η εξίσωση, που προσαρμόζεται στα παρακάτω πειραματικά δεδομένα, μιας φωτομετρικής αναλύσεως, ο συντελεστής r και η συγκέντρωση ενός αγνώστου διαλύματος που έχει απορρόφηση $A=0.325$.

x (Συγκέντρωση C , ppm)	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
P (Απορρόφηση A)	0.124	0.240	0.348	0.516	0.612

Η εξίσωση της καμπύλης είναι $A = \alpha C + \beta$

Υπολογίζουμε τις τιμές x_i^2 , P_i^2 , $x_i P_i$

n	x_i	y_i	x_i^2	y_i^2	$x_i y_i$
1	1.00	0.124	1.00	0.015376	0.124
2	2.00	0.240	4.00	0.057600	0.480
3	3.00	0.348	9.00	0.121104	1.044
4	4.00	0.516	16.00	0.266256	2.064
5	5.00	0.612	25.00	0.374544	3.060
	$\Sigma x_i = 15$	$\Sigma y_i = 1.840$	$\Sigma x_i^2 = 55$	$\Sigma y_i^2 = 0.834880$	$\Sigma x_i y_i = 6.772$

$$\text{Κλίση, } \alpha = \frac{(5 \times 6.772) - (15 \times 1.840)}{(5 \times 55) - (15)^2} = 0.1252 \quad \text{τομή, } \beta = \frac{(55 \times 1.840) - (15 \times 6.772)}{(5 \times 55) - (15)^2} = -0.0076$$

$$r = \frac{6.260}{\sqrt{50 \times [(5 \times 0.834880) - (1.840)^2]}} = 0.997, \text{ άρα } A = 0.1252C - 0.0076 \text{ και } C = 2.66 \text{ ppm.}$$

ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ (STANDARD ADDITION)

- Στη μέθοδο γνωστής προσθήκης, γνωστές ποσότητες αναλύτη προστίθενται στο άγνωστο. Από την αύξηση του σήματος υπολογίζεται η ποσότητα του αναλύτη στο άγνωστο.
- Η τεχνική προϋποθέτει την ύπαρξη όχι απλώς γραμμικής αλλά αναλογικής σχέσεως μεταξύ της μετρούμενης παραμέτρου και της επιθυμητής αναλυτικής πληροφορίας.
- Η μέθοδος είναι κατάλληλη όταν η σύσταση του δείγματος είναι άγνωστη ή πολύπλοκη και επηρεάζει το αναλυτικό σήμα.
- Η μήτρα είναι το σημαντικότερο από όλα στο δείγμα εκτός του αναλύτη. **Επίδραση μήτρας** είναι η μεταβολή στο αναλυτικό σήμα που προκαλείται από οτιδήποτε άλλο στο δείγμα, πέραν του αναλύτη.

Έστω ότι ένα δείγμα με άγνωστη αρχική συγκέντρωση αναλύτη $[X]_i$ δίνει ένταση σήματος I_x . Κατόπιν, μια γνωστή συγκέντρωση προτύπου S , προστίθεται σε ένα κλάσμα του δείγματος και το διάλυμα αυτό δίνει σήμα I_{s+x} . Η προσθήκη του προτύπου στο άγνωστο μεταβάλλει τη συγκέντρωση του αρχικού αναλύτη λόγω της αραίωσης. Ας ονομάσουμε την αραιωμένη συγκέντρωση του αναλύτη $[X]_f$. Ορίζουμε τη συγκέντρωση του προτύπου στο τελικό διάλυμα ως $[S]_f$. Το σήμα είναι ευθέως ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη

$$\frac{\text{Συγκέντρωση του αναλύτη στο αρχικό διάλυμα}}{\text{Συγκέντρωση του αναλύτη και του προτύπου στο τελικό διάλυμα}} = \frac{\text{Σήμα από το αρχικό διάλυμα}}{\text{Σήμα από το τελικό διάλυμα}}$$

Εξίσωση γνωστής προσθήκης

$$\frac{[X]_i}{[S]_f + [X]_f} = \frac{I_x}{I_{s+x}} \quad (1)$$

Για αρχικό όγκο V_0 του αγνώστου και προστιθέμενο όγκο V_s του προτύπου με συγκέντρωση $[S]_i$, ο ολικός όγκος είναι $V = V_0 + V_s$ και οι συγκεντρώσεις στην παραπάνω εξίσωση είναι:

$$[X]_f = [X]_i \left(\frac{V_0}{V} \right) \quad [S]_f = [S]_i \left(\frac{V_s}{V} \right) \quad (2)$$

Παράδειγμα- μέθοδος γνωστής προσθήκης

Ορός που περιέχει Na^+ δίνει σήμα 4.27 mV, σε μία ανάλυση ατομικής εκπομπής. Έπειτα 5.00 mL από 2.08 M NaCl προστίθενται σε 95 mL ορού. Ο εμβολιασμένος ορός δίνει σήμα 7.98 mV. Βρείτε την αρχική συγκέντρωση του Na^+ στον ορό.

Λύση

Η τελική συγκέντρωση του Na^+ μετά την αραίωση με το πρότυπο είναι:

$$[X]_f = [X]_i (V_0 / V) = [X]_i (95,0 \text{ mL}/100,0 \text{ mL})$$

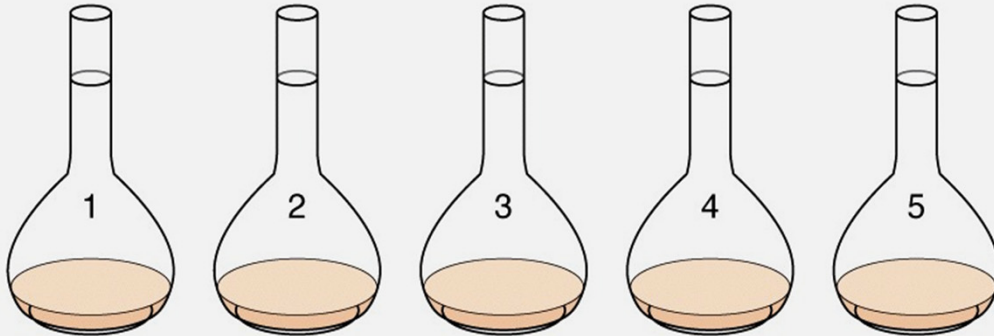
Η τελική συγκέντρωση του προστιθέμενου προτύπου είναι :

$$[S]_f = [S]_i (V_s / V) = (2,08 \text{ M}) (5,00 \text{ mL}/ 100,0 \text{ mL}) = 0, 104 \text{ M.}$$

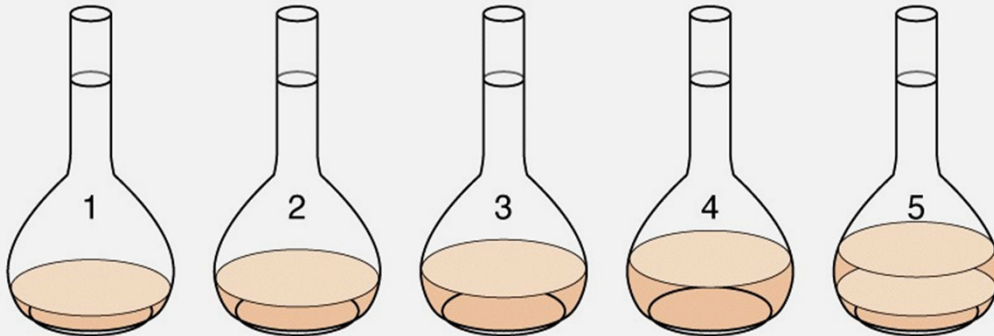
$$\frac{[Na^+]_i}{[0,104M] + 0,950[Na^+]_i} = \frac{4,27mV}{7,98mV} \Rightarrow [Na^+]_i = 0,113M$$

Γραφική προσέγγιση της μεθόδου γνωστής προσθήκης

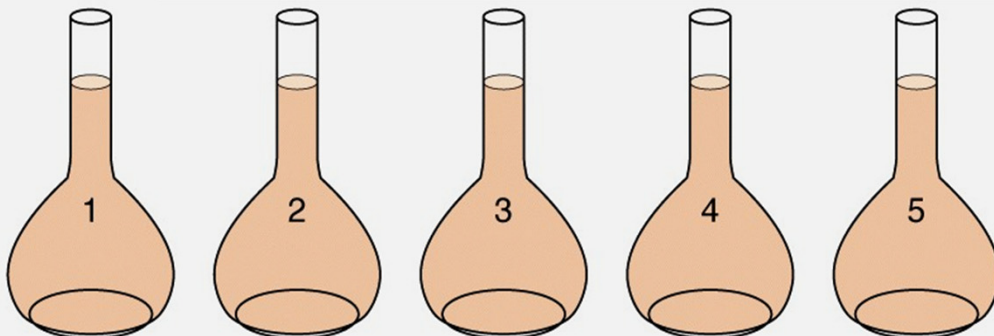
Εισάγονται 5 mL αγνώστου σε κάθε φιάλη



Προστίθενται 0, 5, 10, 15 ή 20 mL προτύπου



Οι φιάλες γεμίζονται μέχρι τη γραμμή των 50 mL και ανακινούνται



Πείραμα γνωστής προσθήκης με σταθερό τελικό όγκο

Προσθέστε ποσότητα προτύπου διαλύματος τέτοια ώστε το σήμα να αυξηθεί περίπου 1.5 με 3 φορές σε σύγκριση με το αρχικό διάλυμα.

Αναλύστε όλα τα διαλύματα.

Η μέθοδος αυτή είναι απαραίτητη όταν η ανάλυση καταναλώνει αρκετό από το διάλυμα.

Εάν η ανάλυση δεν καταναλώνει διάλυμα, τότε δεν πρέπει να παρασκευάζονται μεμονωμένα δείγματα για κάθε μέτρηση. Σε αυτή την περίπτωση, αρχικά μετριέται το αναλυτικό σήμα του άγνωστου διαλύματος. Στη συνέχεια προστίθεται μικρός όγκος πυκνού προτύπου και μετριέται το σήμα ξανά.

Προστίθενται μερικές φορές ακόμη μικροί όγκοι προτύπου και το σήμα μετριέται ύστερα από κάθε προσθήκη.

Το πρότυπο πρέπει να είναι πυκνό, ώστε να προστίθενται μικροί όγκοι, και η μήτρα του δείγματος να μην μεταβάλλεται πολύ.

Παράδειγμα

Δεδομένα από πείραμα μέτρησης ασκορβικού οξέος (βιταμίνη C) σε χυμό πορτοκαλιού με ηλεκτροχημική μέθοδο. Το ρεύμα μεταξύ ενός ζεύγους ηλεκτροδίων που βυθίζονται στον χυμό είναι ανάλογο με την συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος. Οχτώ γνωστές προσθήκες αυξάνουν το ρεύμα από 1,78 σε 5,82 μA (στήλη C), που είναι στο άνω άκρο του επιθυμητού εύρους αύξησης 1,5 με 3 φορές το αναλυτικό σήμα.

	A	B	C	D	E
1	Πείραμα γνωστής προσθήκης βιταμίνης C				
2	Προσθήκη 0,279 M ασκορβικού οξέος σε χυμό πορτοκαλιού				
3					
4		$V_s =$			
5	V_o (mL) =	mL ασκορβικού οξέος	$I(s+x) =$	συνάρτηση άξονα x	συνάρτηση άξονα y
6	50	που προστίθεται	σήμα(μA)	$S_i * V_s / V_o$	$I(s+x) * V / V_o$
7	[S]I (mM) =	0,000	1,78	0,000	1,780
8	279	0,050	2,00	0,279	2,002
9		0,250	2,81	1,395	2,824
10		0,400	3,35	2,232	3,377
11		0,550	3,88	3,069	3,923
12		0,700	4,37	3,906	4,431
13		0,850	4,86	4,743	4,943
14		1,000	5,33	5,580	5,437
15		1,150	5,82	6,417	5,954
16					
17	$D7 = A8 * B7 / A6$		$E7 = C7 * (A6 + B7) / A6$		

Γραφική προσέγγιση των δεδομένων του πειράματος γνωστής προσθήκης. Οι γνωστές προσθήκες πρέπει να αυξάνουν το αναλυτικό σήμα κατά 1,5 ως 3 φορές την αρχική του τιμή (δηλαδή, B = 0,5 A ως 2 A).

Για διαδοχικές γνωστές προσθήκες σε ένα διάλυμα:

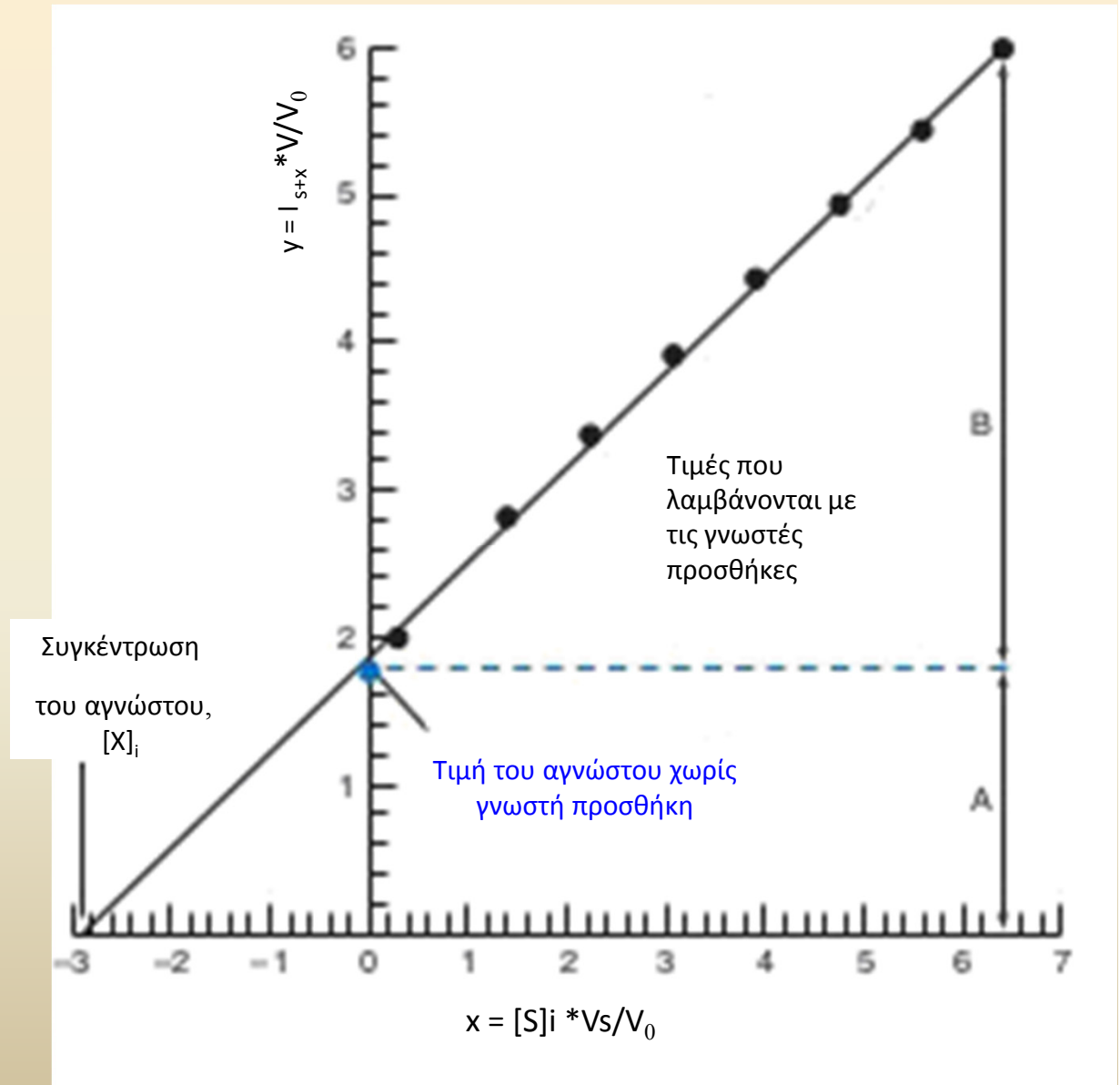
$$I_{s+x} \left(\frac{V}{V_0} \right) = I_x + \frac{I_x}{[X]_i} [S]_i \left(\frac{V_s}{V_0} \right)$$

συνάρτηση στον άξονα y

συνάρτηση στον άξονα x

Για σταθερό ολικό όγκο, σχεδιάζεται η γραφική παράσταση του σήματος I_{s+x} ως προς τη συγκέντρωση του αραιωμένου προτύπου $[S]_i$.

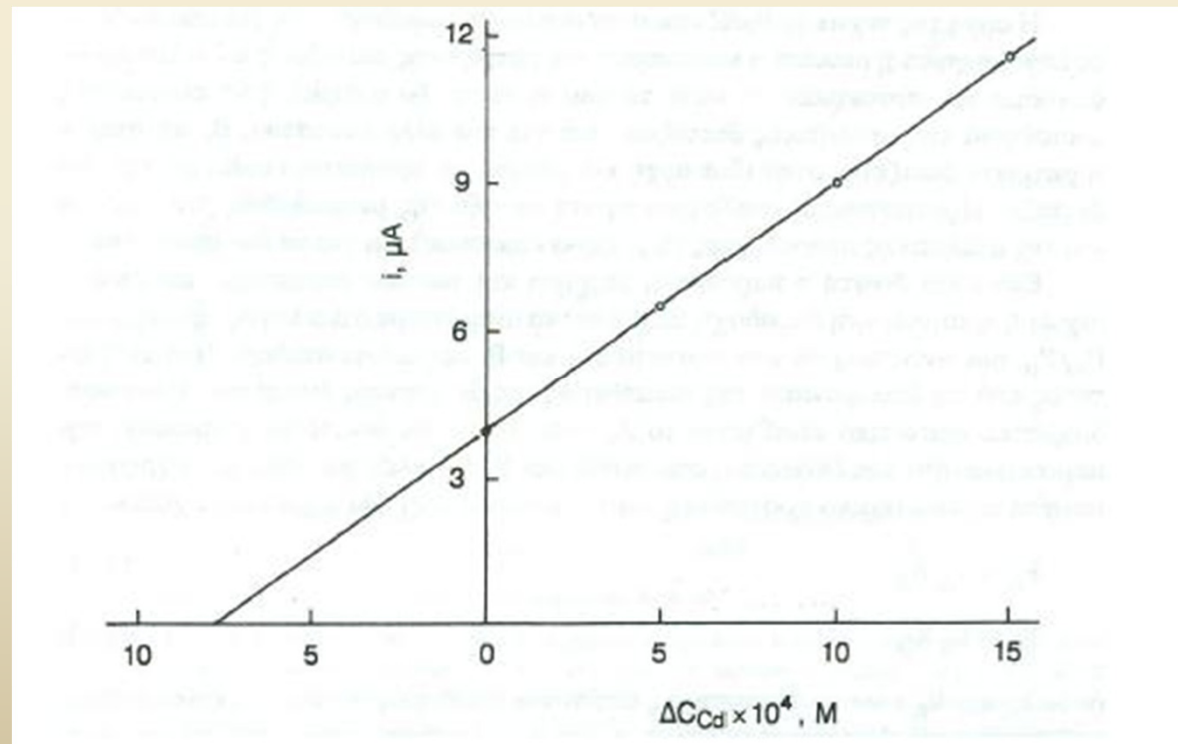
Σε αυτή την περίπτωση, το σημείο τομής στον άξονα x του γραφήματος είναι η τελική συγκέντρωση του αγνώστου, $[X]_f$, μετά την αρραίωση στον τελικό όγκο δείγματος.



Παράδειγμα

Να υπολογισθεί η συγκέντρωση καδμίου σε διάλυμα Χ (σε $\mu\text{g/mL}$), από τα παρακάτω δεδομένα μιας πολαραγραφικής αναλύσεως. Να χρησιμοποιηθεί η γραφική μέθοδος.

Διάλυμα (+ αύξηση συγκεντρώσεως, M)	Οριακό ρεύμα διαχύσεως, μA
Χ	2.3
$\text{X} + 5.00 \times 10^{-4}$	3.7
$\text{X} + 10.00 \times 10^{-4}$	5.1
$\text{X} + 15.00 \times 10^{-4}$	6.6



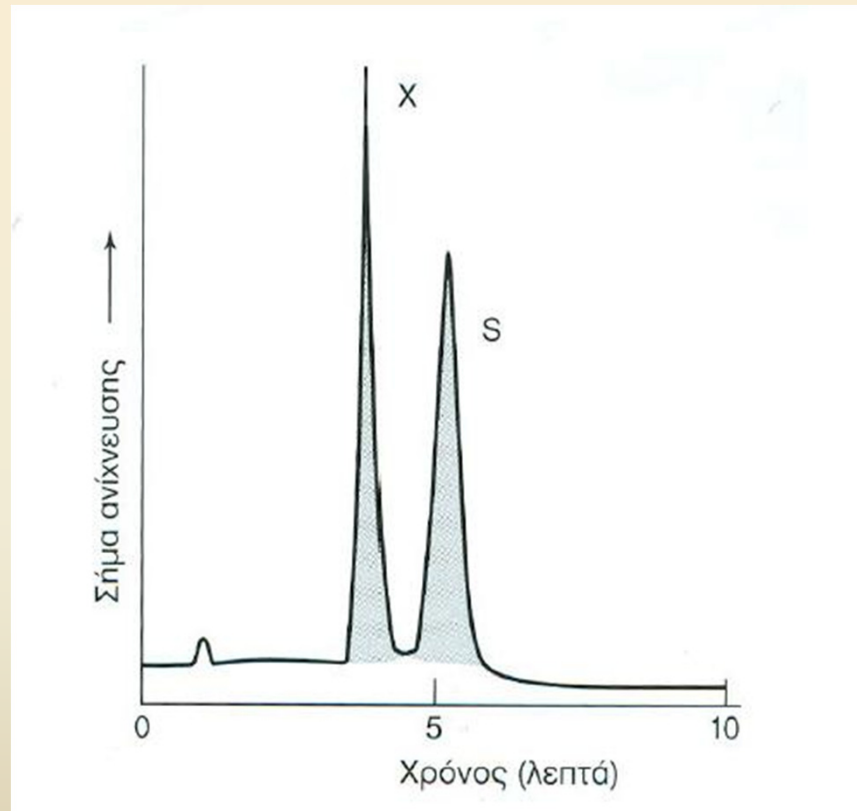
ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ

Εσωτερικό πρότυπο: Γνωστή ποσότητα κάποιας ένωσης διαφορετικής από τον αναλύτη, η οποία προστίθεται στο άγνωστο

- Το σήμα από τον αναλύτη συγκρίνεται με το σήμα από το εσωτερικό πρότυπο κατά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του αναλύτη
- Χρήσιμα σε αναλύσεις στις οποίες η ποσότητα του δείγματος που αναλύεται, ή η απόκριση του οργάνου, διαφέρει από μέτρηση σε μέτρηση, για λόγους που δεν μπορούν να ρυθμιστούν.
- Χρήσιμα όταν παρατηρείται απώλεια δείγματος στα στάδια προετοιμασίας του δείγματος, πριν την ανάλυση. Όταν μια γνωστή ποσότητα προτύπου προστίθεται στο άγνωστο πριν από οποιοδήποτε χειρισμό, η αναλογία του προτύπου προς τον αναλύτη παραμένει σταθερή, καθώς η απώλεια και στα δύο είναι ίδια.
- Για την εφαρμογή της μεθόδου εσωτερικού προτύπου παρασκευάζεται ένα γνωστό μείγμα προτύπου και αναλύτη και μετριέται η σχετική απόκριση στις δύο ουσίες.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ

- Στο χρωματογράφημα που προκύπτει το εμβαδόν κάθε κορυφής είναι ανάλογο της συγκέντρωσης κάθε ουσίας που εισάγεται στην στήλη. Ωστόσο, ο ανιχνευτής εμφανίζει διαφορετική απόκριση για κάθε ουσία.



Χρωματογραφικός διαχωρισμός του αγνώστου (X) και του προτύπου (S). Μια γνωστή συγκέντρωση του S προστίθεται στο άγνωστο. Από τα σχετικά εμβαδά των κορυφών του X και S υπολογίζεται η συγκέντρωση του X στο μείγμα. Απαραίτητη είναι η πρωταρχική μέτρηση της σχετικής απόκρισης του ανιχνευτή σε κάθε ουσία.

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΥ ΠΡΟΤΥΠΟΥ

Αν οι συγκεντρώσεις τόσο του αναλύτη (X) όσο και του εσωτερικού προτύπου (S) είναι 10,0 mM, το εμβαδόν της κορυφής του αναλύτη μπορεί να είναι 2,30 φορές μεγαλύτερο από το εμβαδόν της κορυφής του προτύπου. Τότε λέμε ότι ο παράγοντας απόκρισης, F, είναι 2,30 φορές μεγαλύτερος για το X από ότι για το S.

Παράγοντας απόκρισης:

$$\frac{\text{Εμβαδόν σήματος αναλύτη}}{\text{Συγκέντρωση αναλύτη}} = F \frac{\text{εμβαδόν σήματος προτύπου}}{\text{συγκέντρωση προτύπου}}$$

[X] και [S] είναι οι συγκεντρώσεις του αναλύτη και του προτύπου μετά την ανάμειξή τους. Η εξίσωση για τον παράγοντα απόκρισης προϋποθέτει ότι η απόκριση στον αναλύτη και στο πρότυπο είναι γραμμική.

Παράδειγμα

Σε ένα προκαταρτικό πείραμα, ένα διάλυμα που περιέχει 0,0837 M X και 0,0666 M S δίνει κορυφές με εμβαδά $A_X = 423$ και $A_S = 347$. (Τα εμβαδά μετριοούνται σε αυθαίρετες μονάδες από τον υπολογιστή του οργάνου). Για την ανάλυση του αγνώστου, 10,0 mL από 0,146 M S προστίθενται σε 10,0 mL αγνώστου και το μείγμα αραιώνεται στα 25,0 mL σε ογκομετρική φιάλη. Το μείγμα δίνει το εξής χρωματογράφημα για το οποίο τα εμβαδά των κορυφών είναι $A_X = 553$ και $A_S = 582$. Βρείτε τη συγκέντρωση του X στο άγνωστο.

Αρχικά χρησιμοποιούμε το πρότυπο μείγμα για να βρούμε τον παράγοντα απόκρισης

από την αντίστοιχη εξίσωση:

Πρότυπο μείγμα:

$$\frac{A_X}{[X]} = F \left(\frac{A_S}{[S]} \right)$$

$$\frac{423}{0,0837} = F \left(\frac{347}{0,0666} \right) \Rightarrow F = 0,97$$

$$[S] = (0,146M) \left(\frac{10,0}{25,0} \right) = 0,0584M$$

Γνωρίζοντας τον παράγοντα απόκρισης, αντικαθιστούμε στην εξίσωση για να βρούμε τη συγκέντρωση του αγνώστου στο μείγμα:

$$\frac{A_X}{[X]} = F \left(\frac{A_S}{[S]} \right)$$

$$\frac{553}{[X]} = 0,97 \left(\frac{582}{0,0584} \right) \Rightarrow [X] = 0,0572 M$$

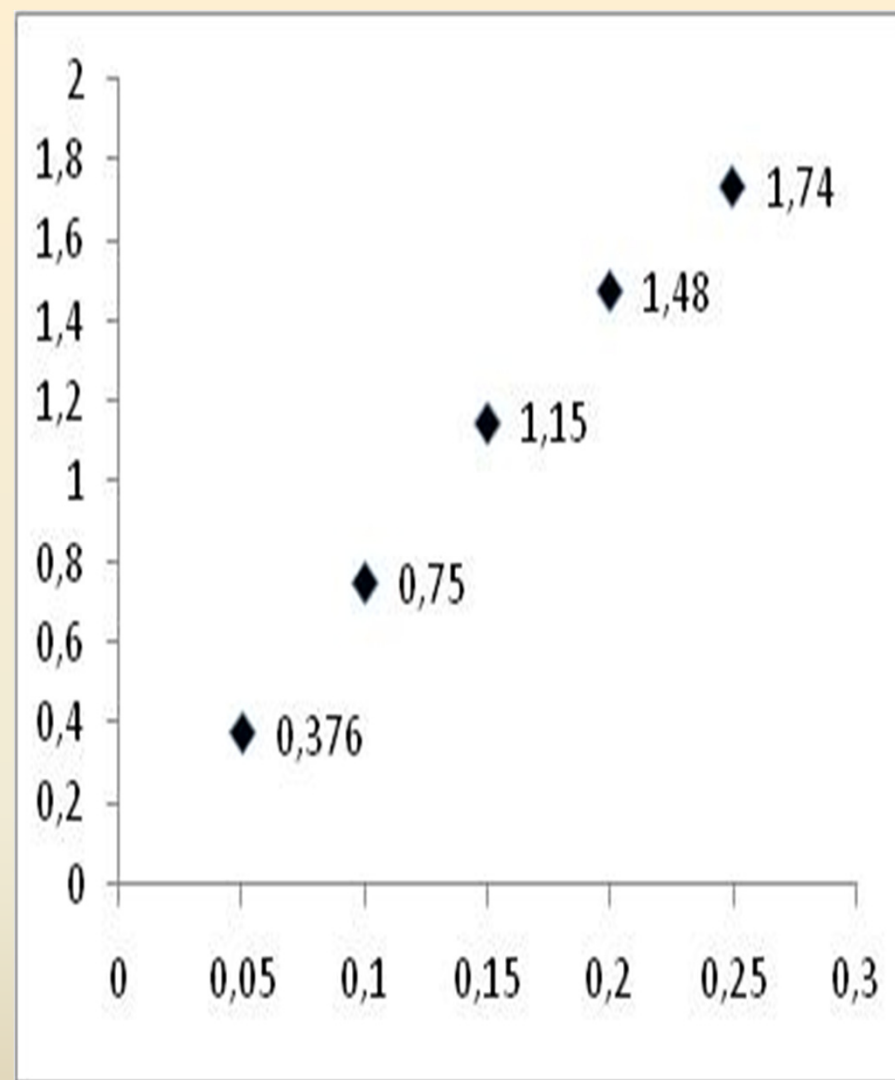
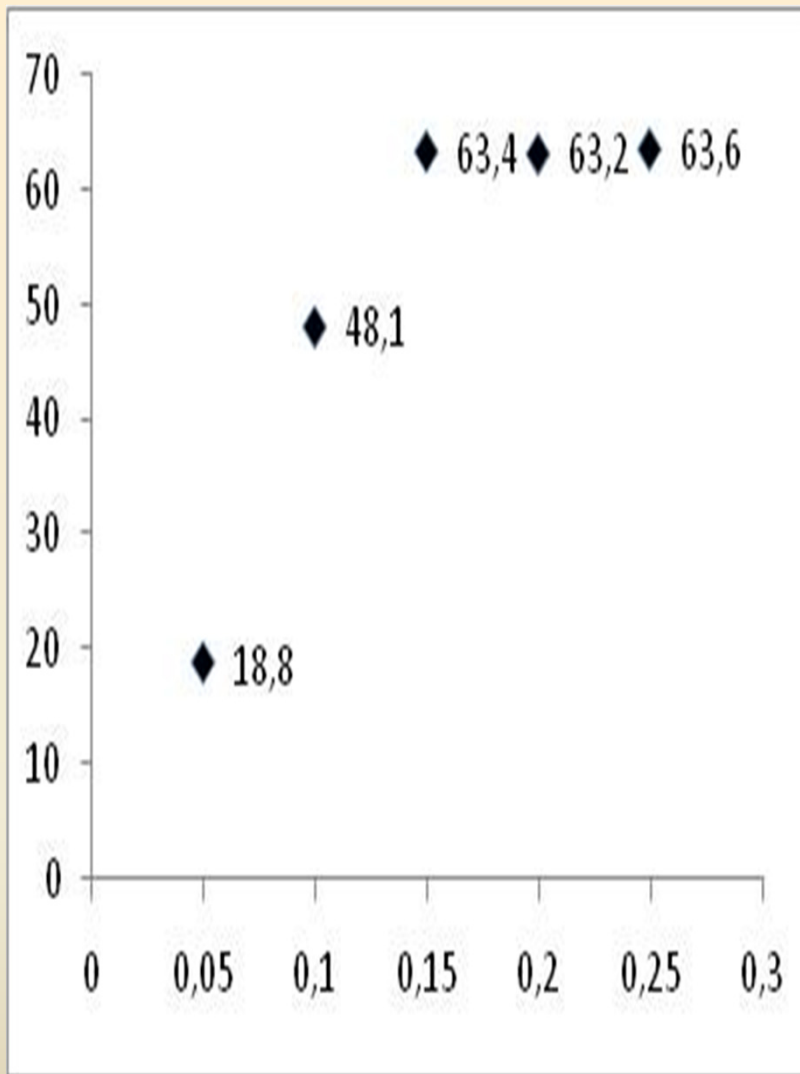
Επειδή το X αραιώνεται από τα 10,0 στα 25,0 mL κατά την ανάμειξή του με το S, η αρχική συγκέντρωση του X στο άγνωστο είναι

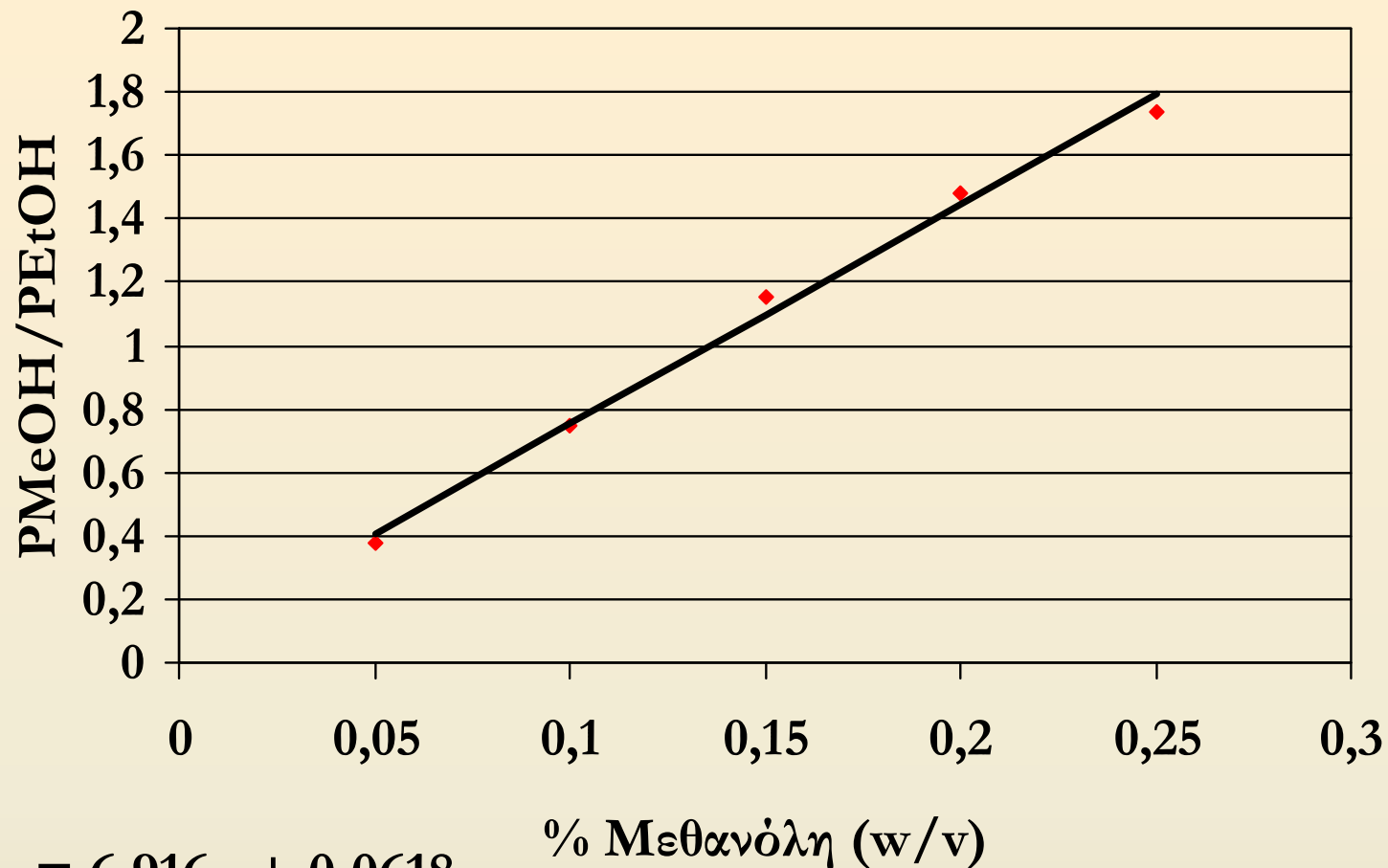
$$(25,0 \text{ mL} / 10,0 \text{ mL}) (0,0572 M) = 0,143 M$$

Παράδειγμα

Ο προσδιορισμός της μεθανόλης σε αλκοολούχα σκευάσματα μπορεί να γίνει με αέριο χρωματογράφο χρησιμοποιώντας αιθανόλη ως εσωτερικό πρότυπο. Το άγνωστο διάλυμα καθώς και τα πρότυπα διαλύματα περιέχουν 0,1% (w/v). Τα αποτελέσματα των αναλύσεων έδωσαν:

<u>% w/v</u> <u>MeOH</u>	<u>Ύψος κορυφής</u> <u>MeOH</u>	<u>Ύψος κορυφής</u> <u>EtOH</u>	<u>PMeOH/PEtOH</u>
0,050	18,8	50,0	0,376
0,100	48,1	64,1	0,750
0,150	63,4	55,1	1,480
0,200	63,2	42,7	1,740
0,250	93,6	53,8	1,190
Άγνωστο X	58,9	49,4	0,376





$$y = 6,916x + 0,0618$$

$$R^2 = 0,9939$$

Κατασκευάζεται καμπύλη αναφοράς με τις τιμές του λόγου των σημάτων PMeOH/PEtOH και τις τιμές % w/v MeOH. Με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων προσδιορίζεται η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς και από την τιμή του λόγου των κορυφών του αγνώστου (y), προσδιορίζεται η άγνωστη συγκέντρωση (% w/v)