

ANALYTIKH XHMEIA



ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

- ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ
 - Ορισμοί
 - Σύγκριση Αναλυτικών Μεθόδων
- ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ με βάση την αρχή τεχνικής μέτρησης
- ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ
- ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Καθηγητές
Βασίλης Σταθόπουλος Όλγα Αρβανίτη

ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

- **Ενόργανες τεχνικές** είναι το σύνολο των αναλυτικών τεχνικών που βασίζονται στη μέτρηση μιας **φυσικής ιδιότητας** που σχετίζεται με τη μάζα ή τη συγκέντρωση του συστατικού.
- Η ονομασία **ενόργανη τεχνική (instrumental technique)** προέρχεται από το γεγονός ότι για την εκτέλεση της ενόργανης τεχνικής απαιτείται η χρησιμοποίηση κάποιου οργάνου (instrument). Εξαίρεση αποτελούν τα συνηθισμένα ογκομετρικά σκεύη και ο ζυγός.
- Στην πραγματικότητα σαφής και αντικειμενική διάκριση μεταξύ κλασσικών και ενόργανων τεχνικών ανάλυσης δεν υφίσταται.

ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

- Για την εφαρμογή **κλασσικών τεχνικών ανάλυσης**
 1. Απαιτούνται ποσότητες δειγμάτων και μικρή ευαισθησία της τάξης των μερικών mg. Σε αντίθεση, οι ενόργανες τεχνικές αναλύσεως επιτρέπουν τον προσδιορισμό ιχνοποσοτήτων (της τάξης των μερικών μg και λιγότερο).
 2. Οι κλασσικές τεχνικές είναι αδύνατο να εφαρμοστούν σε περιπτώσεις που απαιτείται προσδιορισμός συστατικών με παρόμοιες χημικές ιδιότητες (π.χ. προσδιορισμός επιμέρους λιπαρών οξέων σε βρώσιμα λίπη και έλαια)
 3. Οι κλασσικές τεχνικές είναι εξ' ορισμού καταστροφικές για το δείγμα.
 4. Οι κλασσικές τεχνικές ανάλυσης δεν επιδέχονται αυτοματοποίηση, επομένως απαιτούν πολύ χρόνο.
 5. Οι ενόργανες τεχνικές είναι αυτόματες, άρα απαιτούν λίγο χρόνο.
 6.

ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Πλεονεκτήματα

- Ταχύτητα
- Ευαισθησία
- Ανάλυση μικρών ποσοτήτων δείγματος
- Δυνατότητα αυτοματοποίησης

Μειονεκτήματα

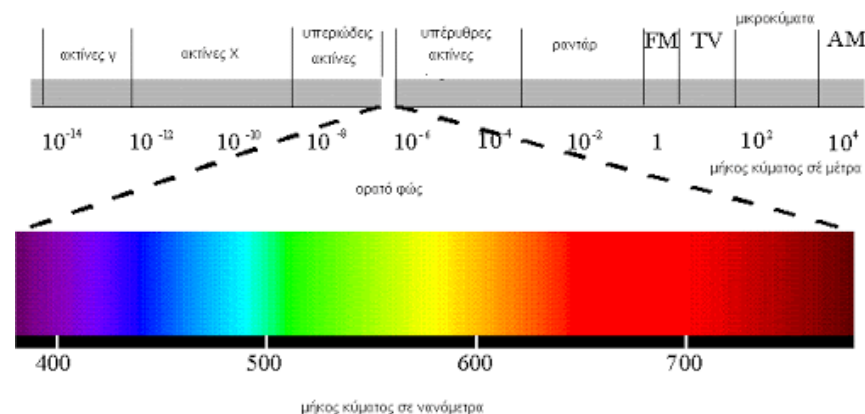
- Κόστος απαιτούμενων οργάνων

ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

- Όλες οι **ενόργανες τεχνικές** περιλαμβάνουν τα ακόλουθα στάδια:
 1. Παραγωγή του **σήματος-φορέα** της αναλυτικής πληροφορίας
 2. Ανίχνευση του σήματος με τη βοήθεια κατάλληλου **μεταλλάκτη** εισόδου
 3. Ενίσχυση και τροποποίηση του ηλεκτρικού σήματος ώστε να αποκτήσει τη μαθηματικά επιθυμητή μορφή
 4. Παρουσίαση της απόλυτης ή σχετικής τιμής του σήματος σε ψηφιακή μορφή
- ❖ Φορέας της αναλυτικής πληροφορίας δεν είναι πάντοτε μόνο η τιμή του σήματος-φορέα αλλά και ο τρόπος μεταβολής της τιμής ως προς μια άλλη φυσική ή χημική ποσότητα (π.χ. τον όγκο αντιδραστηρίου ή το χρόνο).

ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- ❑ Οι ενόργανες τεχνικές ταξινομούνται ανάλογα με τη φύση του παρακολουθούμενου σήματος-φορέα της αναλυτικής πληροφορίας.
- Δυο μεγάλες κατηγορίες ενόργανων τεχνικών είναι οι **ηλεκτροχημικές** και οι **οπτικές τεχνικές**.
 - Στις ηλεκτροχημικές τεχνικές παρακολουθούνται ιδιότητες όπως το δυναμικό ηλεκτροδίων, το ρεύμα που διαρρέει ηλεκτρολυτικά στοιχεία και η αντίσταση διαλυμάτων.
 - Στις οπτικές τεχνικές η μετρούμενη ιδιότητα είναι συνήθως η ισχύς/ένταση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.



ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- ❑ Οι ενόργανες τεχνικές ταξινομούνται ανάλογα με τη φύση του παρακολουθούμενου σήματος φορέα της αναλυτικής πληροφορίας.
- Μια τρίτη ξεχωριστή κατηγορία ενόργανων τεχνικών είναι οι **χρωματογραφικές τεχνικές**.
- Τεχνικές οι οποίες δεν μπορούν να καταταγούν στις παραπάνω κατηγορίες αποτελούν τις **ειδικές τεχνικές ανάλυσης**.

Πίνακας 1-1. Ταξινόμηση των ενόργανων τεχνικών αναλύσεως

Γενική / μερική κατηγορία	Ονομασία τεχνικής	Αρχή τεχνικής	Μετρούμενη ιδιότητα
ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΕΣ / ΙΣΟΡΡΟΠΙΑΣ	Ποτενσιομετρία	Ηλεκτρόδια αναπτύσσουν δυναμικό, που εξαρτάται από τη φύση και τη συγκέντρωση χημικών ουσιών	Δυναμικό / Δυναμικό ως προς όγκο αντιδραστήριου
	Αγωγιμομετρία	Η ηλεκτρική αγωγιμότητα διαλυμάτων εξαρτάται από τη συγκέντρωση ιοντικών σωματιδίων	Αγωγιμότητα / Αγωγιμότητα ως προς όγκο αντιδραστήριου
ΗΛΕΚΤΡΟΧΗΜΙΚΕΣ / ΔΥΝΑΜΙΚΕΣ	Ηλεκτροσταθμική ανάλυση	Ηλεκτρικό φορτίο σε περισσεια προκαλεί ποσοτική απόθεση της ουσίας σε επιφάνεια ηλεκτροδίου	Μάζα αποτιθέμενης ουσίας
	Κουλομετρία	Ηλεκτρικό φορτίο σε στοιχειομετρική ποσότητα προκαλεί οξείδωση ή αναγωγή της ουσίας	Ηλεκτρικό φορτίο
	Βολταμμετρία	Το ρεύμα που διέρχεται από ηλεκτρολυτικό στοιχείο εξαρτάται από το εφαρμοζόμενο δυναμικό, τη φύση και τη συγκέντρωση ουσιών που συμμετέχουν σε ηλεκτροδιακές αντιδράσεις	Ρεύμα ως προς δυναμικό / Ρεύμα ως προς χρόνο / Ρεύμα ως προς όγκο αντιδραστήριου
ΟΠΤΙΚΕΣ / ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ	Φασματοφωτομετρία ακτίνων Χ	Οι ακτίνες Χ απορροφούνται από άτομα προκαλώντας ενεργειακές μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εσωτερικών στιβάδων	Εξασθένιση ακτινοβολίας / Ενταση ακτινοβολίας ως προς μήκος κύματος
	Φασματοφωτομετρία υπεριώδους- ορατού	Η ακτινοβολία από ιόντα ή μόρια προκαλεί ενεργειακές μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εσωτερικών στιβάδων και μοριακών τροχιακών	ως άνω

Γενική / μερική κατηγορία	Ονομασία τεχνικής	Αρχή τεχνικής	Μετρούμενη ιδιότητα
ΟΠΠΚΕΣ / ΕΚΠΟΜ- ΠΗΣ	Φασματοφωτομετρία υπερυθρου	Η ακτινοβολία απορροφάται προκαλώντας ενεργειακές μεταπτώσεις στη δονητική ή περιστροφική κατάσταση μορίων ή χαρακτηριστικών ομάδων	ως άνω
	Φασματοφωτομετρία ατομικής απορροφησεως	Τα άτομα σε αερίωδη κατάσταση απορροφούν ακτινοβολία χαρακτηριστικού μήκους κύματος	Εξασθένιση ακτινοβολίας
	Φασματοσκοπία μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού (NMR)	Ο πυρήνας ορισμένων ισοτόπων αλλάζει κατάσταση spin απορροφώντας ακτινοβολία υπό την επίδραση μαγνητικού πεδίου	Εξασθένιση ακτινοβολίας ως προς την ένταση μαγνητικού πεδίου
	Θολωσιμετρία	Αιωρούμενα σωματίδια σκεδάζουν την προσπίπτουσα ακτινοβολία	Εξασθένιση της διερχομενης ακτινοβολίας
	Φασματοσκοπία εκπομπής	Άτομα, ιόντα ή μοριακά συκροτήματα διεγείρονται απορροφώντας θερμική ενέργεια. Αποδιεγείρονται επανεκπέμποντας την ενέργεια υπό τη μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	Μέτρηση εντάσεως ακτινοβολίας / Ένταση ως συνάρτηση του μήκους κύματος
	Φλογοφωτομετρία	Ός άνω, διεγείρουσα αιτία είναι η θερμότητα χημικής φλογας	ως άνω
	Φθορισμομετρία και φωσφοριμετρία	Ός άνω, διεγείρουσα αιτία είναι η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία (ακτίνες Χ, υπεριώδεις, ορατό)	ως άνω
	Χημειοφωταγεία	Κατά τη χημική αντίδραση εκλύεται ενέργεια υπό τη μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας	ως άνω / Ένταση ως συνάρτηση του χρόνου

Γενική / μερική κατηγορία	Ονομασία τεχνικής	Αρχή τεχνικής	Μετρούμενη ιδιότητα
ΟΠΤΙΚΕΣ / ΕΙΔΙΚΕΣ	Φασματοσκοπία Raman	Τα προσπίπτοντα φωτόνια επιδρούν στη δονητική κατάσταση του μορίου, σκεδάζονται χάνοντας μέρος της ενέργειας τους	Ένταση της σκεδαζόμενης ακτινοβολίας ως συνάρτηση του μήκους κύματος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας
	Νεφελομετρία	Ακτινοβολία σκεδάζεται από αιωρούμενα σωματίδια	Ένταση σκεδαζόμενης ακτινοβολίας
	Πολωσιμετρία	Μόρια με κέντρο ασυμμετρίας στρέφουν το επίπεδο πολωμένου φωτός	Μέτρηση γωνίας στροφής επιπέδου πολωμένου φωτός
	Διαθλασιμετρία	Ο δείκτης διαθλάσεως ενός διαλύματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση των διαλυμένων ουσιών	Δείκτης διαθλάσεως
	Κυκλικός διχρωισμός	Η ανισότροπη απορρόφηση των συνιστωσών πολωμένου φωτός εξαρτάται από το μήκος κύματος της ακτινοβολίας και τα στερεοχημικά χαρακτηριστικά ασύμμετρων μορίων	Γωνία περιστροφής ή απορρόφηση ως συνάρτηση του μήκους κύματος
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ	Αέριοχρωματογραφία, υγροχρωματογραφία και πολλοί άλλοι τύποι χρωματογραφιών	Μείγμα ουσιών παρασύρεται από μία κινητή φάση και κατανέμεται μεταξύ αυτής και μιάς στατικής φάσεως. Κάθε ουσία ανιχνεύεται κατά την έξοδό της από τη "χρωματογραφική" στήλη.	Ο χρόνος εκλούσεως για την ποιοτική ανάλυση και μεγάλος αριθμός φυσικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων για την ποσοτική ανάλυση
ΕΙΔΙΚΕΣ / ΘΕΡΜΟΜΕΤΡΙΚΕΣ	Θερμοσταθμική ανάλυση	Ο τρόπος που μεταβάλλεται το βάρος με τη θερμοκρασία είναι χαρακτηριστικός για κάθε ουσία	Βάρος ως συνάρτηση θερμοκρασίας
	Ενθαλπομετρία και	Το ποσό της θερμότητας, που εκλύεται ή	Διαφορά θερμοκρασίας / θερμο-

Γενική / μερική κατηγορία	Ονομασία τεχνικής	Αρχή τεχνικής	Μετρούμενη ιδιότητα
ΕΙΔΙΚΕΣ / ΡΑΔΙΟΧΗΜΙΚΕΣ	Θερμομετρικές ογκομετρήσεις	απορροφάται σε μία χημική αντίδραση, εξαρτάται από την ποσότητα ενός των αντιδρώντων	κρασία ως προς όγκο αντιδραστήριου
	Νετρονική ενεργοποίηση	Ορισμένοι πυρήνες μετά από βομβαρδισμό με νετρόνια καθίστανται ραδιενεργοί. Η ένταση της εκλύμενης ραδιενέργειας εξαρτάται από την αρχική ποσότητα των πυρήνων	Μέτρηση ακτινοβολιών α, β, γ
	Ισοτοπική αραίωση	Προστίθεται γνωστή ποσότητα ραδιενεργού ισοτόπου του προσδιοριστέου στοιχείου Χ στο δείγμα και απομονώνεται ποσότητα Χ. Η ραδιενέργεια της απομονωθείσης ποσότητας εξαρτάται από την αρχική ποσότητα του στοιχείου	ως άνω
ΕΙΔΙΚΕΣ / ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ		Μόρια υφίστανται θραύση από ταχέως προσπιπτοντα ηλεκτρόνια. Τα ηλεκτρικά φορτισμένα θραύσματα διαχωρίζονται υπό την επίδραση μαγνητικού πεδίου.	Το ρεύμα που αντιστοιχεί σε διάφορους λόγους μάζας προς φορτίο (m/z)
ΕΙΔΙΚΕΣ / ΚΙΝΗΤΙΚΕΣ		Η ταχύτητα μιάς αντιδράσεως εξαρτάται από τις συγκεντρώσεις των αντιδρώντων ή άλλων ουσιών (καταλύτες, ενεργοποιητές, παρεμποδιστές)	Φυσικοχημικές ιδιότητες ως συνάρτηση του χρόνου
ΕΙΔΙΚΕΣ / ΑΝΟΣΟΧΗΜΙΚΕΣ		Εξειδικευμένα αντισώματα καθίζουν η συζεύγνυνται με τα αντίστοιχα αντιγόνα που προσδιορίζονται	Ποικιλία φυσικών και φυσικοχημικών ιδιοτήτων

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- Η επιλογή μιας ενόργανης μεθόδου για την επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος πραγματοποιείται ανάλογα με:
 1. τη δυνατότητα εφαρμογής στο συγκεκριμένο δείγμα
 2. τη διαθέσιμη ποσότητα δείγματος
 3. την απαιτούμενη ακρίβεια του αποτελέσματος
 4. τη συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ουσίας στο δείγμα
 5. την ύπαρξη ή μη παρεμποδίζουσων ουσιών στο δείγμα (πολυπλοκότητα δείγματος)
 6. το κόστος και τη ταχύτητα αναλύσεως
 7. τη συχνότητα αναλύσεων

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- Σε πολλές περιπτώσεις, η επιλογή ενόργανης μεθόδου δεν επαφίεται στη διάθεση του αναλυτή αλλά επιβάλλεται από κανονιστικές διατάξεις και έχει προεπιλεγεί από επιτροπές επιστημονικών φορέων.
- Οι μέθοδοι αυτές χαρακτηρίζονται ως επίσημες και χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ποιότητας προϊόντων από κρατικούς φορείς ελέγχου.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- **Ισχύς (validity)** της μεθόδου συνδέει τα ειδικά χαρακτηριστικά της μεθόδου με τη φύση του προσδιοριστέου συστατικού.

π.χ. η φλωγοφωτομετρική ανάλυση έχει ισχύ για το προσδιορισμό του νατρίου, όχι όμως για το προσδιορισμό του αντιμονίου

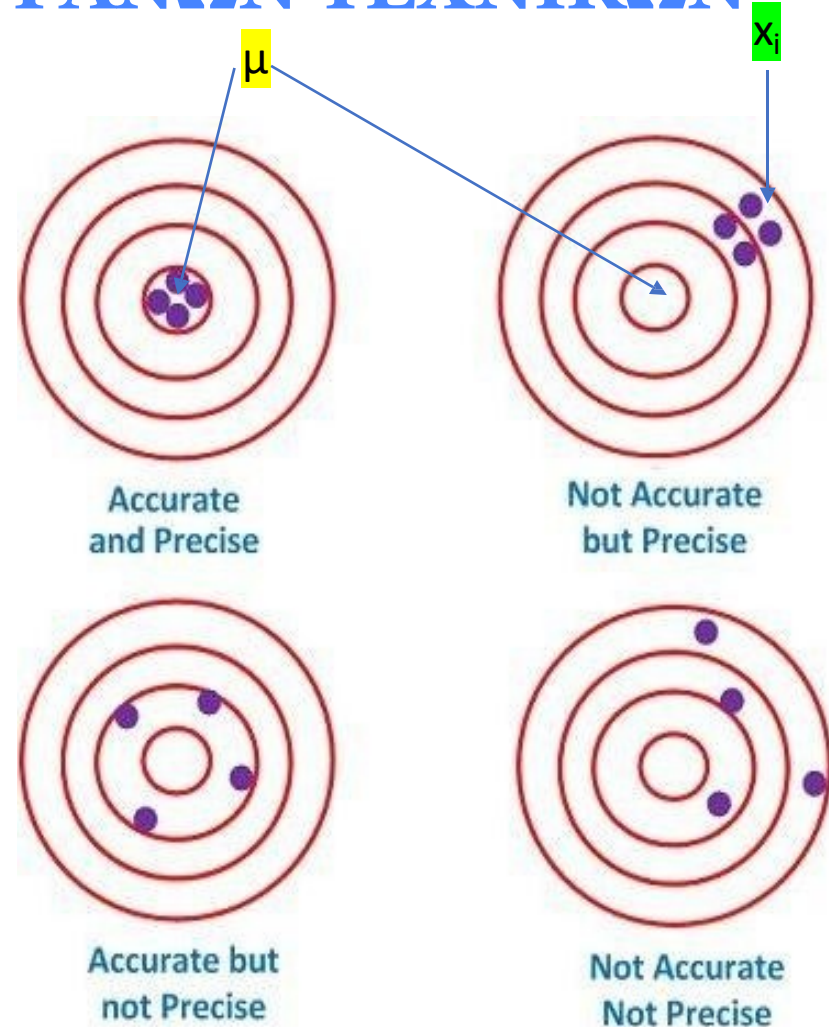
- **Εφαρμοσιμότητα (applicability)** μιας μεθόδου προϋποθέτει την ισχύ και αφορά στη δυνατότητα ή μη εφαρμογής της μεθόδου σε δεδομένο τύπο δείγματος

π.χ. ο φωτομετρικός προσδιορισμός ιχνοποσοτήτων σιδήρου έχει ισχύ και είναι εφαρμόσιμος σε φυσικά ύδατα, όμως δεν είναι εφαρμόσιμος σε βιομηχανικά απόβλητα, γιατί αυτά έχουν σημαντική συγκέντρωση κυανιούχων ανιόντων που δρουν ως παρεμποδίζουσες ουσίες.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- Η **αξιοπιστία (reliability)** μιας μεθόδου εκφράζεται με δυο στατιστικούς όρους:
 1. **Ακρίβεια (accuracy)**: Δείχνει την εγγύτητα μιας πειραματικής τιμής x_i προς την **αληθή τιμή μ** και εκφράζεται ως η διαφορά $x_i - \mu$ που ονομάζεται **απόλυτο σφάλμα** ή ως ο λόγος $(x_i - \mu) / \mu$ που καλείται **σχετικό σφάλμα**.
 2. **Επαναληψιμότητα (precision)**: Είναι μέτρο της διασποράς μιας σειράς μετρήσεων και εκφράζεται με τη **τυπική απόκλιση (standard deviation)** η οποία δίνεται από τη σχέση:

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



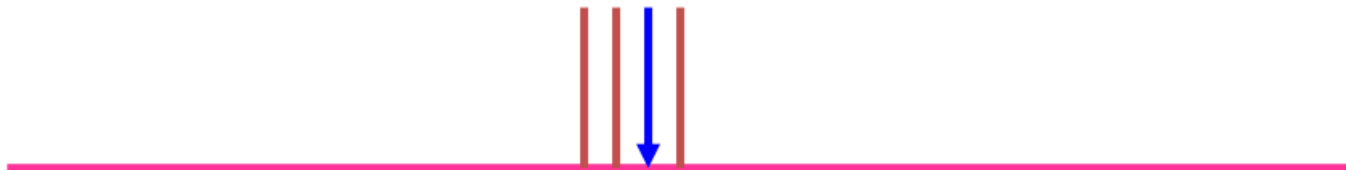
ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Ακρίβεια (Accuracy)

μας δείχνει πόσο κοντά είναι οι μετρήσεις μας στην σωστή ή πραγματική τιμή

καλή ακρίβεια

πραγματική τιμή



κακή ακρίβεια

πραγματική τιμή



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Επαναληψιμότητα (Precision)

μας δείχνει πόσο συμφωνούν οι μετρήσεις
μας μεταξύ τους

καλή επαναληψιμότητα

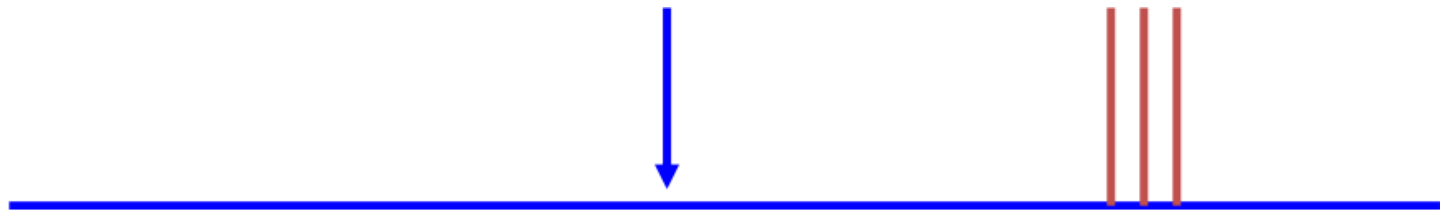


κακή επαναληψιμότητα



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα



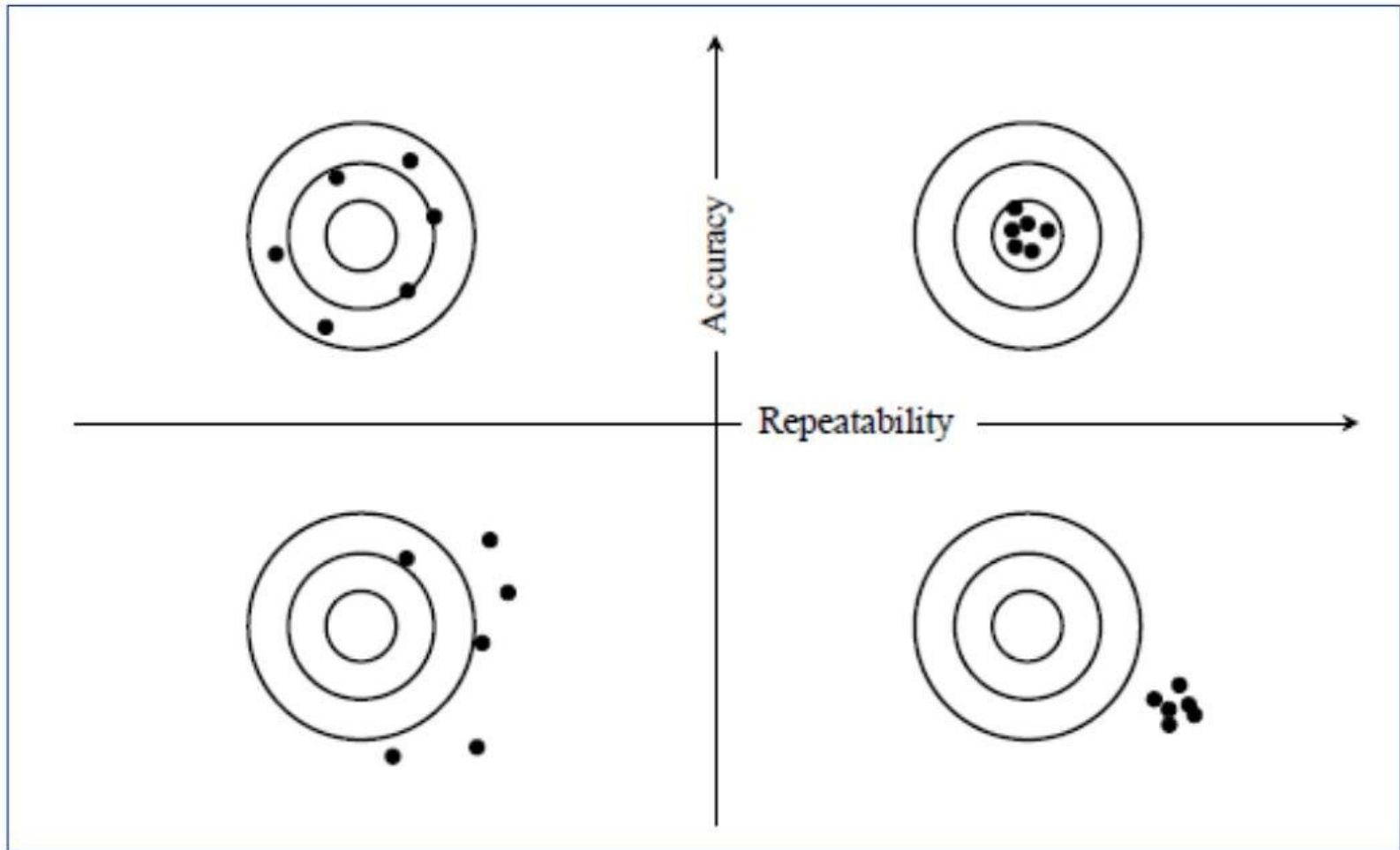
καλή επαναληψιμότητα αλλά κακή ακρίβεια



καλή επαναληψιμότητα και καλή ακρίβεια

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Επαναληψιμότητα (Precision)

- Η επαναληψιμότητα (Precision) μιας σειράς μετρήσεων χαρακτηρίζει τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ τους, μας δείχνει δηλαδή πόσο κοντά βρίσκονται μεταξύ τους τα αποτελέσματα.
- Η επαναληψιμότητα είναι τόσο καλύτερη όσο μικρότερη είναι η διασπορά των αποτελεσμάτων
- ως μέτρο επαναληψιμότητας χρησιμοποιείται κυρίως η μέση απόκλιση, τυπική απόκλιση και το εύρος,
εκφράζεται

μέση απόκλιση

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

τυπική απόκλιση
(standard deviation)

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

εύρος
(range)

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

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

Χρήσιμοι ορισμοί

Σφάλμα

$$E = \chi - \mu$$

Σχετικό σφάλμα

$$E_r = E/\mu$$

Σχετική μέση απόκλιση

$$d_r = d/\chi$$

Σχετική τυπική απόκλιση

$$s_r = s/\chi$$

Σχετικό εύρος

$$R_r = R/\chi$$

% Σχετικό σφάλμα

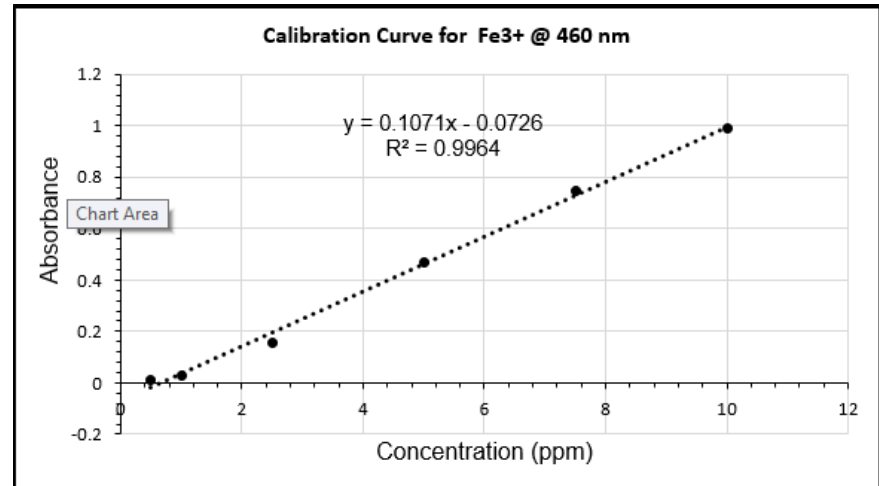
$$E_r \times 100$$

**% Σχετική τυπική απόκλιση
(RSD% , CV%)**

$$S_r \times 100$$

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- Η **ευαισθησία S (sensitivity)** μιας μεθόδου ορίζεται ως η πρώτη παράγωγος της συνάρτησης $P=f(X)$ και συνδέει την τιμή της μετρούμενης φυσικής ή φυσικοχημικής παραμέτρου P με την αναλυτική πληροφορία X , όπου X είναι συνήθως η συγκέντρωση ή μάζα ενός συστατικού. Δηλαδή: **$S=dP/dX$**
- Η ευαισθησία δίνεται ως κλίση της καμπύλης αναφοράς. Στις περισσότερες αναλυτικές τεχνικές η ευαισθησία είναι γραμμική.
- Έλλειψη γραμμικότητας μιας μεθόδου δε συνεπάγεται ότι η μέθοδος δεν έχει ισχύ ή εφαρμοσιμότητα.



ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- ✓ Η ευαισθησία είναι χαρακτηριστικό οργανολογικού χαρακτήρα. Επομένως δεν είναι δυνατόν να πραγματοποιηθούν συγκρίσεις ευαισθησίας δυο εντελώς διαφορετικών μεθόδων.
- ✓ Είναι όμως δυνατόν να συγκριθούν ως προς την ευαισθησία παραλλαγές μιας δεδομένης ενόργανης μεθόδου για δεδομένο αριθμό προσδιοριζόμενων συστατικών.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- **Όριο ανίχνευσης (Limit of detection, LOD):** Ορίζεται η μικρότερη συγκέντρωση ή ποσότητα του προσδιοριζόμενου συστατικού, που μπορεί να προσδιορισθεί με προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης (όρους αξιοπιστίας, δηλαδή ακρίβεια και επαναληψιμότητα).
- **Χρήσιμη αναλυτική περιοχή (useful analytical range)** ορίζεται από ανώτερο και κατώτερο όριο συγκεντρώσεων ή ποσοτήτων του προσδιοριστέου συστατικού, που μπορούν να προσδιοριστούν με προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης.
- Γενικά, οι ενόργανες μέθοδοι ανάλυσεως χαρακτηρίζονται από ευρείες χρήσιμες αναλυτικές περιοχές σε αντίθεση με τις κλασσικές μεθόδους αναλύσεως.
- **Όριο ποσοτικοποίησης (Limit of quantification, LOQ):** Η χαμηλότερη / μικρότερη ποσότητα μιας ουσίας που μπορεί να ποσοτικοποιηθεί / μετρηθεί με αξιοπιστία.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- **Εκλεκτικότητα (selectivity)** μιας μεθόδου χαρακτηρίζεται η δυνατότητα εφαρμογής της μεθόδου για μέτρηση του προσδιοριστέου συστατικού παρουσία άλλων παρεμποδίζουσων συστατικών.
- Εκφράζεται με μια ποικιλία τρόπων, που κατά κανόνα αποδίδουν το σφάλμα της μεθόδου για δεδομένη αναλογία παρεμποδιστή προς προσδιοριστέο συστατικό ή αντίστροφα τη μέγιστη ανεκτή αναλογία παρεμποδιστή προς προσδιοριστέο συστατικό που προκαλεί ορισμένο σφάλμα.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΝΟΡΓΑΝΩΝ ΤΕΧΝΙΚΩΝ

- **Ταχύτητα/Απόδοση (throughput)** μιας μεθόδου εκφράζεται συνήθως σε αριθμό αναλύσεων ανά χρονική μονάδα.
- ❖ Όταν αναφερόμαστε στην ταχύτητα/απόδοση πρέπει να διευκρινίζουμε αν ο χρόνος προετοιμασίας του δείγματος περιλαμβάνεται ή όχι.
- **Κόστος της μεθόδου** (αντιδραστήρια, εργατοώρα, κόστος του εξοπλισμού)

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

- Οι ενόργανες τεχνικές παρέχουν τη μέτρηση μιας φυσικοχημικής παραμέτρου (αναλυτική πληροφορία, σήμα, y) η οποία συνδέεται με τη συγκέντρωση, C

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

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

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

- Οι **ενόργανες τεχνικές** παρέχουν ως αποτέλεσμα της μέτρησης την αριθμητική τιμή μιας φυσικής ή φυσικοχημικής παραμέτρου, η οποία συνδέεται άμεσα με την τιμή της αναλυτικής πληροφορίας (συγκέντρωση).
- Οι κυριότερες **τεχνικές ποσοτικοποίησης (quantification techniques)**, δηλαδή μετατροπής της φυσικής ή φυσικοχημικής παραμέτρου σε αναλυτική πληροφορία είναι οι ακόλουθες:

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς/Μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων

- Βασίζεται στη βαθμονόμηση της διάταξης μέτρησης με τη χρήση **προτύπων (standards)** του προσδιοριστέου συστατικού.
- Πρόκειται για τη χάραξη της καμπύλης μετρούμενη φυσικοχημική ιδιότητα ως προς τη συγκέντρωση με τη **μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων**.
- Αυτό συμβαίνει γιατί υπάρχουν αναπόφευκτα πειραματικά σφάλματα, ατέλειες της μετρητικής διάταξης, θόρυβος κτλ.

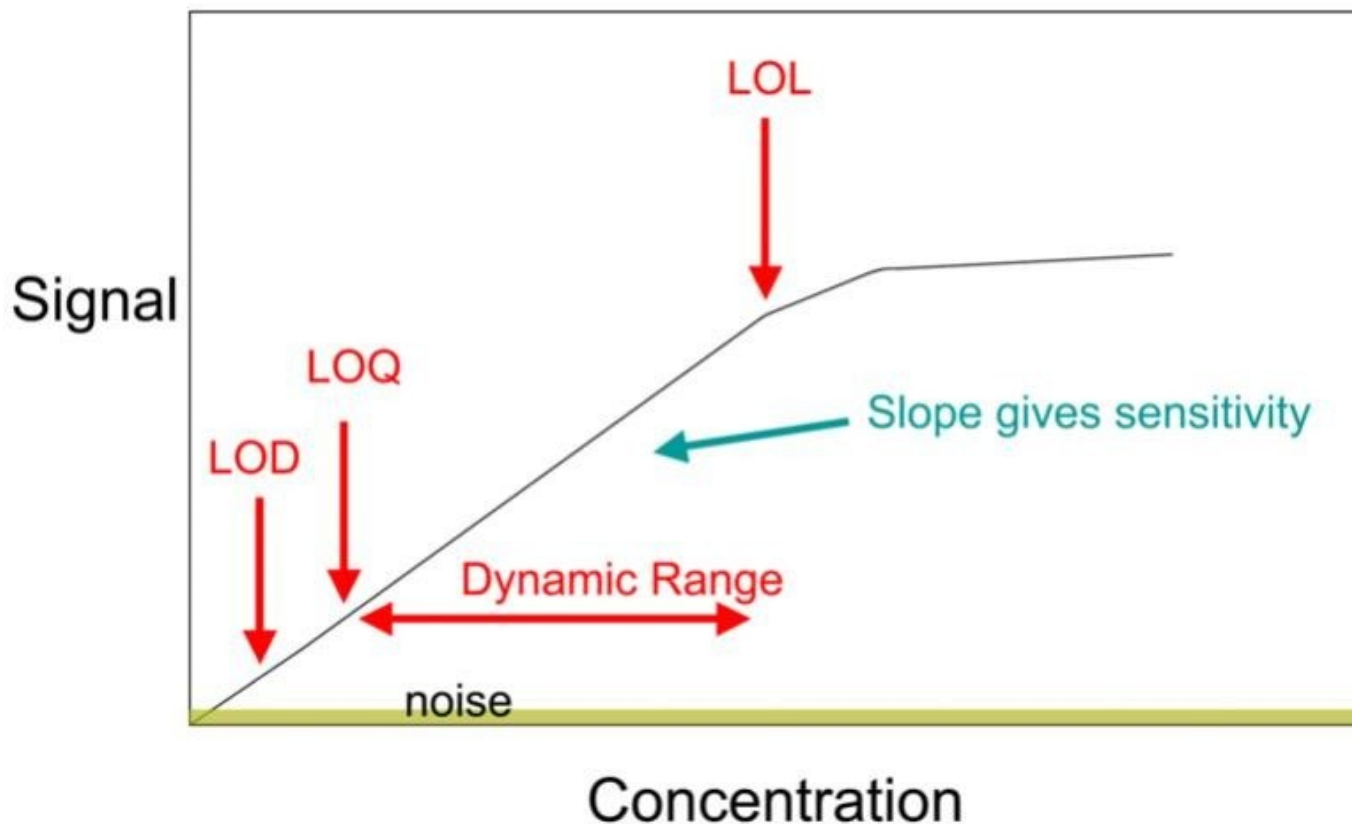
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς/Μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων

- Τα πρότυπα πρέπει να είναι ομοιόμορφα κατανεμημένα στη γραμμική περιοχή και οπωσδήποτε να περικλείουν τις αναμενόμενες συγκεντρώσεις αγνώστων.
- Ο αριθμός των προτύπων μπορεί να είναι 4-6 πρότυπα δείγματα.
- Τα πρότυπα αναλύονται πριν και μετά τα άγνωστα ή μεταξύ των αγνώστων.
- Κατασκευάζεται η καμπύλη αναφοράς, όπου στον άξονα των τεταγμένων τίθενται οι τιμές P_i και στον άξονα των τετμημένων οι τιμές x_i .
- Η συχνότητα κατασκευής της καμπύλης αναφοράς εξαρτάται από την ανθεκτικότητα της μεθόδου. Η καθημερινή κατασκευή της εξασφαλίζει αξιοπιστία, αλλά συνεπάγεται κόστος και χρόνο. Σε μεθόδους αυξημένης ανθεκτικότητας μπορεί να ελέγχεται με την ανάλυση ενός προτύπου.

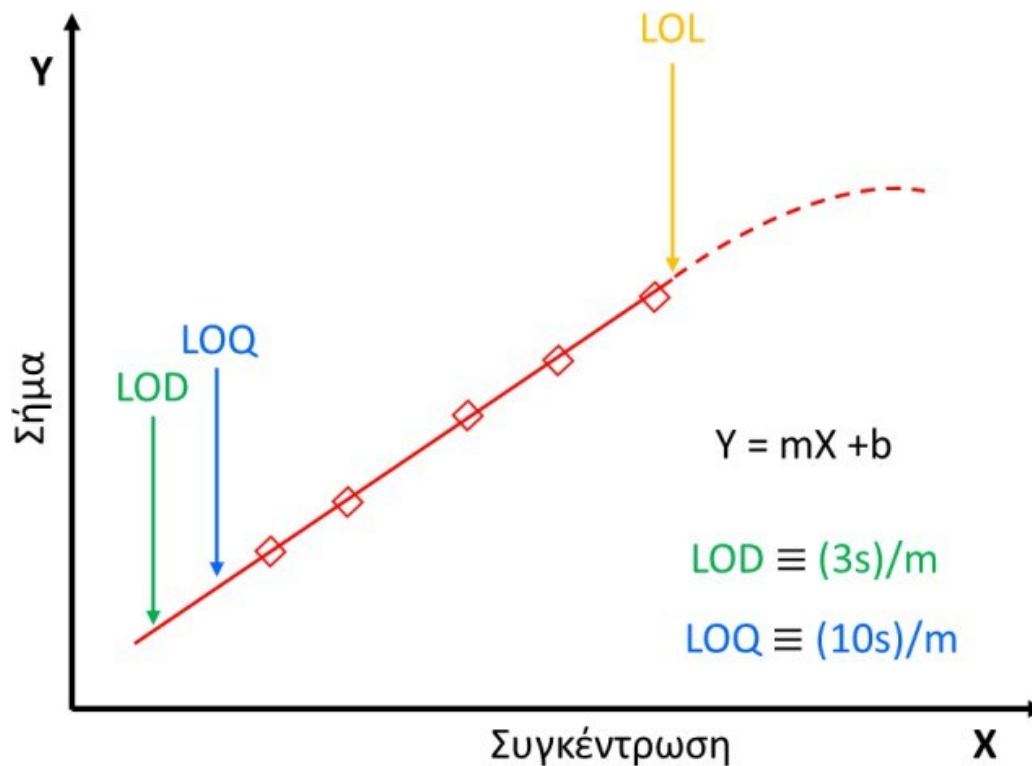
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς/Μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς/Μέθοδος πολλαπλών εξωτερικών προτύπων



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel

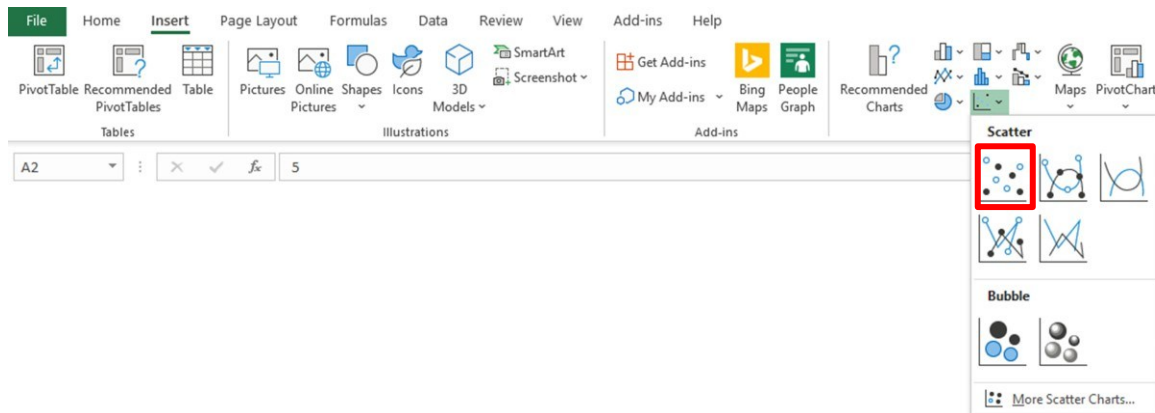
✓ Περνάμε τα δεδομένα στο Excel

	A	B
1	Συγκέντρωση Na ⁺ (μg/mL)	Αναλυτικό Σήμα
2	5	16
3	10	29
4	15	48
5	25	78
6	Άγνωστο Δείγμα	44

✓ Επιλέγουμε τα δεδομένα

	A	B
1	Συγκέντρωση Na ⁺ (μg/mL)	Αναλυτικό Σήμα
2	5	16
3	10	29
4	15	48
5	25	78
6	Άγνωστο Δείγμα	44

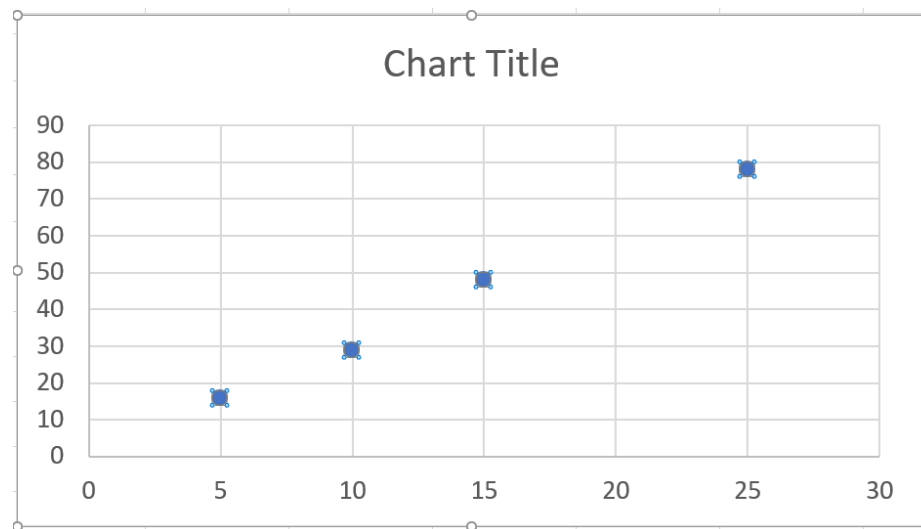
✓ Εισαγωγή>Γράφημα
με τα σημεία



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

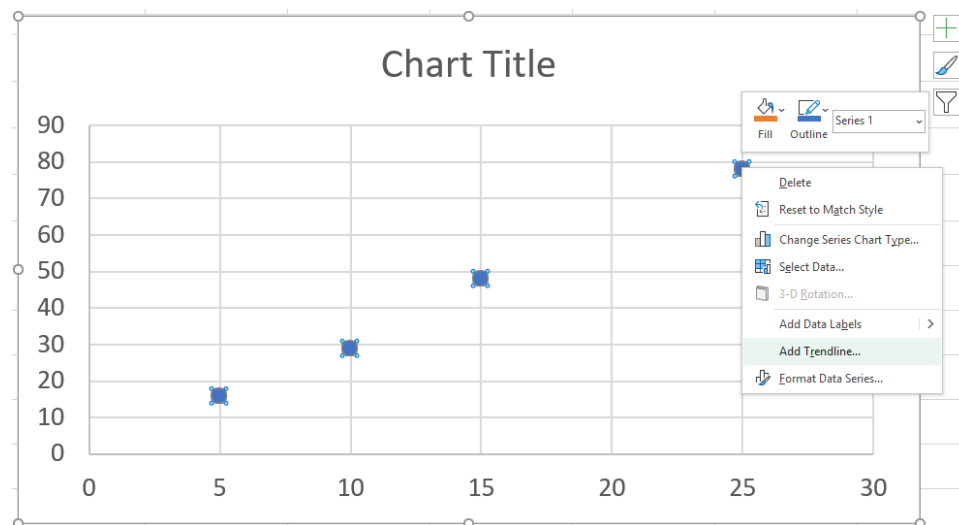
1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel

✓ Επιλογή των σημείων της γραφικής παράστασης



✓ Δεξί κλικ σε ένα από τα σημεία

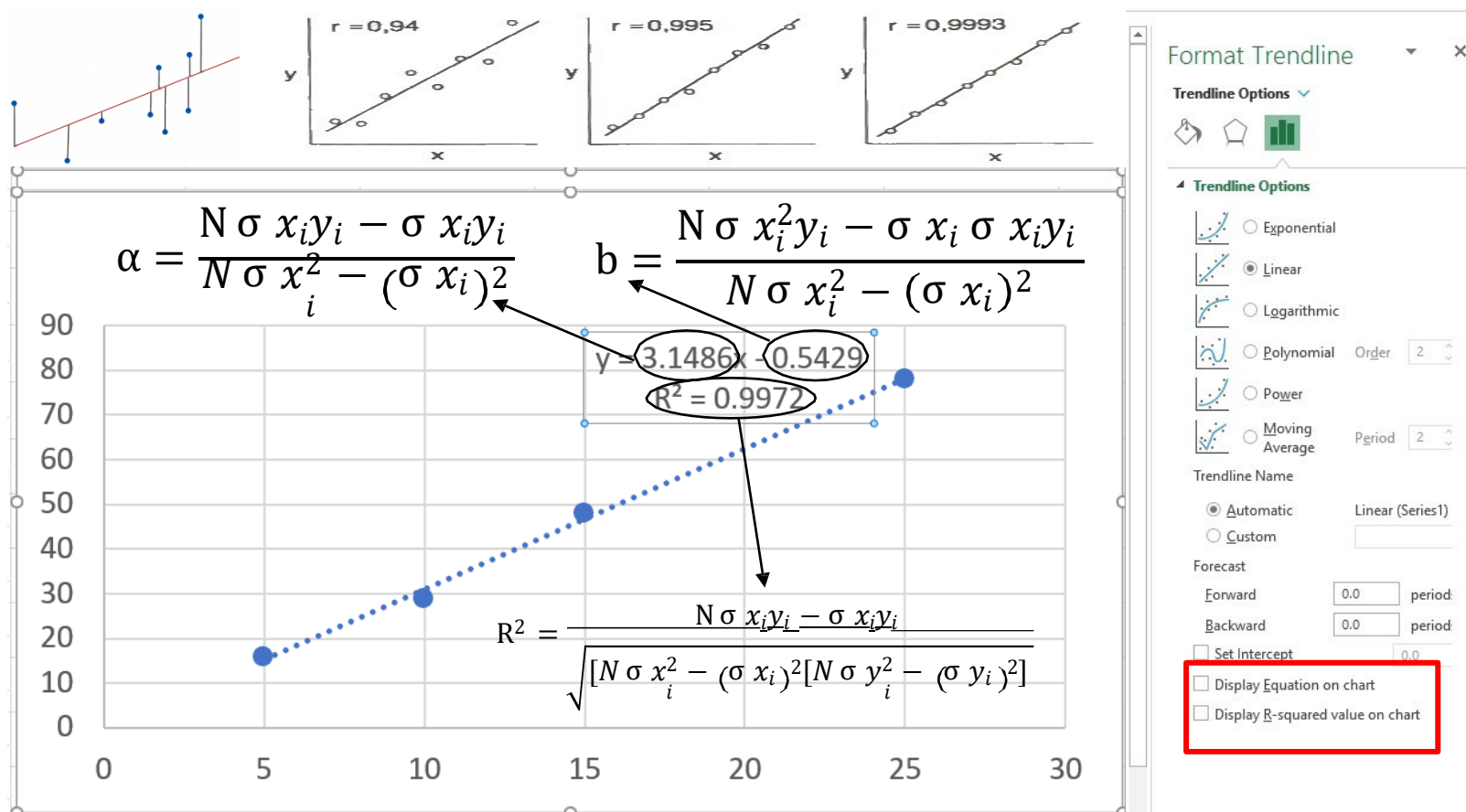
✓ Εισαγωγή γραμμής τάσης



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

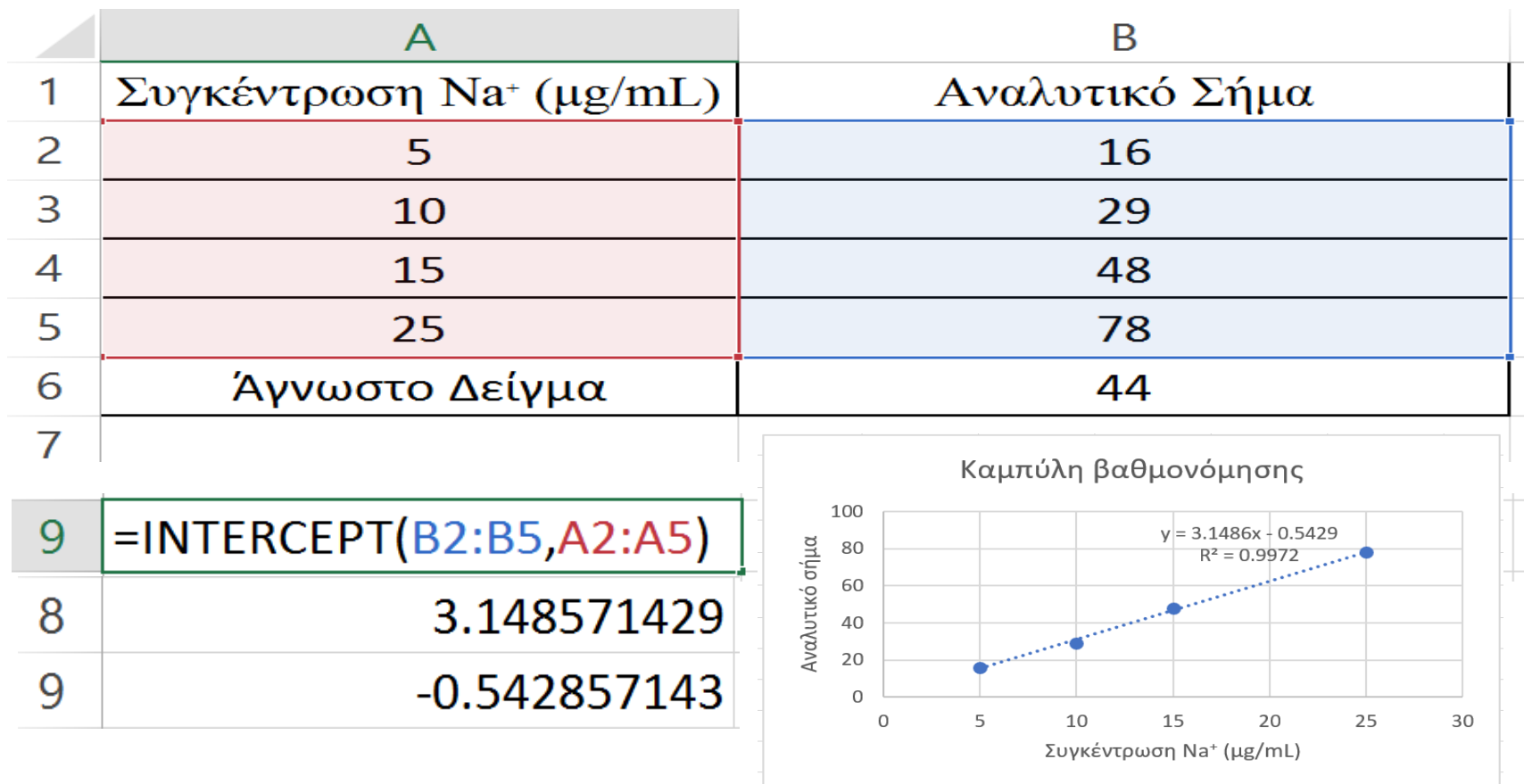
1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel

- ✓ Επιλογή για αναπαράσταση της εξίσωσης ελαχίστων τετραγώνων
- ✓ Επιλογή για εμφάνιση του R^2



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

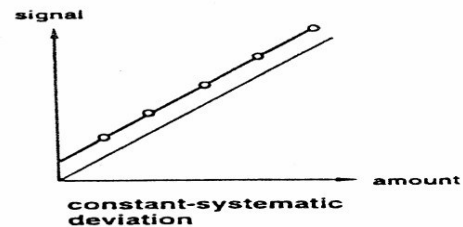
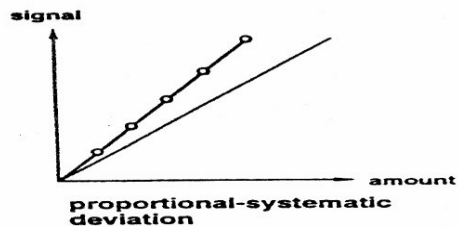
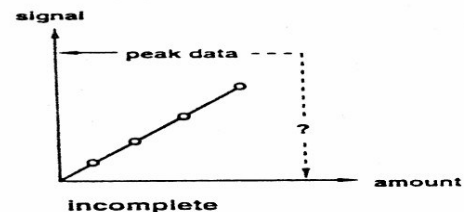
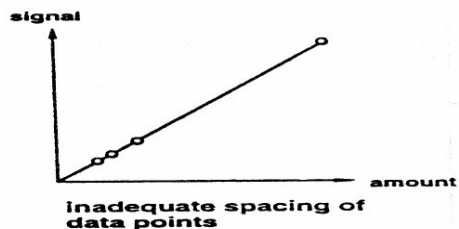
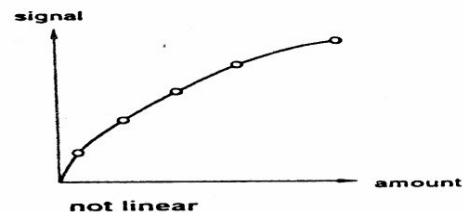
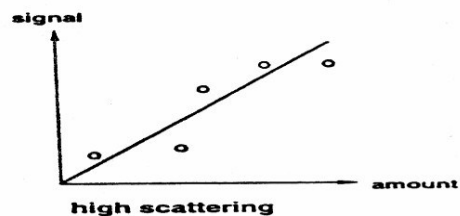
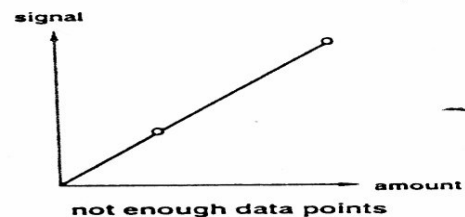
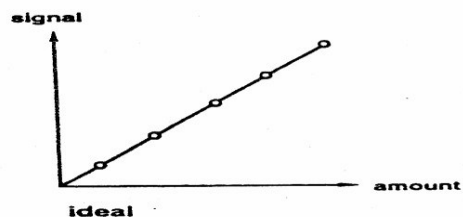
1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel



$$y = 3.1486 * x - 0.5429 \longrightarrow \text{σήμα} = 3.1486 * \text{συγκέντρωση} - 0.5429 \Rightarrow$$
$$44 = 3.1486 * \text{συγκεντρωση} - 0.5429 \Rightarrow$$
$$\text{συγκέντρωση} = 13.8 \mu\text{g/mL}$$

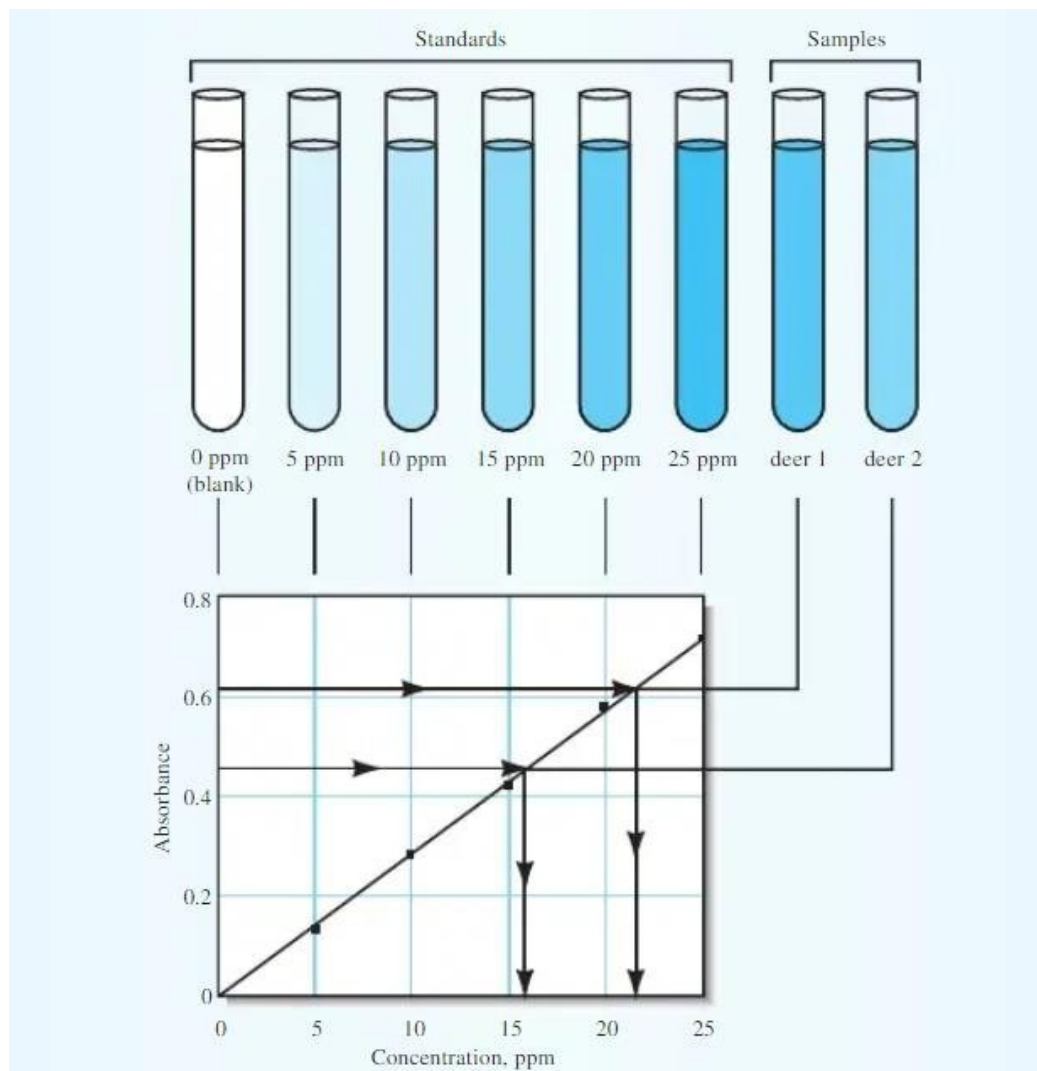
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς με χρήση Excel

Εφαρμογή

Να βρεθεί η εξίσωση, που προσαρμόζεται στα παρακάτω πειραματικά δεδομένα, μιας φωτομετρικής αναλύσεως, η γραμμικότητα, R^2 , 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

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

1. Τεχνική καμπύλης αναφοράς - Περιορισμοί

- Προϋποθέτει πανομοιότυπα αποτελέσματα για τα πρότυπα διαλύματα και τα άγνωστα.
- Όμως τα άγνωστα διαλύματα πέρα από το μετρούμενο συστατικό (**αναλύτης**) περιέχουν και παρεμποδίζουσες ουσίες, οι οποίες επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την κλίση και το σταθερό όρο της καμπύλης αναφοράς. Αυτό το φαινόμενο ονομάζεται **επίδραση μήτρας (matrix effect)**.
- Ανάλογη αιτία που καθιστά ανεφάρμοση την καμπύλη αναφοράς είναι η **οργανολογική αστάθεια**, η οποία κατ' ανάλογο τρόπο μεταβάλλει την κλίση και το σταθερό όρο της καμπύλης αναφοράς

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

2. Μέθοδος ενός εξωτερικού προτύπου

- Χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις όπου η μέθοδος παρουσιάζει γραμμική καμπύλη βαθμονόμησης και διέρχεται από την αρχή των αξόνων, δηλαδή τομή $a = \text{μηδέν}$

- Εάν P_x το σήμα του αγνώστου και P_s το σήμα του προτύπου

συγκεντρώσεως C_s τότε
$$C_x = \frac{P_x}{P_s} x C_s$$

- Παράδειγμα: προσδιορισμός γλυκόζης σε αυτόματο βιοχημικό αναλυτή
- Στην περίπτωση που η μέθοδος εμφανίζει και σήμα λευκού δείγματος (blank) (από τα αντιδραστήρια ή διαλύτη) η τιμή του αφαιρείται από τις τιμές P_x και P_s .

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

3. Μέθοδος προσθήκης γνωστής ποσότητας (Standard addition)

- Εφαρμόζεται στις περιπτώσεις όπου το μητρικό υλικό του δείγματος ασκεί μεγάλη επίδραση στη συνάρτηση βαθμονόμησης (στατιστικά διαφορετική κλίση b) και δεν είναι δυνατή η παρασκευή προτύπων όμοιας σύστασης με τα άγνωστα.
- Απαιτείται γραμμική σχέση της καμπύλης βαθμονόμησης και υποχρεωτική διέλευση από αρχή αξόνων ($a = 0$).
- Εκτελείται μέτρηση του σήματος του αγνώστου P_0 , προσθήκη στο άγνωστο μικρού όγκου (ώστε να μην αλλάξει ο όγκος του αγνώστου) και μεγάλης σχετικά συγκέντρωσης προτύπου του αναλύτη έτσι, ώστε να προκύψει γνωστή αύξηση της συγκέντρωσης ΔC και ακολούθως επαναμέτρηση του σήματος P_1 .

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

3. Μέθοδος προσθήκης γνωστής ποσότητας (Standard addition)

- Η τεχνική της προσθήκης γνωστής ποσότητας περιλαμβάνει 1) τη μέτρηση του δείγματος, 2) τον εμβολιασμό (**spike**) του δείγματος με γνωστή ποσότητα αναλύτη ΔC , 3) τη μέτρηση του εμβολιασμένου δείγματος (spiked sample).
- Η ποσοτικοποίηση λαμβάνει χώρα με βάση τον τύπο:

$$\text{συγκέντρωση δείγματος, } C = \frac{\text{Σήμα δείγματος}}{\text{Σήμα εμβολιασμένου δείγματος} - \text{Σήμα δείγματος}} * \Delta C$$

- Η τεχνική της προσθήκης γνωστής ποσότητας είναι κατάλληλη στις περιπτώσεις **επίδρασης μήτρας**.
- Ο έμβολιασμός πρέπει κατά κανόνα να μην απέχει πολύ από την περιοχή $\Delta C/C$: 0.5-2, ώστε να επιτευχθεί η μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια στο τελικό αποτέλεσμα.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

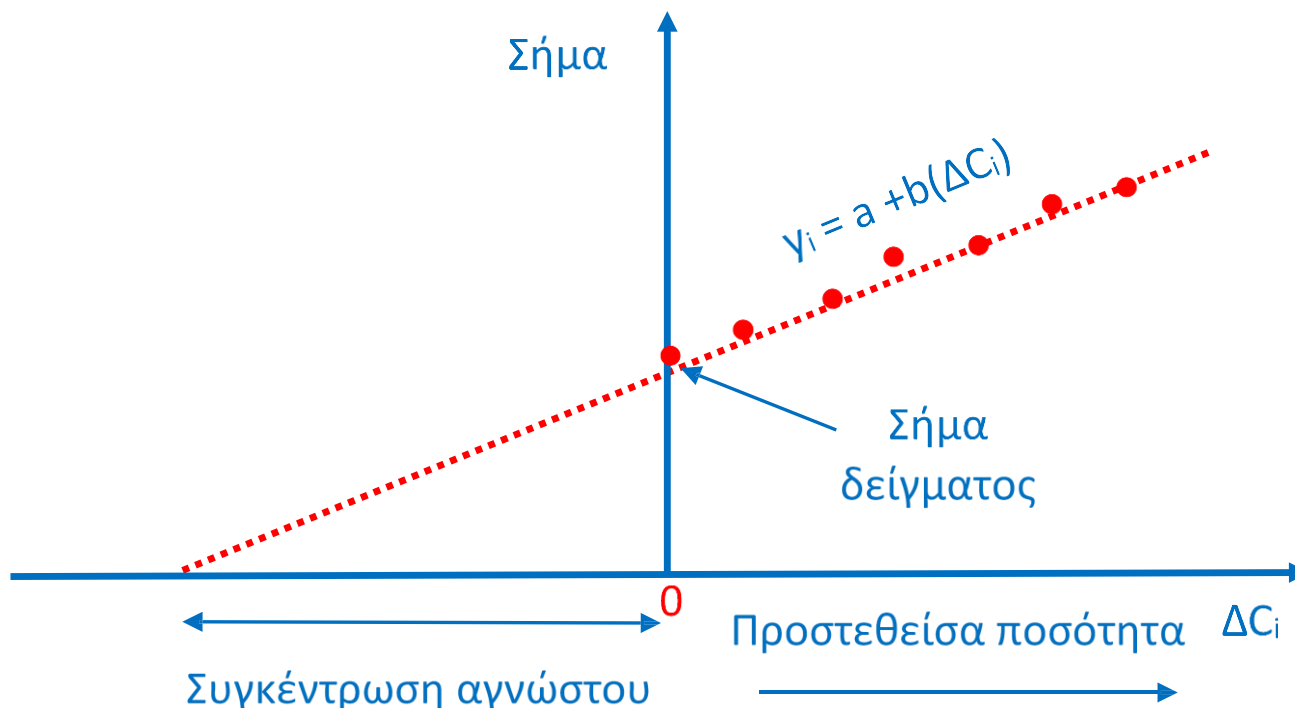
4. Μέθοδος πολλαπλής προσθήκης γνωστών ποσοτήτων (Multiple standard addition)

- Κατά βάση πρόκειται για επέκταση της μεθόδου γνωστής προσθήκης.
- Η τεχνική της πολλαπλής προσθήκης γνωστών ποσοτήτων περιλαμβάνει 1) τη μέτρηση του δείγματος και δίνει σήμα P_0 , 2) τον εμβολιασμό (spike) του δείγματος με γνωστή ποσότητα αναλύτη ΔC , 3) τη μέτρηση του εμβολιασμένου δείγματος (spiked sample), 4) την επανάληψη των βημάτων 2 και 3.
- ❖ Δηλαδή στη συνέχεια σε N ίσα υποδείγματα προστίθενται διαφορετικές γνωστές ποσότητες προτύπου του αναλύτη, χωρίς σημαντική μεταβολή του όγκου, ώστε να προκύψουν γνωστές αυξήσεις ΔC_i , και μετρείται το σήμα P_i .

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

4. Μέθοδος πολλαπλής προσθήκης γνωστών ποσοτήτων (Multiple standard addition)

- Για το διάγραμμα P_i ως προς ΔC_i υπολογίζεται η εξίσωση της ευθείας παλινδρόμησης: $P_i = a + b\Delta C_i$, οπότε $P_0 = a$.



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

5. Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)

- Η τεχνική εσωτερικού προτύπου χρησιμοποιείται σε περίπτωση **οργανολογικής αστάθειας**. Αν για οποιαδήποτε λόγο αυξηθεί ή μειωθεί η ευαισθησία της μετρητικής διατάξεως κατά τον προσδιορισμό του συστατικού Α, κατά το ίδιο ποσοστό θα αυξηθεί ή θα ελαττωθεί η ευαισθησία της μετρητικής διατάξεως και για ένα άλλο συστατικό Β, του οποίου η μέτρηση βασίζεται στην ίδια αρχή.
- Στην τεχνική εσωτερικού προτύπου προσθέτουμε **ίδια συγκέντρωση εσωτερικού προτύπου** σε όλα τα δείγματα και τα πρότυπα διαλύματα.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

5. Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)

- Οι προϋποθέσεις για την εφαρμοσιμότητα της τεχνικής είναι:
 1. Η μέθοδος του εσωτερικού προτύπου εφαρμόζεται σε μεθόδους που είναι ικανές να προσδιορίσουν ταυτόχρονα το συστατικό και το εσωτερικό πρότυπο.
 2. Το εσωτερικό πρότυπο πρέπει να μην προϋπάρχει στα δείγματα.
 3. Πρέπει να μην υπάρχει επίδραση μήτρας.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

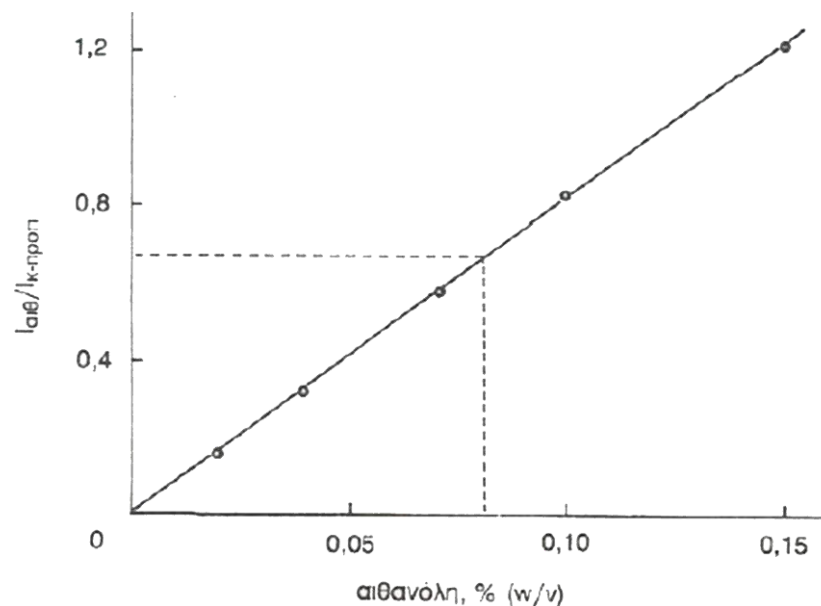
5. Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)

- Στον $y'y$ άξονα τοποθετείται το σήμα του αναλύτη προς το σήμα του εσωτερικού προτύπου, ενώ στο $x'x$ άξονα τοποθετείται η συγκέντρωση του αναλύτη στα πρότυπα.
- Η συγκέντρωση ενός αγνώστου δείγματος βρίσκεται με παρόμοιο τρόπο με την καμπύλη αναφοράς με τη διαφορά ότι για το άγνωστο πρέπει να πάρουμε τον λόγο των σημάτων του αναλύτη προς το εσωτερικό πρότυπο.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

5. Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)

- Μετρούνται τα σήματα P_x και P_{ID} και ο λόγος P_x / P_{ID} χρησιμοποιείται ως το «διορθωμένο σήμα» του αγνώστου για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς ή / και τον υπολογισμό του αγνώστου.



ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

5. Μέθοδος εσωτερικού προτύπου (internal standard)

- Το ιδανικό εσωτερικό πρότυπο πρέπει να παρουσιάζει παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες με τον αναλύτη και η μέθοδος να αποκρίνεται κατά τον ίδιο τρόπο με τον αναλύτη, αλλά να μπορεί να μετράται εκλεκτικά.
- Στην περίπτωση ύπαρξης σταδίου κατεργασίας του δείγματος, το εσωτερικό πρότυπο πρέπει να δείχνει συμπεριφορά παρόμοια με τον αναλύτη.