



## 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»*

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η Χημική Ανάλυση παρουσιάζει τεράστια επιστημονική και πρακτική σημασία και αποτελεί έναν από τους πλέον ενδιαφέροντες κλάδους της εφαρμοσμένης χημείας, για τη μελέτη των ενώσεων και των μεταβολών που αυτές παρουσιάζουν. Επίσης, είναι γνωστός ο σημαντικός της ρόλος σε τομείς της επιστήμης που συνδέονται με τη χημεία όπως: *Ορυκτολογία, Γεωλογία, Φυσιολογία, Μικροβιολογία, Ιατρική, Κλινική Χημεία, Φαρμακευτική Χημεία και Περιβαλλοντική Χημεία*. Η Χημική Ανάλυση αναπτύσσει και εφαρμόζει μεθόδους, όργανα και στρατηγικές για να δώσει πληροφορίες σχετικά με τη σύσταση, τη φύση και την ποσότητα υλικών στο χώρο. Ειδικότερα, ασχολείται με το διαχωρισμό, την ταυτοποίηση και τον καθορισμό των ποσοτήτων των συστατικών σε ένα δείγμα.

Η ταξινόμηση των αναλυτικών μεθόδων μπορεί να γίνει με βάση τα εξής κριτήρια:

Τη μάζα του αναλυόμενου δείγματος. Οι μέθοδοι διακρίνονται σε:

- **Μακρο-**, όταν  $m > 100 \text{ mg}$
- **Ημιμικρο-**, όταν  $m = 10-100\text{mg}$
- **Μικρο-**, όταν  $m = 1-10 \text{ mg}$
- **Υπερμικρο-**, όταν  $m < 1 \text{ mg}$

Τις συνέπειες στην αρχική μορφή του δείγματος. Οι αναλυτικές μέθοδοι μπορεί να είναι

**καταστρεπτικές** αν απαιτούν την διαλυτοποίηση του δείγματος ή **μη καταστρεπτικές** αν αφήνουν το δείγμα στην αρχική του μορφή.

Τη μετρούμενη ιδιότητα του δείγματος. Διακρίνονται σε **κλασικές** και **ενόργανες** μεθόδους.

Τον αυτοματισμό τους. Διακρίνονται σε **συνεχείς** ή **ασυνεχείς** ανάλογα με την ανθρώπινη παρέμβαση κατά τη διάρκεια της ανάλυσης. Οι εξελίξεις της τεχνολογίας επιτρέπουν σήμερα τη χρήση αυτόματων αναλυτών, συνδυασμένων οργάνων και ρομποτικών συστημάτων περιορίζοντας τον χρόνο της ανάλυσης και την πιθανότητα ανθρώπινου λάθους.

## **Ταξινόμηση Αναλυτικών Μεθόδων με Βάση τη Μετρούμενη Ιδιότητα του Δείγματος – Αναλυτικές Τεχνικές**

Η αξιοποίηση κάποιου φυσικού ή χημικού φαινομένου στη χημική ανάλυση για παροχή ποιοτικών ή και ποσοτικών πληροφοριών σχετικά με την χημική σύσταση ορίζεται ως **αναλυτική τεχνική** (analytical technique). Σε αντιπαράθεση, **αναλυτική μέθοδος** (analytical method) είναι η *εφαρμογή* μιας αναλυτικής τεχνικής για την επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος.

Οι αναλυτικές τεχνικές ταξινομούνται ανάλογα με τον τρόπο μέτρησης μιας φυσικής ή

φυσικοχημικής ιδιότητας του δείγματος, η οποία σχετίζεται με τη φύση, τη μάζα ή τη συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ουσίας (του αναλυτή).

Οι «**κλασικές τεχνικές**» υποδιαιρούνται σε σταθμικές και ογκομετρικές αναλυτικές τεχνικές. Στη σταθμική ανάλυση γίνεται μέτρηση της μάζας του ιζήματος που προκύπτει από τον αναλυτή με τη βοήθεια κατάλληλου αντιδραστηρίου καταβύθισης. Στην ογκομέτρηση, μετρείται ο όγκος του πρότυπου διαλύματος, που απαιτείται για την πλήρη αντίδραση του αναλυτή. Οι **ενόργανες τεχνικές ανάλυσης** χρησιμοποιούν συνήθως πολύπλοκες διατάξεις για την μέτρηση φυσικών μεγεθών, όπως την ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, διαφορά δυναμικού (ηλεκτρόλυση) κλπ. Οι κλασικές και ενόργανες τεχνικές ανάλυσης δε λειτουργούν ανταγωνιστικά αλλά αλληλοσυμπληρώνονται. Ο καλός αναλυτικός χημικός θα πρέπει να συνδυάζει την επιδεξιότητα που απαιτεί η κλασική ανάλυση και τη γνώση των δυνατοτήτων της ενόργανης ανάλυσης.

## **Ταξινόμηση Αναλυτικών Μεθόδων με Βάση τις Εφαρμογές Ανάλυσης**

Ανάλογα με της εφαρμογές της χημικής ανάλυσης μπορούμε να διακρίνουμε:

### **Ανάλυση περιεκτικότητας**

Περιλαμβάνει **ποιοτική ανάλυση** για τον προσδιορισμό του είδους των συστατικών στο δείγμα (άτομα, ιόντα, ρίζες, μόρια) και **ποσοτική ανάλυση** με σκοπό τον ακριβή προσδιορισμό και μέτρηση ενός ή περισσότερων συστατικών του δείγματος.

### **Ανάλυση δομής**

Σε αυτές τις αναλύσεις προσδιορίζεται ο τρόπος και η σειρά που συνδέονται τα άτομα ή οι χαρακτηριστικές ομάδες στο μόριο μιας ένωσης. Τέτοιου είδους αναλύσεις επιτυγχάνονται με χρήση ενόργανων τεχνικών, όπως η φασματοφωτομετρία υπεριώδους (UV), η φασματομετρία μάζας (MS) και η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR).

## **ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

### **ΓΕΝΙΚΟΤΗΤΕΣ**

Τα αποτελέσματα μιας ποσοτικής χημικής ανάλυσης (και γενικότερα κάθε ποσοτικής μέτρησης) είναι συνήθως υπό τη μορφή σειρών αριθμητικών δεδομένων, που αντιπροσωπεύουν επαναλαμβανόμενους προσδιορισμούς (μετρήσεις), που έγιναν κατά το δυνατόν κάτω από τις ίδιες πειραματικές συνθήκες. Τα δεδομένα αυτά πιθανόν να αντιπροσωπεύουν βάρος μιας ένωσης, κανονικότητα ενός διαλύματος, εκατοστιαία περιεκτικότητα διαφόρων τμημάτων ενός διαλύματος, απορρόφηση ενός διαλύματος κλπ. Τα ακατέργαστα αυτά δεδομένα πρέπει να τύχουν επεξεργασίας από τον αναλυτή, ώστε να απαντούν στα ερωτήματα: (1) Ποια είναι η καλύτερη εκτίμηση του "αληθινού ή πραγματικού" μεγέθους που μετρείται; (2) Πόσο αξιόπιστος είναι αυτός ο αριθμός, ως μέτρο της αληθινής τιμής; Η επεξεργασία αυτή πετυχαίνεται με τη βοήθεια της στατιστικής και αποτελεί ένα από τα κρισιμότερα στάδια της χημικής ανάλυσεως. Συνήθως τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων έχουν ως αποδέκτες άλλους επιστήμονες, για παράδειγμα τους υπεύθυνους παραγωγής της φαρμακοβιομηχανίας, την κρατική υπηρεσία ελέγχου φαρμάκων, θεραπευτές ιατρούς, δικαστικούς κλπ., και επομένως το τελικό αποτέλεσμα της ανάλυσεως πρέπει να δίνεται με υπευθυνότητα και με το βαθμό αξιοπιστίας που παρέχουν τα πειραματικά δεδομένα.

Κατά τη διεξαγωγή οποιασδήποτε μέτρησης οποιουδήποτε μεγέθους υπεισέρχονται αναπόφευκτα σφάλματα, και επομένως τα αποτελέσματα χαρακτηρίζονται από ένα βαθμό αβεβαιότητας, που μπορεί μεν να περιορισθεί σε

μια αποδεκτή στάθμη, όχι όμως και να μηδενιστεί. Ο έμπειρος αναλυτής πρέπει να καθορίσει από πριν τα όρια της απαιτούμενης αξιοπιστίας των αποτελεσμάτων, ώστε να μην σπαταλιέται χρόνος για επίτευξη ακρίβειας μεγαλύτερης της απαιτούμενης.

Παρακάτω μελετώνται τα μέτρα αξιοπιστίας των μετρήσεων, τα διάφορα είδη σφαλμάτων, που υπεισέρχονται στις αναλύσεις, και οι τρόποι αναγνώρισεως και μειώσεως τους. Επίσης εξετάζεται η στατιστική ανάλυση μικρού αριθμού πειραματικών δεδομένων και διάφορες στατιστικές δοκιμασίες για τιμές παραμέτρων. Τέλος, αναφέρονται και οι κανόνες χρησιμοποίησης των σημαντικών ψηφίων στα αριθμητικά δεδομένα.

## ΣΦΑΛΜΑΤΑ

### ΜΕΤΡΑ ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑΣ-ΟΡΙΣΜΟΙ

Η «αληθινή ή πραγματική» τιμή ( $\mu$ ) του μετρούμενου μεγέθους σπάνια είναι γνωστή και αντ' αυτής χρησιμοποιείται μια «παραδεκτή» τιμή, προς την οποία μπορούν να συγκριθούν όλες οι πειραματικές τιμές. Μετά την εκτέλεση αριθμού ( $N$ ) επαναλαμβανόμενων μετρήσεων του μεγέθους και τη λήψη των αριθμητικών τιμών  $x_i$ , ως αντιπροσωπευτικότερη τιμή της ( $\mu$ ) προτείνεται ο αριθμητικός μέσος όρος ή μέση τιμή (mean) ( $\bar{x}$ ) των πειραματικών μετρήσεων:

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

Η **ακρίβεια** (accuracy) ενός αναλυτικού αποτελέσματος χαρακτηρίζει την εγγύτητα της πειραματικής τιμής προς την «αληθινή ή παραδεκτή τιμή»  $\mu$  και συνήθως εκφράζεται με το απόλυτο σφάλμα ( $E$ ), δηλαδή τη διαφορά μεταξύ της αντιπροσωπευτικής πειραματικής τιμής  $x$  (μεμονωμένης μετρήσεως  $x_i$ , μέσης τιμής  $\bar{x}$  και της  $\mu$ :

$$E = \bar{x} - \mu$$

Όσο μικρότερο είναι το σφάλμα, τόσο μεγαλύτερη είναι η ακρίβεια. Σε μια ποσοτική ανάλυση η «αληθινή» τιμή της μετρούμενης ποσότητας παραμένει στην πραγματικότητα άγνωστη και δεν υπάρχει τρόπος να προσδιορίσουμε την ακρίβεια του αποτελέσματος της ανάλυσεως. Είναι όμως δυνατός ο έλεγχος της ακρίβειας της μεθόδου με την ανάλυση «γνωστού» πρότυπου δείγματος, παρόμοιας κατά το δυνατόν συστάσεως με το άγνωστο δείγμα. Ο έλεγχος της ακρίβειας της μεθόδου επιβάλλεται τόσο κατά το στάδιο της αναπτύξεώς της, όσο και περιοδικά κατά την εφαρμογή της.

Η **επαναληπτικότητα** (precision) μιας σειράς μετρήσεων χαρακτηρίζει τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ τους, δηλαδή δείχνει πόσο κοντά μεταξύ τους βρίσκονται τα αποτελέσματα. Η επαναληπτικότητα είναι τόσο μεγαλύτερη, όσο μικρότερη είναι η διασπορά των αποτελεσμάτων. Ως μέτρα

επαναληπτικότητας μιας σειράς μετρήσεων χρησιμοποιούνται κυρίως η μέση απόκλιση, η τυπική απόκλιση και το εύρος.

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** ( $\bar{d}$ ) ορίζεται από τη σχέση:

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

Η **τυπική (σταθερή) απόκλιση** (standard deviation) για μικρό αριθμό μετρήσεων ( $s$ ), ορίζεται από τη σχέση

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

Η ποσότητα  $n-1$  καλείται και βαθμοί ελευθερίας.

Ένα χρήσιμο μέτρο επαναληπτικότητας για μικρό αριθμό μετρήσεων είναι το **εύρος ή δειγματική διακύμανση** (range), ( $R$ ), που ορίζεται, ως η διαφορά της ελάχιστης από τη μέγιστη τιμή, δηλαδή

$$R = X_{\text{μεγ}} - X_{\text{ελαχ}}$$

Αντί για τις απόλυτες τιμές του σφάλματος, των αποκλίσεων και του εύρους, που δίνονται στις ίδιες μονάδες με το μετρούμενο μέγεθος, πολλές φορές είναι χρησιμότερη η σχετική τιμή τους, ως προς το μετρούμενο μέγεθος. Έτσι έχουμε:

Σχετικό σφάλμα  $E_r = E / \mu$

Σχετική μέση απόκλιση  $\bar{d}_r = \frac{\bar{d}}{x}$

Σχετική τυπική απόκλιση  $\bar{s}_r = \frac{\bar{s}}{x}$

Σχετικό εύρος  $R_r = R / \bar{x}$

Όπως προκύπτει από τον ορισμό τους, τα παραπάνω *σχετικά μεγέθη* είναι καθαροί αριθμοί. Όταν αυτά τα σχετικά μεγέθη πολλαπλασιαστούν επί 100,  $10^3$  ή  $10^6$ , εκφράζονται στα εκατό (%), στα χίλια (‰ ή μέρη ανά χίλια, ppt) και σε μέρη

ανά εκατομμύριο (ppm), αντίστοιχα. Η % σχετική απόκλιση,  $(s / \bar{x})100$ , που συμβολίζεται συνήθως ως RSD%, είναι γνωστή και ως *συντελεστής μεταβλητότητας* (coefficient of variation), CV.

Η ακρίβεια και η επαναληπτικότητα αποτελούν το μέτρο της αξιοπιστίας ενός αναλυτικού αποτελέσματος ή γενικότερα μιας αναλυτικής μεθοδού. Για μεν την έκφραση της ακρίβειας χρησιμοποιούνται το σφάλμα και το σχετικό σφάλμα, ενώ για την έκφραση της επαναληπτικότητας το εύρος (για πολύ μικρό αριθμό μετρήσεων) και κυρίως η τυπική απόκλιση (ή η διασπορά) και η σχετική τυπική απόκλιση. Καλή επαναληπτικότητα δεν συνεπάγεται αναγκαστικά και καλή ακρίβεια, γιατί είναι δυνατόν να υπεισέρχεται στις μετρήσεις ένα καθορισμένο σφάλμα, που να επηρεάζει εξ ίσου όλες τις μετρήσεις, χωρίς να βλάπτει με αυτόν τον τρόπο την επαναληπτικότητά τους. Κακή επαναληπτικότητα συνήθως συνεπάγεται κακή ακρίβεια, που μπορεί να βελτιωθεί με εκτέλεση μεγάλου αριθμού μετρήσεων, με την προϋπόθεση ότι δεν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα. Καλή ακρίβεια προϋποθέτει συνήθως και καλή επαναληπτικότητα.

### Παράδειγμα 1.

Ανάλυση δείγματος αίματος για φωσφορικά δίνει: 4.00, 4.20, 3.60 και 4.20 mg  $\text{PO}_4^{3-}$ / 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.



Λύση.

i	x <sub>i</sub>	(x <sub>i</sub> - $\bar{x}$ ) <sup>2</sup>
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 (%).

Λύση.

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

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

## ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΙΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Κάθε μέτρηση ενός φυσικού μεγέθους χαρακτηρίζεται από μία αβεβαιότητα που ονομάζουμε **σφάλμα**, το οποίο αναγράφεται με τη μορφή

### Τιμή ± αβεβαιότητα

Με τον όρο σφάλμα δεν εννοούμε την απόκλιση της μέτρησής μας από την θεωρητικά αποδεκτή τιμή ούτε το πειραματικό λάθος. Η έννοια του σφάλματος αναφέρεται στην ακρίβεια της μέτρησης δηλαδή στην αβεβαιότητα των μετρήσεων την οποία εισάγουν

- τα όργανα μέτρησης
- η πειραματική διαδικασία και οι συνθήκες του πειράματος

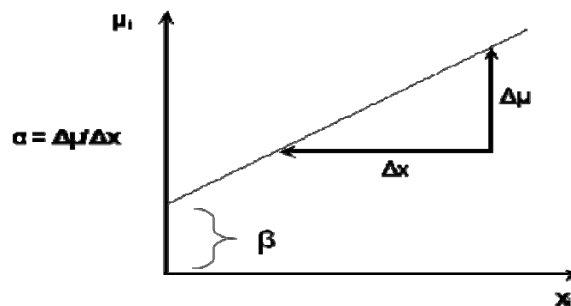
Επειδή κατά την πειραματική διαδικασία υπάρχουν παράγοντες που υπεισέρχονται που δεν τους γνωρίζουμε ή δεν μπορούμε να τους λάβουμε υπόψη (π.χ. μεταβολή του βάρους, της θερμοκρασίας) δεν μπορούμε πάντα να διορθώσουμε όλα τα σφάλματα. Ακόμα κι αν επαναλάβουμε τις μετρήσεις ενός μεγέθους, τα σφάλματα δεν μπορούν να εξαλειφθούν, μπορούμε όμως να οδηγηθούμε σε μία κατανομή των μετρούμενων τιμών που μπορεί να αναλυθεί συστηματικά με τη στατιστική.

Στην ενότητα αυτή θα ασχοληθούμε με τις κατηγορίες των σφαλμάτων που συναντούμε στις αναλύσεις, τις μεθόδους αναγνώρισής τους και τις τεχνικές του υπολογισμού τους. Τα σφάλματα μπορούν να ταξινομηθούν σε 2 κατηγορίες: στα **συστηματικά** (systematic) ή **καθορισμένα** (determinate), και στα **τυχαία** (random) ή **ακαθόριστα** (indeterminate) σφάλματα.

**Συστηματικά σφάλματα:** πρόκειται για σφάλματα που σχετίζονται με την αξιοπιστία μιας μέτρησης και μπορεί να οφείλονται στην κακή βαθμονόμηση των οργάνων, στη λανθασμένη χρήση των οργάνων ή στην παράβλεψη ορισμένων φαινομένων ή σε εξωτερικά αίτια που μπορεί να αλλάξουν τα αποτελέσματα του πειράματος (υγρασία, πίεση, θερμοκρασία κλπ). Τα σφάλματα αυτά είναι μονοκατευθυνόμενα, δηλαδή επιδρούν στο αποτέλεσμα μιας μετρήσεως πάντοτε κατά την ίδια φορά (μόνο θετικά ή μόνο αρνητικά), όσες φορές και αν επαναληφθεί η μέτρηση, και παραμένουν σταθερά για μία σειρά μετρήσεων, που

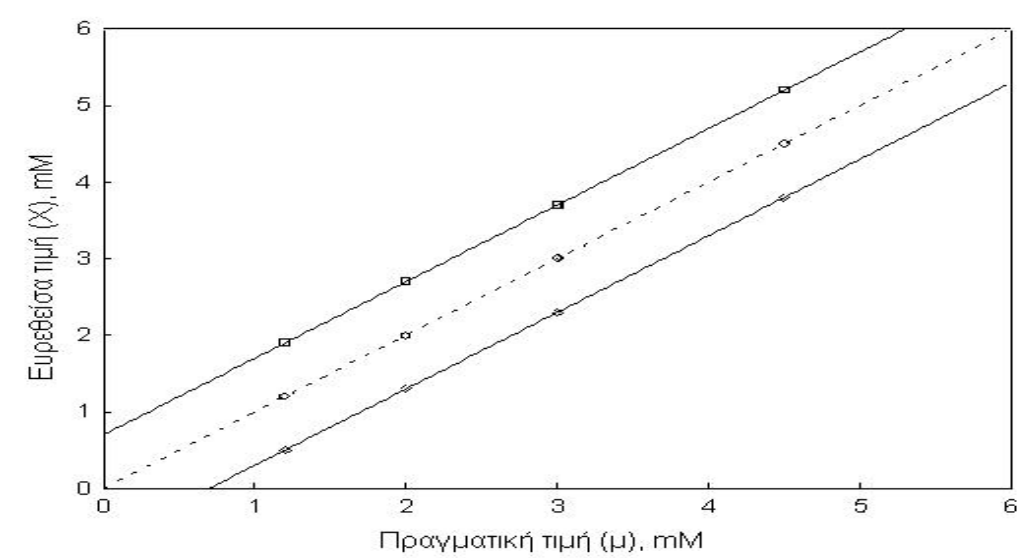
διεξάγονται κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Κατά κανόνα, είναι δυνατή η εύρεση των καθορισμένων σφαλμάτων και ο προσδιορισμός τους, και κατά συνέπεια ο παρατηρητής μπορεί να τα ελέγχει και να τα εξουδετερώνει μερικώς ή ολικώς. Τα συστηματικά σφάλματα τείνουν να μετατοπίσουν όλες τις μετρήσεις με συστηματικό τρόπο έτσι ώστε η μέση τιμή να είναι μετατοπισμένη προς μία διεύθυνση πχ. εάν ένας χάρακας είναι φθαρμένος, η μέτρηση κάθε μήκους θα έχει σταθερό συστηματικό σφάλμα που είναι ανεπηρέαστο από την επαναληψιμότητα της μέτρησης. Ο μόνος τρόπος να ποσοτικοποιήσω το σφάλμα, δηλαδή να εκτιμήσω σωστά την τάξη μεγέθους του είναι να συγκρίνω το όργανο που χρησιμοποιώ με άλλο που θεωρείται πρότυπο. Σε ένα σωστό πείραμα τα μεγάλα συστηματικά σφάλματα περιορίζονται με σύγκριση των τιμών με διαφορετικές μεθόδους.

Τα καθορισμένα σφάλματα μπορούν να είναι είτε σταθερά, όταν το απόλυτο μέγεθος του σφάλματος  $E$  είναι το ίδιο σε όλα τα δείγματα ανεξάρτητα από την ποσότητα του προσδιοριζόμενου συστατικού, είτε αναλογικά, όταν το απόλυτο σφάλμα είναι ανάλογο προς την ποσότητα του συστατικού, ενώ το σχετικό σφάλμα ( $E/\mu$ ) είναι σταθερό. Υπάρχουν και σύνθετα συστηματικά σφάλματα, που είναι συνδυασμός σταθερών και αναλογικών σφαλμάτων. Ο καθορισμός του είδους και του μεγέθους ενός πιθανού καθορισμένου σφάλματος μιας αναλυτικής μεθόδου πετυχαίνεται με τον προσδιορισμό γνωστών πρότυπων δειγμάτων μεταβαλλόμενης περιεκτικότητας ( $\mu_i$ ). Η γραφική παράσταση των πειραματικών τιμών  $x_i$  ως προς  $\mu_i$  ή ο υπολογισμός της εξίσωσης  $x_i = \alpha\mu_i + \beta$ , καθορίζει το είδος και το μέγεθος του καθορισμένου σφάλματος. Ο όρος  $\beta$  ισούται με το σταθερό καθορισμένο σφάλμα, ενώ το μέγεθος  $(\alpha-1)\chi 100$  ισούται 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

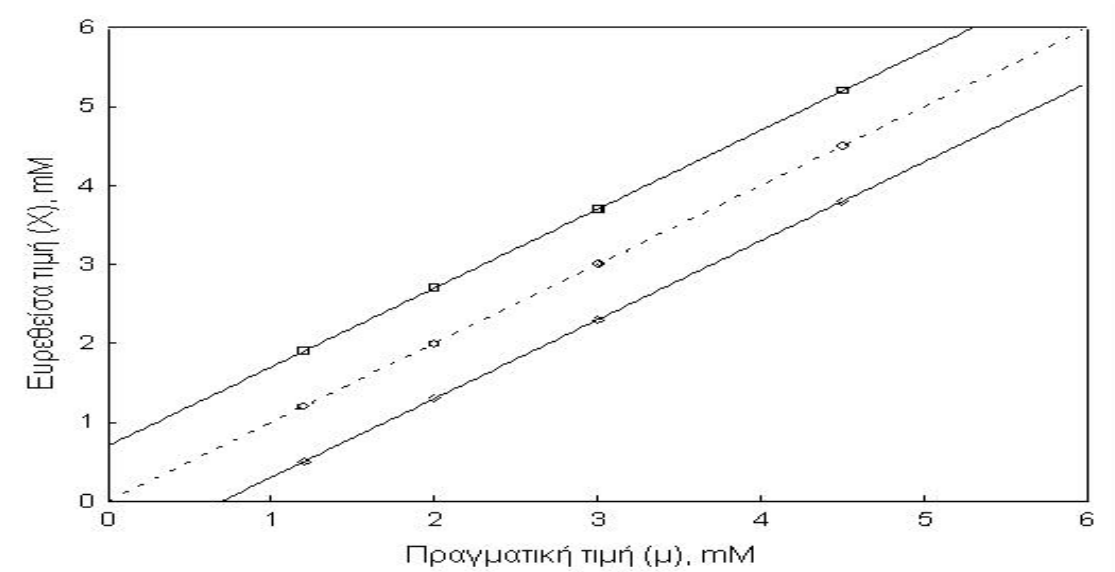
β) Μέθοδος με θετικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα : + 0.7 mM

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

### Παράδειγμα

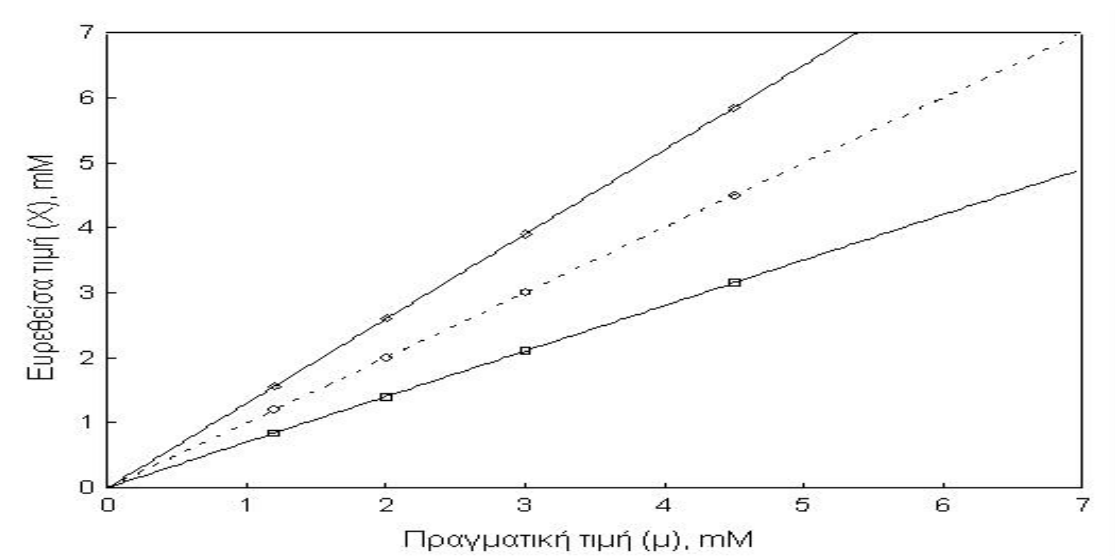
Περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C, mM

Πραγματική (μ)	Ευρεθείσα ( $\bar{X}$ )	Σφάλμα (E)	%Σχετικό Σφάλμα (%E <sub>r</sub> )
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

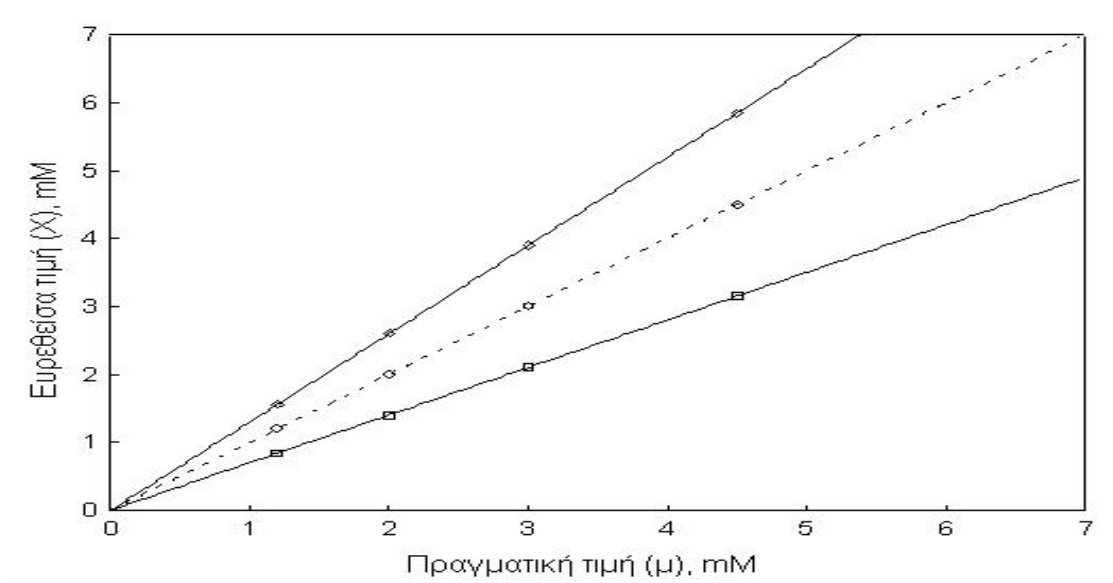
β) Μέθοδος με θετικό αναλογικό σφάλμα : + 30%

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

## Παράδειγμα

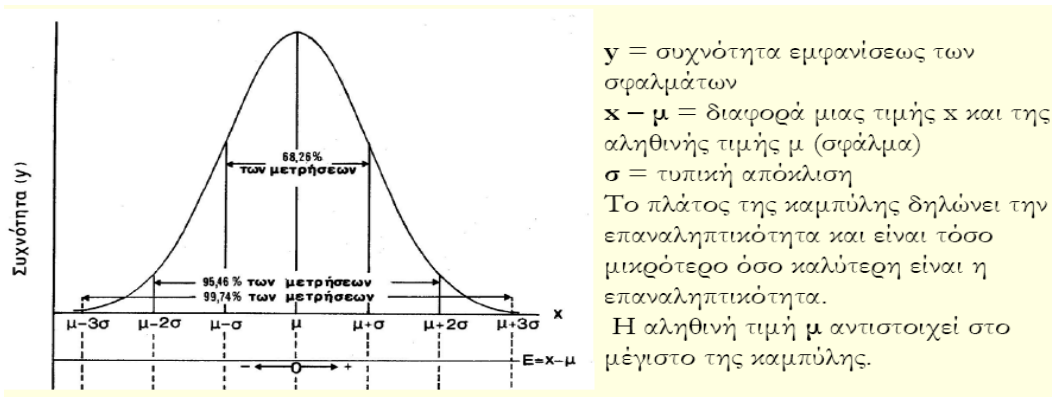
Περιεκτικότητα χυμού σε βιταμίνη C, mM

Πραγματική ( $\mu$ )	Ευρεθείσα ( $\bar{X}$ )	Σφάλμα (E)	% Σχετικό Σφάλμα (% E <sub>r</sub> )
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:** πρόκειται για σφάλματα που σχετίζονται με την ακρίβεια μιας μέτρησης και δείχνουν τις διακυμάνσεις που έχουν οι μετρήσεις ενός επαναλαμβανόμενου πειράματος που γίνεται κάτω από τις ίδιες φαινομενικά συνθήκες και τα οποία οδηγούν στην κατανομή των αποτελεσμάτων γύρω από μία μέση τιμή. Μπορεί να οφείλονται στην έλλειψη ευαίσθητης απόκρισης του οργάνου ή στον παρατηρητή (σφάλματα ανάγνωσης), στον εξωτερικό «θόρυβο», ή σε στατιστικές διαδικασίες (όπως είναι η ρίψη ενός ζαριού). **Τα τυχαία σφάλματα είναι αναπόφευκτα και περιγράφονται με τη στατιστική θεωρία.** Σύμφωνα με τη στατιστική θεωρία εάν ένα φαινόμενο είναι πράγματι τυχαίο τότε η οριακή κατανομή που θα προκύψει (μετά από άπειρες προσπάθειες) θα είναι

μια κανονική κατανομή ή κατανομή Gauss. Η πρακτική σημασία της κανονικής κατανομής είναι ότι αποτελεί κριτήριο για ότι τα σφάλματα είναι τυχαία. Αν στον άξονα των  $x$  αντί για τις τιμές των μετρήσεων θέσουμε τις τιμές των αποκλίσεων από τον μέσο όρο  $d_i$ , η καμπύλη είναι συμμετρική γύρω από την τιμή 0, όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα. Στο διάστημα  $(-\sigma, +\sigma)$  ανήκει το 68% των μετρήσεων, στο διάστημα  $(-2\sigma, +2\sigma)$  το 95% και στο διάστημα  $(-3\sigma, +3\sigma)$  το 99.7% των μετρήσεων.

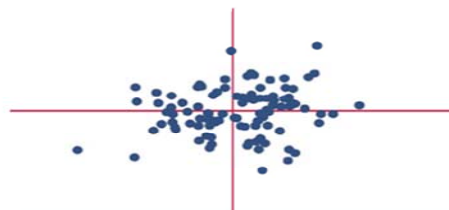


### Τυχαία vs. συστηματικά σφάλματα (random vs. systematic errors)

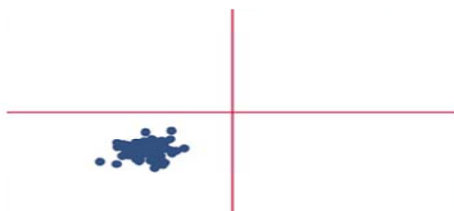
Μη συστηματικό σφάλμα Μικρό τυχαίο σφάλμα  
Ακριβή και επαναλήψιμα



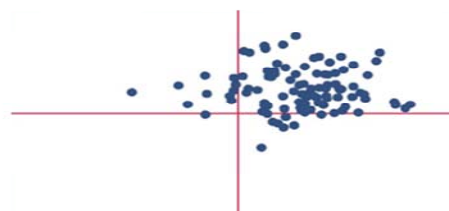
Μη συστηματικό σφάλμα Ουσιώδες τυχαίο σφάλμα  
Ακριβή αλλά μη επαναλήψιμα



Συστηματικό σφάλμα Μικρό τυχαίο σφάλμα  
Ανακριβή αλλά επαναλήψιμα



Συστηματικό σφάλμα Ουσιώδες τυχαίο σφάλμα  
Ανακριβή και μη επαναλήψιμα



## **ΕΚΤΙΜΗΤΙΚΗ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ - ΟΡΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΜΠΙΣΤΟΣΥΝΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗΣ ΣΕ ΜΙΚΡΟ ΑΡΙΘΜΟ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

Η στατιστική χρησιμοποιείται για την ποσοτική μελέτη των τυχαίων σφαλμάτων και με τη βοήθειά της μπορούν να δοθούν απαντήσεις σε ερωτήματα, που ανακύπτουν κατά την αξιολόγηση και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σειράς μετρήσεων. Παρακάτω δίνονται χαρακτηριστικά παραδείγματα τέτοιων εφαρμογών.

### **ΟΡΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΧΗ ΕΜΠΙΣΤΟΣΥΝΗΣ**

Ως όρια εμπιστοσύνης (ή αξιοπιστίας) του μέσου όρου ορίζονται δύο τιμές, που βρίσκονται αριστερά και δεξιά της  $\bar{x}$  και καθορίζουν το διάστημα εμπιστοσύνης (confidence interval), δηλαδή την περιοχή τιμών μέσα στην οποία προβλέπεται με ορισμένη πιθανότητα ότι βρίσκεται η  $\mu$  (δηλαδή το διάστημα μέσα στο οποίο μπορεί να τοποθετηθεί η  $\mu$  με προκαθορισμένο βαθμό εμπιστοσύνης). Η πιθανότητα αυτή εκφράζεται συνήθως στα εκατό και καλείται στάθμη εμπιστοσύνης (confidence level).

Για  $N$  μετρήσεις, τα όρια εμπιστοσύνης υπολογίζονται από τη σχέση

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

όπου  $t$  είναι μεταβλητή, που αυξάνεται, όταν αυξάνεται η στάθμη εμπιστοσύνης και όταν ελαττώνονται οι βαθμοί ελευθερίας  $\nu$  ( $\nu = N-1$ ).

Για ορισμένη σειρά δεδομένων, το μέγεθος του διαστήματος εμπιστοσύνης αυξάνεται, όταν αυξάνεται η στάθμη εμπιστοσύνης. Συνήθως αρκούμαστε σε στάθμη εμπιστοσύνης 99% ή 95% και μερικές φορές και σε 90%. Η διαφορά (100 – στάθμη εμπιστοσύνης) καλείται πιθανότητα σφάλματος (%) και παρέχει την πιθανότητα ( $P$ ), με την οποία η  $\mu$  βρίσκεται έξω από το διάστημα εμπιστοσύνης. Στον παρακάτω πίνακα αναγράφονται οι τιμές του  $t$  (θεωρητικού) σε συνάρτηση των βαθμών ελευθερίας και της στάθμης εμπιστοσύνης.



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
∞ <sup>α</sup>	0,674	1,645	1,960	2,576	3,291

### 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%.

### Λύση

Ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση είναι:

$$\begin{array}{l}
 x_i \\
 10,1 \\
 9,8 \\
 10,2 \\
 9,9 \\
 \sum x_i = 40,0
 \end{array}
 \quad
 \bar{x} = \frac{\sum x_i}{v} = \frac{40,0}{4} = 10,0
 \quad
 \begin{array}{l}
 (x_i - \bar{x})^2 \\
 (10,1 - 10)^2 \\
 (9,8 - 10)^2 \\
 (10,2 - 10)^2 \\
 (9,9 - 10)^2 \\
 \sum (x_i - \bar{x})^2 = 0,10
 \end{array}$$

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

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

Από τον πίνακα κατανομής για 3 βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%: 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  $\mu$  βρίσκεται μεταξύ 9,71 και 10,29 με πιθανότητα 95%.

**Δοκιμασία Student ή δοκιμασία t (t- test). Σύγκριση πειραματικής μέσης τιμής  $\bar{x}$  με την αληθινή τιμή  $\mu$ .** Ο έλεγχος μιας μεθόδου αναλύσεως συνήθως γίνεται με τη χρησιμοποίησή της σε σειρά αναλύσεων πρότυπου δείγματος και τη σύγκριση της τιμής  $\bar{x}$  προς τη  $\mu$ . Αν  $|\bar{x} - \mu| < z\sigma / \sqrt{N}$  ή  $|\bar{x} - \mu| < ts / \sqrt{N}$ , θεωρείται, ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ  $\bar{x}$  και  $\mu$ , χωρίς όμως αυτό να σημαίνει ότι η  $\bar{x}$  είναι ίση με τη  $\mu$ . (Το νόημα της σημαντικής διαφοράς είναι, ότι η διαφορά μεταξύ των αναλυτικών αποτελεσμάτων, σε δεδομένη στάθμη εμπιστοσύνης, δεν προκαλείται από τυχαία σφάλματα, αλλά από καθορισμένα σφάλματα, που πρέπει να εντοπισθούν για να γίνουν οι αναγκαίες διορθώσεις). Η  $\bar{x}$  είναι «ίση» με τη  $\mu$  μέσα στα ευρέα όρια του πίνακα, δηλαδή η  $\bar{x}$  μπορεί να είναι αρκετά διαφορετική της  $\mu$  και παρ' όλα αυτά να μην κρίνεται σημαντικά διαφορετική της  $\mu$ .

Η σύγκριση της  $\bar{x}$  με τη  $\mu$  μπορεί να γίνει ως εξής: Υπολογίζεται η τιμή του t με τη σχέση

$$t = \frac{|\mu - \bar{x}| \sqrt{N}}{s}$$

και συγκρίνεται με τη θεωρητική τιμή του t, που υπολογίζεται στατιστικά. Η σύγκριση γίνεται για προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης. Αν  $t_{πειρ} > t_{θεωρ}$ , συμπεραίνεται ότι υπάρχει σημαντική διαφορά (συστηματικό σφάλμα) μεταξύ  $\bar{x}$  και  $\mu$ . Αντίθετα αν  $t_{πειρ} < t_{θεωρ}$ , η διαφορά  $|\bar{x} - \mu|$  θεωρείται μηδαμινή και αποδίδεται σε τυχαία σφάλματα.

### 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%.

### **Λύση**

Υπολογίζονται η αληθινή τιμή  $\mu$ , η μέση τιμή των πειραματικών μετρήσεων ( $\bar{x}$ ) και το πειραματικό αντίστοιχα:

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

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

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

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

Ισχύει επίσης θεωρητικό = 2,78 για 4 (= 5-1) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%. Επειδή πειραματικό > θεωρητικό 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;

### Λύση

Αρχικά υπολογίζουμε τη μέση τιμή των πειραματικών μετρήσεων ( $\bar{x}$ ), το σφάλμα ( $\bar{x} - \mu$ ) και την τυπική απόκλιση (s)

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

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

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

Ισχύει θεωρητικό = 2,78 για 4 (=5-1) βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%. Επειδή πειραματικό > θεωρητικό 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: θεωρητικό = 2.571 για 5 βαθμούς ελευθερίας, θεωρητικό = 2.447 για 6 βαθμούς ελευθερίας, θεωρητικό = 2.365 για 7 βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%).

### Λύση

α) Για τη θεοφυλλίνη

$$|\bar{x} - \mu| = |44.1 - 50.0| = |-5.9| \text{mg} / \text{δισκίο}$$
$$\%RSD = \frac{S}{\bar{X}} 100 \Rightarrow S = \frac{RSD * \bar{X}}{100} = \frac{4.1 * 44.1}{100} = 18.1 \text{mg} / \text{δισκίο}$$

Από τον πίνακα για  $v = N-1 = 6-1 = 5$  έχουμε 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  $t_{\text{πειραματικό}} > t_{\text{θεωρητικό}}$  συμπεραίνεται ότι η ύπαρξη συστηματικού (αρνητικού) σφάλματος είναι πολύ πιθανή.

β) για την υδροχλωρική εφεδρίνη με τον ίδιο τρόπο συμπεραίνουμε ότι για στάθμη εμπιστοσύνης 95% δεν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα.

γ) για τη φαινοβαρβιτάλη με τον ίδιο τρόπο συμπεραίνουμε ότι για στάθμη εμπιστοσύνης 95% η ύπαρξη θετικού καθορισμένου σφάλματος είναι πιθανή.

**Σύγκριση δύο μέσων πειραματικών τιμών  $\bar{x}_1$  και  $\bar{x}_2$  (δοκιμασία t).** Η σύγκριση αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με δύο διαφορετικές μεθόδους ή από δύο άτομα ή από το ίδιο άτομο, αλλά με δύο διαφορετικές συνθήκες ή τεχνικές, είναι πολλές φορές απαραίτητη στην Αναλυτική Χημεία και τη Φαρμακευτική ανάλυση. Για παράδειγμα, είναι χρήσιμο να γνωρίζουμε εάν μια νέα χρωματογραφική μέθοδος δίνει τα ίδια αποτελέσματα με την επίσημη (της φαρμακοποιίας) φασματοφωτομετρική μέθοδο. Επίσης, μπορεί να αναλύσουμε δύο παρτίδες κοκκίων (granules) ενός φαρμάκου και να πρέπει να αποφασίσουμε, εάν περιέχουν την ίδια ποσότητα φαρμάκου. Παρόμοια σύγκριση γίνεται επίσης για να καθορισθεί, εάν δύο ουσίες ταυτίζονται ή διαφέρουν μεταξύ τους. Η επίλυση τέτοιων προβλημάτων γίνεται με δοκιμασία σημαντικότητας,

δηλαδή την απόφαση της ύπαρξης ή μη σημαντικής διαφοράς μεταξύ δύο πειραματικών τιμών.

Στη στατιστική αυτό επιτυγχάνεται με τη μηδενική υπόθεση (null hypothesis), δηλαδή τη δοκιμαστική υπόθεση, ότι δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των δύο αποτελεσμάτων και τον έλεγχο αυτής της υποθέσεως. Για το σκοπό αυτό συγκρίνονται οι δύο πειραματικές τιμές  $\bar{x}_1$  και  $\bar{x}_2$  με τη βοήθεια της δοκιμασίας t. Ο υπολογισμός του tπειρ γίνεται με τη σχέση

$$t_{\text{πειρ}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{1-2}} \sqrt{\frac{N_1 N_2}{N_1 + N_2}}$$

όπου  $s_{1-2}$  είναι η τυπική απόκλιση οποιασδήποτε τιμής σε καθεμιά από τις δύο σειρές δεδομένων, που υπολογίζεται με τη σχέση

$$s_{1-2} = \sqrt{\frac{\sum(x_{i1} - \bar{x}_1)^2 + \sum(x_{i2} - \bar{x}_2)^2}{N_1 + N_2 - 2}} = \sqrt{\frac{S_1^2(N_1 - 1) + S_2^2(N_2 - 1)}{N_1 + N_2 - 2}}$$

Στην ειδική περίπτωση όπου  $N_1 = N_2 = N$ , η εξίσωση απλοποιείται προς την

$$t_{\text{πειρ}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{1-2}} \sqrt{\frac{N}{2}} \quad \text{και την } s_{1-2} = \sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{2}} \text{ αντίστοιχα.}$$

Η υπολογιζόμενη τιμή του tπειρ συγκρίνεται στη συνέχεια με τις θεωρητικές τιμές του t, που δίνονται σε στατιστικούς πίνακες, για  $N_1 + N_2 - 2$  βαθμούς ελευθερίας και προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης, όπως ακριβώς κατά τη σύγκριση μιας μέσης τιμής  $\bar{x}$  προς την αληθινή τιμή  $\mu$ .

### **Παράδειγμα**

Σε δείγμα ελαιόλαδου προσδιορίζεται ο αριθμός υπεροξειδίων (meq  $O_2/kg$ ) 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 <sub>2</sub> /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

### Λύση

Μέθοδος

AOAC

$$n_1 = 5$$

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

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

Μέθοδος FI

$$n_2 = 6$$

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

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

Εύρεση τπειρ.:

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

$$t_{πειρ.} = \frac{|39,9 - 40,5|}{0,38} \sqrt{\frac{5 \cdot 6}{5+6}} = 2,61$$

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

Επειδή τπειρ < θεωρητικό οι δύο μέθοδοι είναι ισοδύναμες. Για στάθμη εμπιστοσύνης 90% θεωρητικό = 1,83 οπότε τπειρ > θεωρητικό 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).

### Λύση

Από τις εξισώσεις και τα δεδομένα

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

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

υπολογίζουμε

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

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

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

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

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

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



Άρα για στάθμη εμπιστοσύνης 95% και 7 βαθμούς ελευθερίας επειδή θεωρητικό > πειραματικό οι δύο παρτίδες των δισκίων δε θεωρούνται ισοδύναμες.

### Παράδειγμα

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

$\chi_1$ (mg/δισκίο): 395,4, 401,1, 397,8, 405,0, 397,5

$\chi_2$ (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%. (θεωρ. = 3.25 για 9 βαθμούς ελευθερίας).

### Λύση

Από τα δεδομένα βρίσκουμε ότι  $N_1 = 5$ ,  $\bar{x}_1 = (1996,8/5) = 399,4$  mg/δισκίο,  $N_2 = 6$ ,  $\bar{x}_2 = (2433,3/6) = 405,6$  mg/δισκίο. Από τις εξισώσεις:

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

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

Βρίσκουμε:

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

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

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

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

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

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

Άρα για στάθμη εμπιστοσύνης 99% και 9 βαθμούς ελευθερίας επειδή θεωρητικό > πειραματικό η μηδενική υπόθεση ισχύει για στάθμη εμπιστοσύνης 99% και οι δύο παρτίδες των δισκίων θεωρούνται ισοδύναμες.

### 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).

### Λύση

Με τον ίδιο τρόπο όπως προηγούμενα υπολογίζουμε το  $s_{pooled}$  και το πειραματικό

$$s_{pooled} = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1 - 1) + s_2^2(n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}} \quad t_{πειρ.} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{s_{pooled}} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}}$$

Και συγκρίνουμε το θεωρητικό, πειραματικό για στάθμη εμπιστοσύνης 99% και 9 βαθμούς ελευθερίας.

### **Απόρριψη αμφίβολης τιμής σε μία σειρά πειραματικών δεδομένων.**

Όταν σε μία σειρά πειραματικών δεδομένων μία τιμή διαφέρει ουσιαστικά από τις υπόλοιπες τιμές, η απόρριψη ή μη της αμφισβητήσιμης (ύποπτης) τιμής μπορεί να αποφασισθεί με βάση στατιστικά κριτήρια. Είναι προφανές, ότι, όταν είναι γνωστό ότι έγινε λάθος κατά τη μέτρηση της ύποπτης τιμής, αυτή απορρίπτεται προκαταβολικά.

Από τα διάφορα κριτήρια απορρίψεως αμφίβολων τιμών, αυτό που χρησιμοποιείται συχνότερα, είναι το κριτήριο Q. Κατά την χρησιμοποίησή του, η

διαφορά της αμφισβητήσιμης τιμής από την πλησιέστερη γειτονική τιμή διαιρείται με το εύρος των τιμών και η τιμή, που υπολογίζεται με αυτόν τον τρόπο,  $Q_{πειρ}$ , συγκρίνεται με θεωρητικές τιμές απορρίψεως,  $Q_{θεωρ}$ , που δίνονται σε στατιστικούς πίνακες. Εάν  $Q_{πειρ} > Q_{θεωρ}$ , το αμφισβητήσιμο αποτέλεσμα απορρίπτεται.

### **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 ( $Q_{0,90} = 0,76$ ).

### **Λύση**

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

Επομένως από τον τύπο

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

Ισχύει  $Q_{πειραματικό} = 7/11 = 0,64 < 0,76$   $Q_{θεωρητικό}$  άρα η τιμή 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  $Q_{90}$  για να καθορισθεί, εάν οποιοδήποτε από τα αποτελέσματα πρέπει να απορριφθεί ( $Q_{90} = 0,51$ ).

### **Λύση**

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  $W = 0,74 - 0,57 = 0,17$ . Κάνοντας χρήση του τύπου

$$Q_{\text{πειρ.}} = \frac{|x_{\text{αμφιβολη}} - x_{\text{κλιση εστιαση}}|}{x_{\text{max}} - x_{\text{min}}}$$

Βρίσκουμε ότι  $Q_{\text{πειρ.}} = 0,14/0,17 = 0,82 > Q_{\text{θεωρ.}}=0,51$  άρα η αμφισβητούμενη τιμή 0,74 πρέπει να απορριφθεί.

### **ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΨΗΦΙΑ**

Όταν ένας υπολογισμός βασίζεται σε πειραματικά δεδομένα, το σφάλμα ή η αβεβαιότητα του τελικού αποτελέσματος υπολογίζεται με βάση κανόνες διαδόσεων σφαλμάτων. Ένας τρόπος για να δώσουμε χονδρικά την αβεβαιότητα είναι η χρησιμοποίηση σημαντικών ψηφίων. Σημαντικά ψηφία θεωρούνται τα ψηφία ενός αριθμού, που είναι γνωστά με βεβαιότητα, και ένα ψηφίο επιπλέον. Γενικά, το τελευταίο ψηφίο ενός αριθμού θεωρείται ότι έχει αβεβαιότητα ίση με  $\pm 1$ , εκτός εάν παρέχονται πληροφορίες για την ύπαρξη μεγαλύτερης αβεβαιότητας, όπως π.χ. εάν είναι γνωστή η τυπική απόκλιση του μέσου όρου, οπότε η αβεβαιότητα του αριθμού καθορίζεται απ' αυτή. Τα μηδενικά, που υπάρχουν μεταξύ άλλων ψηφίων, όπως π.χ. στον αριθμό 1,008 είναι σημαντικά ψηφία. Τα μηδενικά, που υπάρχουν στην αρχή ενός αριθμού, καθορίζουν την θέση της υποδιαστολής και δεν είναι σημαντικά ψηφία. Π.χ. το βάρος ενός ιζήματος μπορεί να αναγραφεί ως 0,0615 g ή 61,5 mg, χωρίς να μεταβληθεί η αβεβαιότητα που υπάρχει ( $\pm 0,0001$  g ή 0,1 mg) και ο αριθμός των σημαντικών ψηφίων (τρία). Μηδενικά στο τέλος ενός αριθμού θεωρούνται ως σημαντικά ψηφία, γι' αυτό όσα είναι αβέβαια απαλείφονται και ο αριθμός γράφεται ως δύναμη του 10. Π.χ. η ηλικία της γης αναγράφεται ως  $4,6 \times 10^9$  και όχι 4.600.000.000 χρόνια, επειδή αυτή είναι γνωστή με ακρίβεια 0,1 δισεκατομμυρίου χρόνων και όχι 1 χρόνου.

Όταν αναγράφουμε το τελικό αποτέλεσμα μίας αναλύσεως (και γενικότερα μίας σειράς αριθμητικών πράξεων), πρέπει να διατηρούμε τα απαραίτητα ψηφία, ώστε η ακρίβεια του τελικού αποτελέσματος να είναι της ίδιας τάξεως μεγέθους προς την ακρίβεια εκείνου του αριθμού (πειραματικού μεγέθους), που είναι ο λιγότερο ακριβής. Αυτό είναι επιτακτικότερο σήμερα, που με τις ηλεκτρονικές

αριθμομηχανές τα αποτελέσματα των αριθμητικών πράξεων δίνονται με δέκα ή περισσότερα ψηφία. Ειδικότερα, οι διάφοροι υπολογισμοί εκτελούνται ως εξής:

1. Σταθερές όπως ατομική μάζα κλπ. χρησιμοποιούνται με όλα τα ψηφία που δίνονται στους πίνακες.

2. Όλα τα μη μηδενικά ψηφία ενός αριθμού, εφόσον αναγράφονται, είναι σημαντικά, είτε βρίσκονται στο ακέραιο είτε στο δεκαδικό μέρος, π.χ. **35,246**

3. 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,

4. Κατά την πρόσθεση ή αφαίρεση μεταξύ δύο δεκαδικών αριθμών, το αποτέλεσμα είναι αριθμός με τόσα δεκαδικά όσα έχει ο αριθμός με τα λιγότερα δεκαδικά. Έτσι το μοριακό βάρος του KF είναι:

$$39,102 + 18,9984 = 58,100 \text{ και όχι } 58,1004.$$

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

Πχ. η ολική συγκέντρωση ιόντων νατρίου, που προκύπτει ως άθροισμα τριών επιμέρους συγκεντρώσεων  $5,00 \times 10^{-2}$ ,  $3,28 \times 10^{-3}$  και  $2 \times 10^{-6} \text{M}$ , είναι ίση με  $5,00 \times 10^{-2} + 0,328 \times 10^{-2} + 0,0002 \times 10^{-2} = 5,33 \times 10^{-2} \text{ M}$ .

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,

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

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

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

8. Κατά τον υπολογισμό του λογαρίθμου ενός αριθμού, το αποτέλεσμα πρέπει να έχει τόσα δεκαδικά όσα είναι τα σημαντικά ψηφία του αρχικού αριθμού. Π.χ. εάν  $[H^+] = 2,1 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 3,68$ .

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

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

### Παράδειγμα

Προσδιορίστε τον αριθμό των σημαντικών ψηφίων για τα ακόλουθα:

5280	=> 4 σημαντικά ψηφία
0.35	=> 2 σημαντικά ψηφία
0.0037	=> 2 σημαντικά ψηφία
204100	=> 6 σημαντικά ψηφία
180.00	=> 5 σημαντικά ψηφία
1.35	=> 3 σημαντικά ψηφία
0.107	=> 3 σημαντικά ψηφία
500	=> 3 σημαντικά ψηφία
500.0	=> 4 σημαντικά ψηφία
50 $10^1$	=> 2 σημαντικά ψηφία
5 $10^2$	=> 1 σημαντικό ψηφίο

### Παράδειγμα

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<sup>6</sup>

### Διάδοση και συσσώρευση συστηματικών σφαλμάτων

Ο αναλυτικός χημικός συχνά πρέπει να εκτιμήσει το σφάλμα ενός αποτελέσματος που έχει προκύψει από δύο ή περισσότερα δεδομένα, το καθένα από τα οποία περιέχει ένα σφάλμα. 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	$y = \text{antilog}_{10} a$	$\frac{s_y}{y} = 2.303s_a$ (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**

<b>Σκεύος η Όργανο</b>	<b>Μέγεθος</b>	<b>Απόλυτη Ακρίβεια</b>
Αναλυτικός Ζυγός	100gr	±0,0001gr
Απλός Ζυγός	1000gr	±0,001gr
Προχοΐδα	50mL	±0,02mL
Σιφόνιο πλήρωσης	5mL	±0,01mL
	10mL	±0,02mL
	25mL	±0,03mL
	50mL	±0,05mL
Ογκομετρικές Φιάλες	25mL	±0,03mL
	50mL	±0,05mL
	100mL	±0,08mL
	250mL	±0,12mL
	500mL	±0,15mL
	1000mL	±0,30mL

**Παράδειγμα:** Να υπολογισθεί η ακρίβεια του προσδιοριζόμενου τίτλου ενός διαλύματος HCl όταν, κατά την τιτλοδότηση με στερεό Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> παρουσία δείκτη ηλιανθίνης λαμβάνονται τα παρακάτω αποτελέσματα και δεδομένα ακριβείας

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

### ΛΥΣΗ

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

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

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:

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

•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 ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΕΩΣ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ**

Σχεδόν στο σύνολό τους, οι ενόργανες τεχνικές αναλύσεως παρέχουν ως αποτέλεσμα της μετρήσεως την αριθμητική τιμή μιας φυσικής ή φυσικοχημικής παραμέτρου, η οποία συνδέεται άμεσα ή έμμεσα με την τιμή της επιθυμητής αναλυτικής πληροφορίας, που κατά κανόνα είναι η συγκέντρωση (εκφρασμένη σε χημικές ή φυσικές μονάδες), η απόλυτη ποσότητα μάζας ή περιεκτικότητα στα εκατό. Εξαίρεση στον παραπάνω κανόνα αποτελούν σύγχρονες μετρητικές διατάξεις, εφοδιασμένες με μικροϋπολογιστές, στις οποίες οι μετρήσεις και η οποιαδήποτε μαθηματική επεξεργασία των μετρούμενων τιμών και παρουσίαση του τελικού αποτελέσματος γίνονται αυτόματα. Οι διατάξεις αυτές έχουν, λόγω των ενσωματωμένων υπολογιστικών δυνατοτήτων τους, τη δυνατότητα να παρουσιάσουν το αποτέλεσμα απευθείας στην επιθυμητή μορφή και ακόμη με πλήρη στατιστικά στοιχεία αξιοπιστίας (τυπική απόκλιση μετρήσεων, όρια αξιοπιστίας κλπ.).

Είτε λογιστικά, είτε με τη βοήθεια ενσωματωμένων ηλεκτρονικών υπολογιστών η μετατροπή της τιμής της μετρούμενης παραμέτρου σε αναλυτική πληροφορία (στην επιθυμητή έκφραση) πραγματοποιείται με μία από τις διαθέσιμες τεχνικές ποσοτικοποίησης (quantification techniques), οι κυριότερες των οποίων περιγράφονται στη συνέχεια.

### **Τεχνική καμπύλης αναφοράς (ή εργασίας)**

Η τεχνική της καμπύλης αναφοράς (calibration-curve technique) ή τεχνική της καμπύλης εργασίας (working-curve technique) βασίζεται στη βαθμονόμηση της διατάξεως μετρήσεως με τη χρήση προτύπων (standards) του προσδιοριστέου συστατικού. Η χάραξη της καμπύλης αναφοράς σε χιλιοστομετρικό χάρτη πραγματοποιείται μετά τη μέτρηση της παραμέτρου P σε N πρότυπα διαλύματα ή (πολύ σπανιότερα) στερεά πρότυπα δείγματα (π.χ. σε ορισμένες τεχνικές εκπομπής ακτινοβολίας). Η καμπύλη αναφοράς είναι ένα διάγραμμα στο Καρτεσιανό επίπεδο, όπου στον άξονα τεταγμένων τίθενται οι τιμές της παραμέτρου P και στον άξονα των τετμημένων οι τιμές X (σχήμα). Ο αριθμός N πρέπει να είναι όσο μεγαλύτερος, όσο μεγαλύτερη είναι η απαιτούμενη

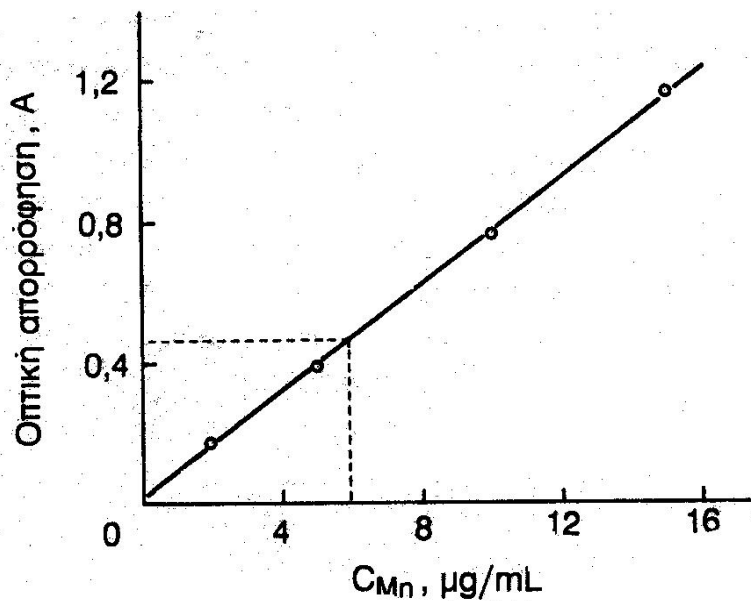
αξιοπιστία των μετρούμενων τιμών  $P$ . Ο απολύτως ελάχιστος αριθμός μετρήσεων είναι **1**, όταν ισχύει η απλή αναλογική σχέση μεταξύ της μετρούμενης παραμέτρου  $P$  και της αναλυτικής πληροφορίας  $X$

$$P = \alpha X$$

και **2**, όταν ισχύει η γενικότερη γραμμική σχέση

$$P = \alpha X + \beta$$

Στο διάγραμμα σημειώνεται με ευκρίνεια η θέση καθενός πειραματικού σημείου  $(P_1, X_1), (P_2, X_2), \dots, (P_N, X_N)$  και με τη βοήθεια χάρακα ή καμπυλόγραμμου χαράζεται η ευθεία ή η καμπύλη γραμμή που ορίζεται από τα σημεία αυτά. Κατά κανόνα, λόγω αναπόφευκτων πειραματικών σφαλμάτων, ατελειών της μετρητικής διατάξεως, θορύβου κλπ., τα πειραματικά σημεία εμφανίζονται με μία φυσιολογική διασπορά (scattering). Στην περίπτωση αυτή, η γραμμή (ευθεία ή καμπύλη) χαράζεται έτσι, ώστε να διέρχεται ανάμεσα από τα πειραματικά σημεία. Σε καμιά περίπτωση δεν επιτρέπεται η χάραξη τεθλασμένων γραμμών (από πειραματικό σημείο σε πειραματικό σημείο). Επίσης δεν επιτρέπεται, παρά μόνο καταχρηστικά, η εξαγωγή αναλυτικών συμπερασμάτων για δείγματα, των οποίων η τιμή της μετρούμενης παραμέτρου  $P$  βρίσκεται εκτός των ορίων των τιμών  $P$ , που ορίζονται από τα πρότυπα με τη μικρότερη και μεγαλύτερη περιεκτικότητα στο προσδιοριστέο συστατικό.



**Τυπική καμπύλη αναφοράς για το φωτομετρικό προσδιορισμό μαγγανίου.**

**Σχήμα.** Τυπική καμπύλη αναφοράς για το φωτομετρικό προσδιορισμό μαγγανίου. 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 µg/mL (ppm). 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 µg/mL.

Εφόσον ισχύουν οι παραπάνω γραμμικές σχέσεις, 3 ως 6 μετρήσεις προτύπων είναι αρκετές στις περισσότερες περιπτώσεις. Περισσότερα πρότυπα απαιτούνται, όταν δεν υφίσταται γραμμική σχέση, οπότε πρέπει να αυξηθεί η πυκνότητα των πειραματικών σημείων, για να επιτευχθεί πιστότερη απόδοση της πραγματικής μορφής της καμπύλης αναφοράς.

Σε περίπτωση γραμμικής σχέσεως, για τον στατιστικά επακριβή υπολογισμό των παραμέτρων  $\alpha$  και  $\beta$  ( $\alpha$ : κλίση καμπύλης αναφοράς,  $\beta$ : τομή στον άξονα των τεταγμένων), μπορεί να χρησιμοποιηθεί επικουρικά η μέθοδος ελάχιστων τετραγώνων. Σε καμιά περίπτωση δεν επιτρέπεται να γίνει χρήση της μεθόδου ελάχιστων τετραγώνων αν α) δεν είναι εκ των προτέρων βέβαιη η γραμμική συσχέτιση των τιμών P και X και β) δε σχεδιασθεί προηγουμένως το καρτεσιανό διάγραμμα με πειραματικά σημεία επάνω σε αυτό, ώστε να αποκλεισθούν τυχόν

σημεία που εμφανώς απέχουν από την ευθύγραμμη απεικόνιση (λόγω ιδιαίτερα μεγάλων πειραματικών σφαλμάτων).

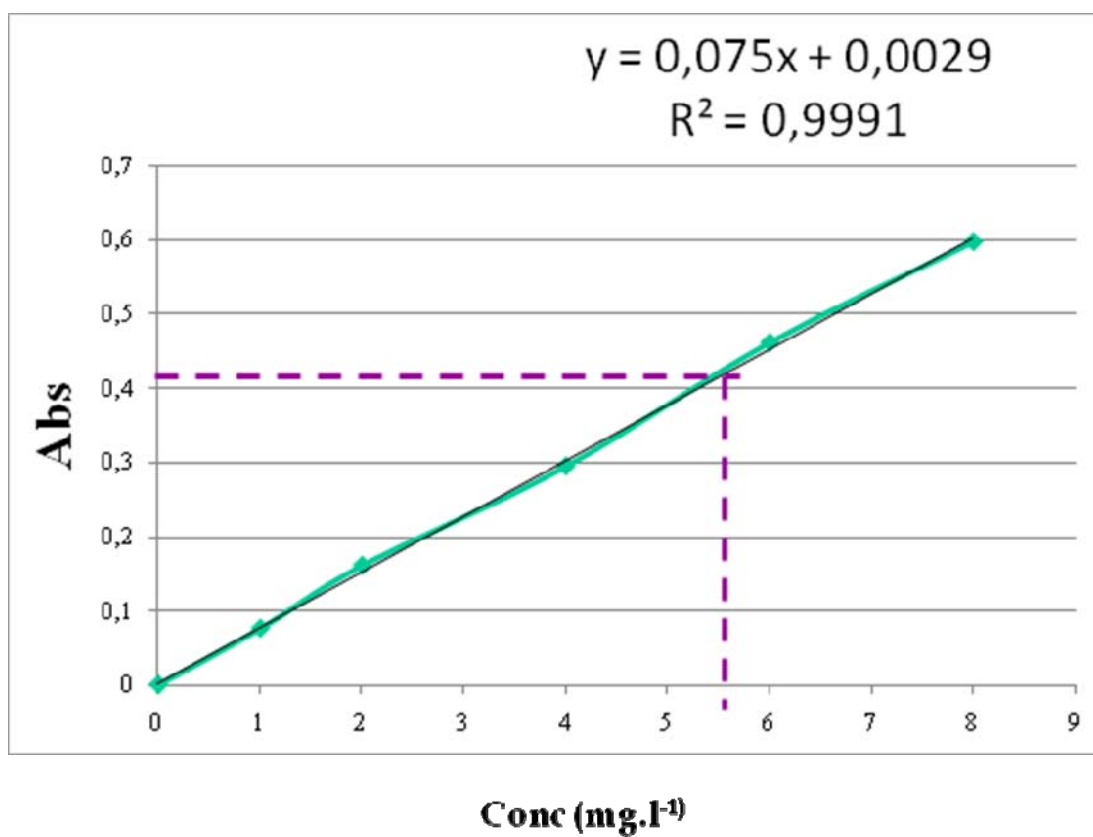
Η ποσοτικοποίηση των μετρήσεων με την τεχνική της καμπύλης αναφοράς (ή εργασίας) είναι ίσως η ακριβέστερη τεχνική, η ακρίβεια της οποίας μπορεί περαιτέρω να βελτιωθεί με μετρήσεις περισσότερων προτύπων ή με πολλαπλές μετρήσεις των ίδιων προτύπων και αγνώστων, μπορεί να οδηγήσει σε σημαντικά αναλυτικά σφάλματα, εάν δε ληφθούν υπόψη οι περιορισμοί στους οποίους υπόκειται.

Ο κύριος περιορισμός της τεχνικής της καμπύλης αναφοράς προκύπτει από την ίδια τη φύση της, αφού προϋποθέτει πανομοιότυπα αριθμητικά αποτελέσματα για διαλύματα (πρότυπα και άγνωστα) με την ίδια συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ουσίας. Σε πολλές όμως ενόργανες τεχνικές αναλύσεως το μετρούμενο σήμα  $P$  εξαρτάται και από παράγοντες που δεν επιδέχονται πειραματικό έλεγχο και αφορούν στην παρουσία και άλλων ουσιών στο μετρούμενο δείγμα. Η παρουσία των ουσιών αυτών μπορεί να επηρεάσει θετικά ή αρνητικά τόσο την κλίση της καμπύλης αναφοράς  $\alpha$ , όσο και την τιμή του σταθερού όρου  $\beta$ . Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται επίδραση μήτρας (matrix effect) και ουσιαστικά αχρηστεύει την οποιαδήποτε καμπύλη αναφοράς, όσο προσεκτικά κι αν έχει παρθεί και με οσοδήποτε μεγάλο αριθμό πειραματικών σημείων. Στην περίπτωση αυτή, ενδείκνυται η τεχνική της προσθήκης γνωστής ποσότητας.

Ανάλογη αιτία, που καθιστά ανεφάρμοστη την τεχνική της καμπύλης αναφοράς, είναι η οποιαδήποτε οργανολογική αστάθεια, που μπορεί να επηρεάσει τις τιμές των  $\alpha$  και  $\beta$ , όπως ακριβώς και η παρουσία άλλων συστατικών στο δείγμα. Σε περίπτωση οργανολογικής αστάθειας επιβάλλεται ο συχνός επανέλεγχος της καμπύλης αναφοράς με πρότυπα διαλύματα. Ως εναλλακτική λύση, μπορεί να εξετασθεί η δυνατότητα εφαρμογής της τεχνικής του εσωτερικού προτύπου.

**Παράδειγμα.** Διαλύματα γνωστής συγκέντρωσης  $\text{Cr}^{6+}$  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 <sup>-1</sup>	Απορρόφηση
0	0.000
1	0.076
2	0.161
4	0.295
6	0.462
8	0.598
άγνωστο	0.416



### Λύση.

Μέσω της εξίσωσης της ευθείας  $y = 0.0750x + 0.0029$  ισχύει

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

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

Αντικαθιστώντας για το άγνωστο έχουμε:

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

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

### ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΣΤΑΣΕΩΝ-ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΛΑΧΙΣΤΩΝ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ

Στην Ενόργανη Ανάλυση πολλές φορές πρέπει να γνωρίζουμε τη σχέση, που συνδέει δύο μεταβλητές  $x$  και  $y$ , ώστε να μπορεί να σχεδιαστεί η καμπύλη αναφοράς. Η σχέση αυτή βρίσκεται με σειρά μετρήσεων. Γενικά, για την εύρεση της σχέσεως μετρείται ποσότητα δείγματος (ανεξάρτητη μεταβλητή,  $x$ ), και μετά την κατάλληλη κατεργασία του, που μπορεί να περιλαμβάνει και χημικές αντιδράσεις, μετρείται η παράμετρος  $y$  (εξαρτημένη μεταβλητή) (π.χ. απορρόφηση διαλύματος, βάρος ιζήματος), οπότε έχουμε τη σχέση

$$y = f(x)$$

Στην πράξη, συνήθως η σχέση είναι γραμμική, οπότε η σχέση γίνεται  $y = ax + \beta$  όπου  $a$  είναι η κλίση της ευθείας, δηλαδή η μεταβολή του  $y$  για μεταβολή του  $x$  κατά μία μονάδα, και  $\beta$  είναι η τομή της ευθείας με τον άξονα των  $y$  (δηλαδή η τιμή του  $y$  για  $x=0$ ). **Για την αντικειμενική χάραξη της καλύτερης καμπύλης (ευθείας) συνήθως εφαρμόζεται η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων**, που βασίζεται στην αρχή, ότι η καλύτερη καμπύλη (ευθεία) είναι εκείνη, για την οποία το άθροισμα των τετραγώνων των αποκλίσεων είναι ελάχιστο. (Η αρχή αυτή εφαρμόζεται και στη γραφική χάραξη της γραμμής, οπότε επιδιώκουμε η γραμμή να απέχει κατά το δυνατόν εξίσου από τα σημεία ή να αφήνει στις δύο πλευρές της ίσο αριθμό σημείων). Για την περίπτωση της εξισώσεως  $y = ax + \beta$  βρίσκεται ότι



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

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

Με βάση τις υπολογισθείσες τιμές των συντελεστών α και β χαράζουμε καμπύλη, γνωστή ως *ευθεία παλινδρομήσεως* ή *συμμεταβολής* (regression line), που παρέχει την άριστη γραμμική προσαρμογή των σημείων. Το μέτρο της καλής προσαρμογής μεταξύ των δύο μεταβλητών, x και y, δίνεται από τον συντελεστή *συσχετίσεως* (correlation coefficient) r, που παρέχεται από τη σχέση

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

Η προσαρμογή είναι τόσο καλύτερη, όσο πλησιέστερα προς τη μονάδα βρίσκεται η τιμή του r. Μία καμπύλη αναφοράς θεωρείται ικανοποιητική για τιμές  $0,95 < |r| < 0,99$ , ενώ τιμές  $|r| > 0,99$  υποδηλώνουν πολύ καλή γραμμικότητα.

Η μέθοδος των ελαχίστων τετραγώνων χρησιμοποιείται επίσης για τον καθορισμό του είδους πιθανού συστηματικού σφάλματος, οπότε γίνεται προσαρμογή της σχέσεως  $y = f(x)$ , καθώς και για τη σύγκριση δύο μεθόδων. Οι απαραίτητοι υπολογισμοί γίνονται εύκολα με ηλεκτρονική αριθμομηχανή, αφού κατασκευασθεί ο σχετικός πίνακας. Σε πολλούς τύπους αριθμομηχανών υπάρχουν έτοιμες υπορουτίνες για τη στατιστική αυτή ανάλυση, ενώ γίνεται εξαιρετικά εύκολη με τη βοήθεια μικροϋπολογιστή.

**Παράδειγμα.** Από τον κατωτέρω πίνακα δεδομένων να υπολογιστούν η κλίση της ευθείας, το σημείο τομής στον άξονα καθώς και το συντελεστή συσχετίσεως.

$x_i$	$y_i$	$x_i y_i$	$x_i^2$
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
$\Sigma x_i = 21$	$\Sigma y_i = 1.592$	$\Sigma x_i y_i = 9.134$	$\Sigma(x_i^2) = 121$

**Λύση.** Εφαρμόζοντας τους τύπους για την κλίση  $a$  και το σημείο τομής  $\beta$

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

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

βρίσκουμε ότι  $a = 0,075$  και  $\beta = 0,0029$

Ομοίως για το συντελεστή συσχέτισης ισχύει

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

$$r = \frac{(6)(9.134) - (21)(1.594)}{\sqrt{\{(6)(121) - (21)^2\}\{(6)(0.690) - (1.594)^2\}}}$$

$$r = 0.999$$

**Παράδειγμα.** Να βρεθεί η εξίσωση, που προσαρμόζεται στα παρακάτω πειραματικά δεδομένα, τα οποία πάρθηκαν κατά την κατασκευή καμπύλης αναφοράς μίας φωτομετρικής ανάλυσης, ο συντελεστής συσχέτισης  $r$  και η συγκέντρωση  $C$  ενός άγνωστου διαλύματος, που είχε απορρόφηση  $A$  ίση με 0,325.

$x$	(Συγκέντρωση $C$ , ppm)	1,00	2,00	3,00	4,00	5,00
$y$	(Απορρόφηση $A$ )	0,124	0,240	0,348	0,516	0,612

**Λύση.** Η εξίσωση της καμπύλης αναφοράς είναι  $A = \alpha C + \beta$ . Υπολογίζουμε τις τιμές  $x_i^2$ ,  $y_i^2$  και  $x_i y_i$  και αναγράφουμε τα αποτελέσματα στον ακόλουθο πίνακα:

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	
		$\Sigma x_i = 15,0$	$\Sigma y_i = 1,840$	$\Sigma x_i^2 = 55$	$\Sigma y_i^2 = 0,834880$	$\Sigma x_i y_i = 6,772$

Με αντικατάσταση των τιμών του παραπάνω πίνακα στις σχέσεις για τον υπολογισμό της κλίσης ( $\alpha$ ), της τομής ( $\beta$ ) και του συντελεστή συσχέτισης ( $r$ ) λαμβάνουμε:

$$\text{κλίση, } \alpha = \frac{(5 \times 6,772) - (15 \times 1,840)}{(5 \times 55) - (15)^2} = \frac{6,260}{50} = 0,1252$$

$$\text{τομή, } \beta = \frac{(55 \times 1,840) - (15 \times 6,772)}{(5 \times 55) - (15)^2} = \frac{-0,380}{50} = -0,0076$$

$$r = \frac{6,260}{\sqrt{50 \times [(5 \times 0,834880) - (1,840)^2]}} = \frac{6,260}{6,2801} = 0,997$$

Άρα η ζητούμενη εξίσωση είναι η

$$A = 0,1252 C_{\text{ppm}} - 0,0076$$

Η υψηλή τιμή του  $r$  υποδηλώνει καλή γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς. Η συγκέντρωση του αγνώστου βρίσκεται με αντικατάσταση της τιμής της απορροφήσεως του αγνώστου στην παραπάνω εξίσωση, οπότε έχουμε

$$C = [0,325 - (-0,0076)] / 0,1252 = 2,66 \text{ ppm}$$

### ΜΕΘΟΔΟΣ ΓΝΩΣΤΗΣ ΠΡΟΣΘΗΚΗΣ

Στη μέθοδο γνωστής προσθήκης (standard addition), γνωστές ποσότητες αναλύτη προστίθενται στο άγνωστο. Από την αύξηση του σήματος υπολογίζεται η ποσότητα του αναλύτη στο άγνωστο. Η μέθοδος προϋποθέτει ότι η απόκριση στον αναλύτη είναι γραμμική.

Η μέθοδος γνωστής προσθήκης 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 αραιώσης. Ας ονομάσουμε την αραιωμένη συγκέντρωση του αναλύτη  $[X]_f$ , όπου “ $f$ ” συμβολίζει το “τελικό”. Ορίζουμε την συγκέντρωση του προτύπου στο τελικό διάλυμα ως  $[S]_f$ . (Σημειώνουμε ότι οι χημικές ουσίες  $X$  και  $S$  είναι ίδιες.) 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 :

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

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

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

(Το κλάσμα (αρχικός όγκος / τελικός όγκος), που συσχετίζει την τελική με την αρχική συγκέντρωση, καλείται παράγοντας αραιώσης.)

Εκφράζοντας την αραιωμένη συγκέντρωση του αναλύτη,  $[X]_f$  με βάση την αρχική  $[X]_i$ , λύνουμε ως προς το  $[X]_i$ , επειδή όλοι οι άλλοι όροι της εξίσωσης γνωστής προσθήκης είναι γνωστοί.

**ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ.** Ορός που περιέχει  $\text{Na}^+$  δίνει σήμα 4,27 mV σε μια ανάλυση ατομικής εκπομπής. Έπειτα 5,00 mL από 2,08 M NaCl προστίθενται σε 95,0 mL ορού. Ο εμβολιασμένος ορός δίνει σήμα 7,98 mV. Βρείτε την αρχική συγκέντρωση του  $\text{Na}^+$  στον ορό.

**Λύση** Από την εξίσωση για την αραιωμένη συγκέντρωση του αναλύτη, η τελική συγκέντρωση του  $\text{Na}^+$  μετά την αραιώση 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 επομένως

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

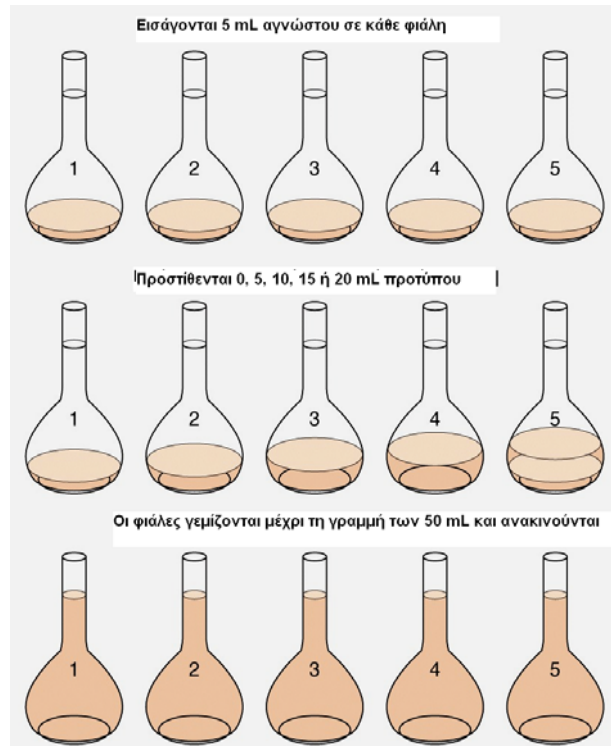
Η εξίσωση γνωστής προσθήκης γίνεται

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

### Γραφική προσέγγιση γνωστής προσθήκης

Υπάρχουν δύο κοινές μέθοδοι για την πραγματοποίηση γνωστής προσθήκης. Στη μέθοδο που απεικονίζεται στην εικόνα, ίσοι όγκοι αγνώστου εισάγονται σε αρκετές ογκομετρικές φιάλες. Στη συνέχεια, αυξανόμενοι όγκοι προτύπου

εισάγονται σε κάθε φιάλη και κάθε μια αραιώνεται στον ίδιο τελικό όγκο. Κάθε φιάλη περιέχει την ίδια συγκέντρωση αγνώστου και διαφορετικές συγκεντρώσεις προτύπου. (Σημειώνουμε ότι το πρότυπο είναι η ίδια ουσία με το άγνωστο.) Για κάθε φιάλη μετριέται το αναλυτικό σήμα,  $I_{s+x}$ . Το προστιθέμενο πρότυπο θα πρέπει να αυξάνει το αναλυτικό σήμα κατά έναν παράγοντα 1,5 και 3. 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.

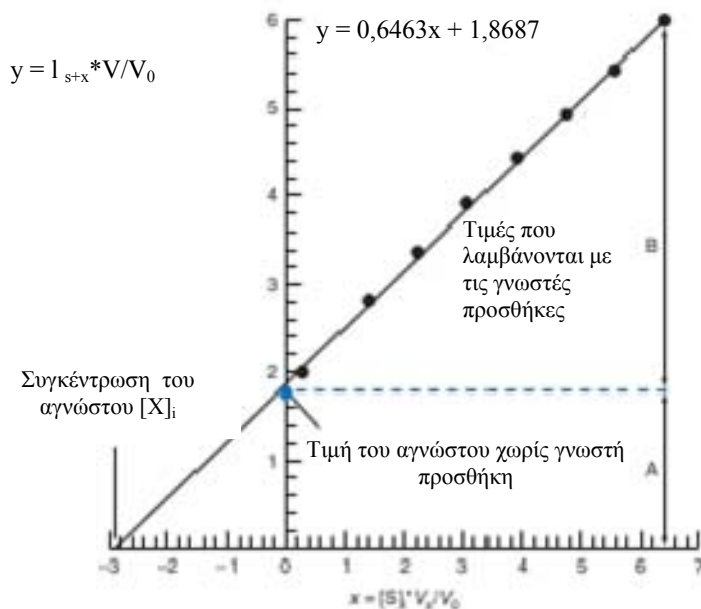
Στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζονται τα δεδομένα από ένα πείραμα στο οποίο μετριέται ασκορβικό οξύ (βιταμίνη C) σε χυμό πορτοκαλιού με μια ηλεκτροχημική μέθοδο. Το ρεύμα μεταξύ ενός ζεύγους ηλεκτροδίων που βυθίζονται στον χυμό

είναι ανάλογο με την συγκέντρωση του ασκορβικού οξέος. Οχτώ γνωστές προσθήκες αυξάνουν το ρεύμα από 1,78 σε 5,82  $\mu\text{A}$  (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( $\mu\text{A}$ )	$S_i \cdot V_s / V_o$	$I(s+x) \cdot V / V_o$
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	$D7 = A8 * B7 / A6$		$E7 = C7 * (A6 + B7) / A6$		

Δεδομένα για το πείραμα γνωστής προσθήκης με μεταβλητό ολικό όγκο

Και οι δύο μέθοδοι γνωστής προσθήκης μπορούν να αναλυθούν με το γράφημα της επόμενης εικόνας.



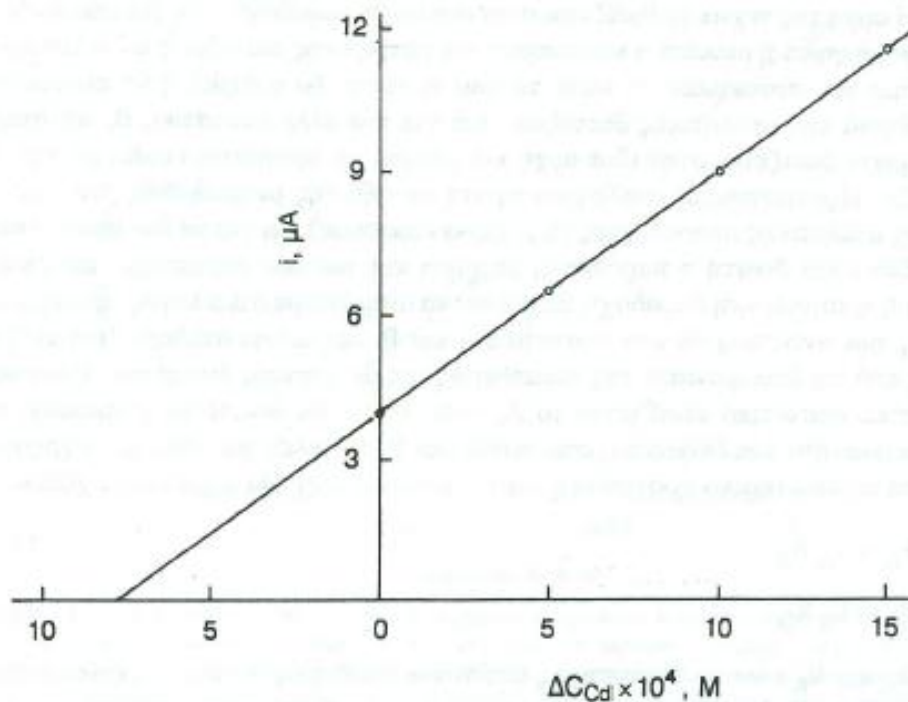
Εάν όλα τα δείγματα γνωστής προσθήκης παρασκευάζονται στον ίδιο σταθερό τελικό όγκο, τότε ένας άλλος τρόπος διαχείρισης των δεδομένων είναι η σχεδίαση του σήματος  $I_{s+x}$  ως προς την συγκέντρωση του αραιωμένου προτύπου  $[S]_f$ . Σε αυτή την περίπτωση, το σημείο τομής στον άξονα x του γραφήματος είναι η τελική συγκέντρωση του αγνώστου,  $[X]_f$ , μετά την αρραίωση στον τελικό όγκο δείγματος.

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

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

**Λύση.**





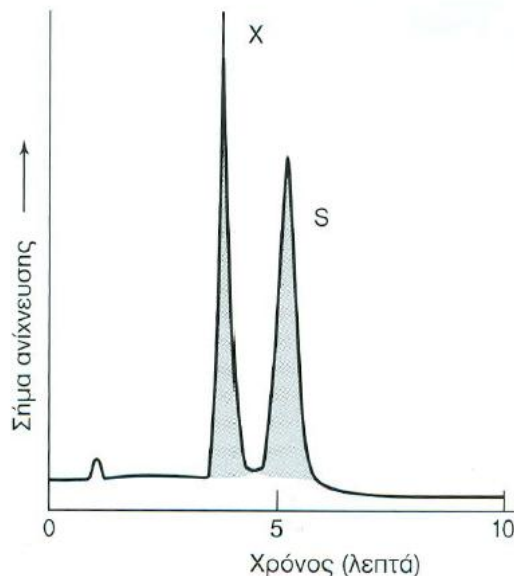
### Μέθοδος εσωτερικού προτύπου

Το εσωτερικό πρότυπο είναι μια γνωστή ποσότητα κάποιας ένωσης διαφορετικής από τον αναλύτη, η οποία προστίθεται το άγνωστο. Το σήμα από τον αναλύτη συγκρίνεται με το σήμα του εσωτερικού προτύπου και υπολογίζεται η ποσότητα του αναλύτη.

Τα εσωτερικά πρότυπα είναι 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. Παραδείγματος χάριν, οι ταχύτητες των αερίων και των υγρών που διαφέρουν κατά μερικά μέρη στα εκατό σε πειράματα χρωματογραφίας μπορούν να μεταβάλλουν την απόκριση του ανιχνευτή. Μια καμπύλη βαθμονόμησης είναι ακριβής μόνο στις συγκεκριμένες συνθήκες στις οποίες λήφθηκε. Ωστόσο, η σχετική απόκριση του ανιχνευτή στον αναλύτη και στο πρότυπο είναι συνήθως σταθερή για μεγάλο εύρος συνθηκών. Εάν το σήμα από το πρότυπο αυξάνεται κατά 8,4% λόγω μεταβολής της ταχύτητας ροής, το σήμα από τον αναλύτη συνήθως αυξάνεται επίσης κατά 8,4%. Όσο η συγκέντρωση του προτύπου είναι γνωστή, μπορεί να βρεθεί η

ακριβής συγκέντρωση του αναλύτη. Τα εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιούνται ευρύτατα στη χρωματογραφία επειδή η μικρή ποσότητα του δείγματος που εισάγεται στον χρωματογράφο δεν είναι επαναλήψιμη. Τα εσωτερικά πρότυπα είναι επίσης 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 μετρείται η σχετική απόκριση στις δύο ουσίες. Στο χρωματογράφημα της παρακάτω εικόνας 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.

Λόγου χάρη, 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. Σε αυτήν την περίπτωση λέμε ότι ο παράγοντας απόκρισης, F, είναι 2,30 φορές μεγαλύτερος για το X από ότι για το S.

**Παράγοντας απόκρισης:**

$$\frac{\text{Εμβαδόν σήματος αναλύτη}}{\text{Συγκέντρωση αναλύτη}} = F \left( \frac{\text{εμβαδόν σήματος}}{\text{συγκέντρωση προτύπου}} \right)$$

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

[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.

**ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ.** Σε ένα προκαταρκτικό 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.

**Λύση.** Αρχικά χρησιμοποιούμε το πρότυπο μείγμα για να βρούμε τον παράγοντα απόκρισης από την αντίστοιχη εξίσωση:

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

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

Στο μείγμα του αγνώστου και του προτύπου, η συγκέντρωση του S είναι

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

Αρχική συγκέντρωση Παράγοντας αραίωσης

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

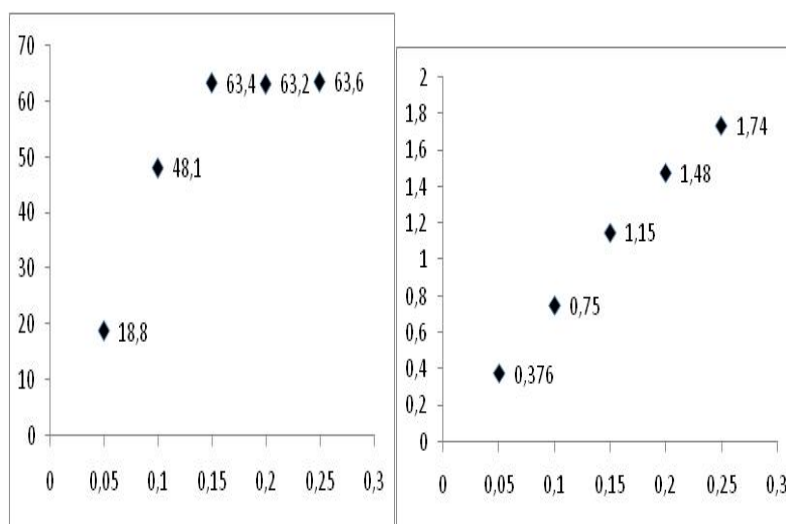
$$\begin{aligned} \text{Άγνωστο μείγμα: } \frac{A_X}{[X]} &= F \left( \frac{A_S}{[S]} \right) \\ \frac{553}{[X]} &= 0,97 \left( \frac{582}{0,0584} \right) \Rightarrow [X] = 0,0572 \text{ M} \end{aligned}$$

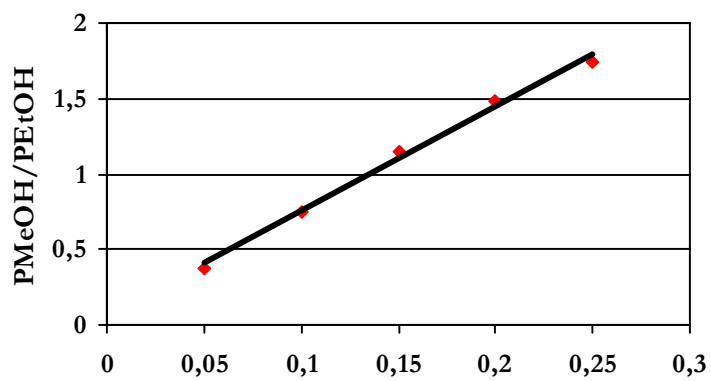
Επειδή το X αραιώνεται από τα 10,0 στα 25,0 mL κατά την ανάμειξή του με το S, η αρχική συγκέντρωση του X στο άγνωστο είναι  $(25,0 \text{ mL}/10,0 \text{ mL}) (0,0572 \text{ M}) = 0,143 \text{ M}$

**ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ.** 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 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

**Λύση.** 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)





$$y = 6,916x + 0,0618 \quad \% \text{ Μεθανόλη (w/v)}$$
$$R^2 = 0,9939$$