



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

Τμήμα Δειφορικής
Γεωργίας
Γεωπονική Σχολή

Αναλυτική και Οργανική Χημεία

10^η Ενότητα

Αναλυτική μεθοδολογία: Γενικές αρχές, Εκχύλιση, Ποιοτικός και Ποσοτικός προσδιορισμός, Σφάλματα

Γαλάνη Απ. Αγγελική, Χημικός PhD
Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό, (Ε.ΔΙ.Π.)

ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ ΕΝΑΣ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟΣ ΚΛΑΔΟΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

- Ασχολείται με τον προσδιορισμό της σύστασης των υλικών.
- Εισάγει μεθόδους και εργαλεία για:
 - για τον διαχωρισμό των ουσιών μίγματος
 - για την ταυτοποίηση των ουσιών
 - για την ποσοτικοποίηση των ουσιών που υπάρχουν σε ένα δείγμα.

Η ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΙ

1. Επιλογή και σχεδιασμό πειραματικής διαδικασίας. Επιλέγεται αναλυτική μέθοδος ανάλογα με τον τύπο και την ποσότητα του αναλύτη (ουσίας ή είδους που επιθυμείται ο προσδιορισμός), και λαμβάνοντας υπόψιν την επιθυμητή ακρίβεια και επαναληψιμότητα.
 - Επαναληψιμότητα: περιγράφει την επαναληψιμότητα ενός αποτελέσματος.
 - Ακρίβεια: περιγράφει πόσο κοντά είναι μια μετρούμενη τιμή στην πραγματική τιμή.



Μεγάλη ακρίβεια
Μεγάλη
επαναληψιμότητα



Μικρή ακρίβεια
Μεγάλη
επαναληψιμότητα



Μεγάλη ακρίβεια
Μικρή
επαναληψιμότητα

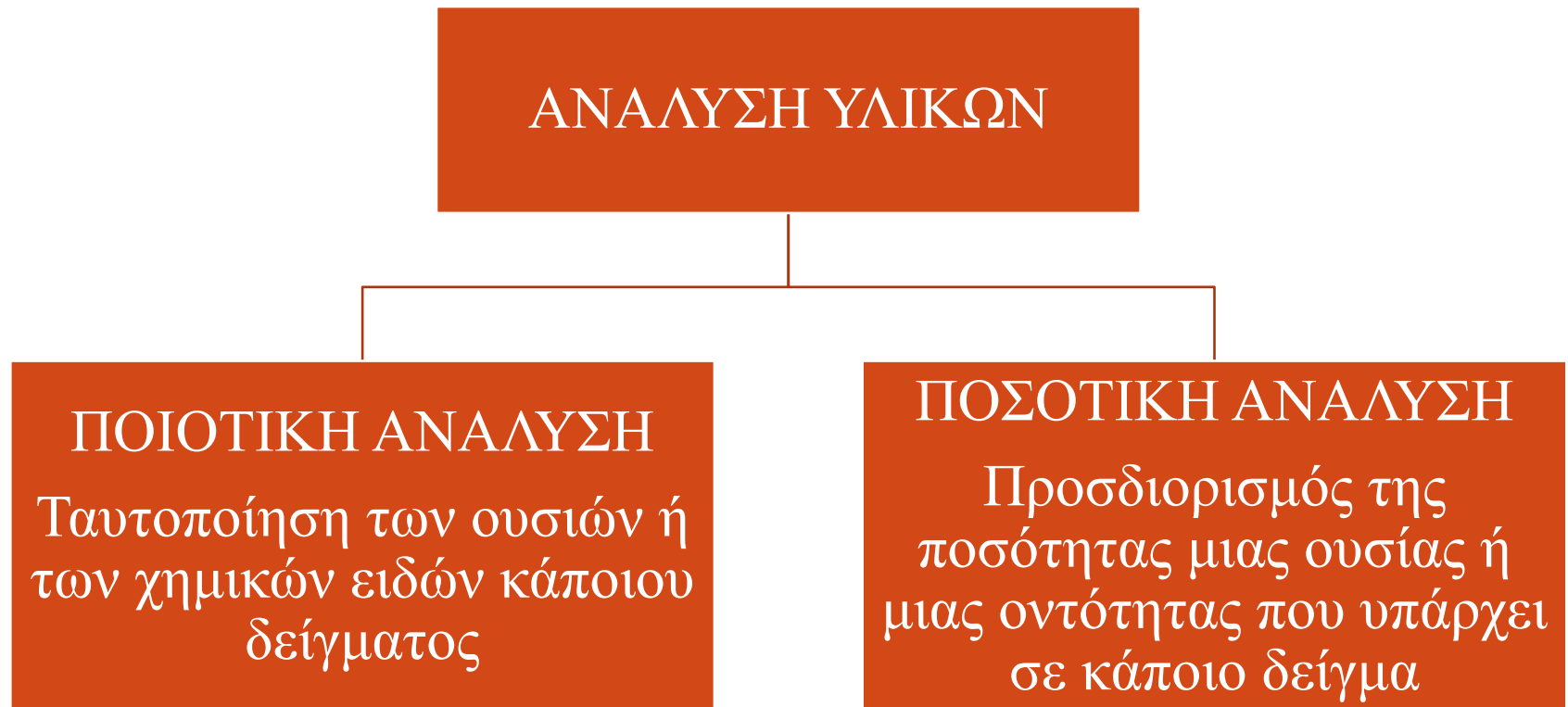


Μικρή ακρίβεια
Μικρή
επαναληψιμότητα

2. Προετοιμασία δείγματος:

- ✓ Διαλυτοποίηση: Οι περισσότερες αναλυτικές μέθοδοι απαιτούν υγρή μορφή του δείγματος και όχι στερεή μορφή. Επομένως, τα δείγματα πρέπει να διαλυθούν ποσοτικά και μπορούν επίσης να αραιωθούν στο εύρος συγκεντρώσεων της μεθόδου εάν υπάρχουν σε υψηλή συγκέντρωση.
- ✓ Αναγωγή σε κατάλληλη συγκέντρωση: Μια χημική ανάλυση πραγματοποιείται συνήθως μόνο σε ένα μικρό μέρος του υλικού που πρόκειται να χαρακτηριστεί.
- ✓ Διαχωρισμός: Το δείγμα μπορεί να περιέχει διαλυμένες ουσίες που παρεμβαίνουν στον προσδιορισμό της αναλυόμενης ουσίας. Εάν συμβαίνει αυτό, η αναλυόμενη ουσία θα πρέπει να διαχωριστεί από τη μήτρα του δείγματος με μια αποδεκτή διαδικασία.

4. Εκτέλεση μέτρησης: Αυτό συνεπάγεται τη διεξαγωγή της αναλυτικής διαδικασίας και τη συλλογή των απαιτούμενων δεδομένων.
5. Αξιολόγηση, ερμηνεία αποτελεσμάτων, υπολογισμοί και αναφορά αποτελεσμάτων με αποδεκτό τρόπο.



Ο Αναλυτής χρησιμοποιεί για την ποσοτική και ποιοτική ανάλυση του αναλύτη (υπό προσδιορισμό ουσία) μεθόδους:

ΚΛΑΣΣΙΚΕΣ

- Σταθμική ανάλυση
- Ογκομετρική Ανάλυση

ΕΝΟΡΓΑΝΕΣ

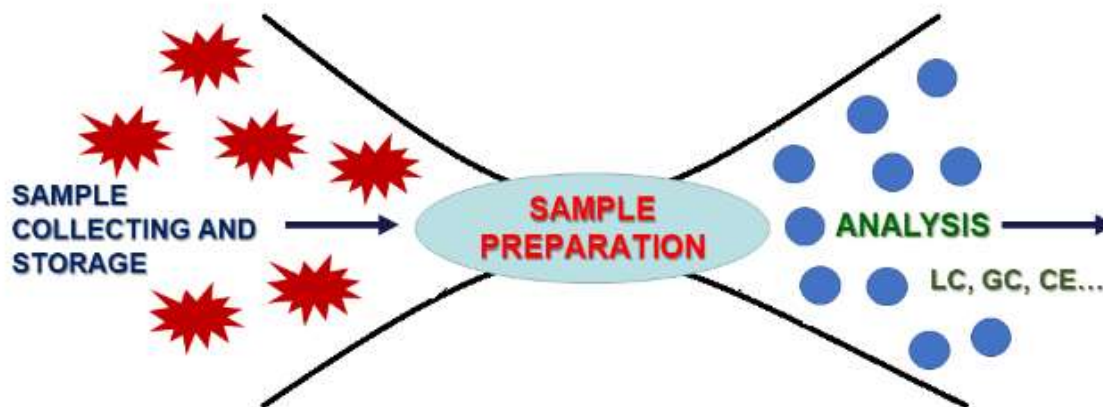
- Φασματοσκοπία
- Χρωματογραφία
- Ηλεκτροχημικές μέθοδοι

Τεχνικές διαχωρισμού με βάση την ιδιότητα που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό

ΙΔΙΟΤΗΤΑ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ	ΤΕΧΝΙΚΗ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ
Μέγεθος	Διήθηση Διαπίδυση
Μάζα και πυκνότητα	Φυγοκέντρωση Απόχυση
Μεταβολή της φυσικής κατάστασης	Απόσταξη Εξάχνωση Ανακρυστάλλωση
Μεταβολή της χημικής κατάστασης	Ιονανταλλαγή Εξάτμιση
Κατανομή μεταξύ φάσεων	Εκχύλιση Χρωματογραφία

- Η προετοιμασία του δείγματος είναι κρίσιμο βήμα σε οποιαδήποτε αναλυτική εφαρμογή (ανάλυση τροφίμων, βιοανάλυση, τοξικολογία, περιβάλλον κ.λπ.)
- Στις περισσότερες περιπτώσεις στην Αναλυτική Χημεία είναι απαραίτητος ο διαχωρισμός της ουσίας της οποίας επιθυμείται ο προσδιορισμός (αναλύτης, analyte) από κάποιο μίγμα άλλων συστατικών που παρεμποδίζουν, (παρεμποδιστές, interferents)
- Ο διαχωρισμός του αναλύτη από κάποιο παρεμποδιστή είναι δυνατός όταν υπάρχει κάποια διαφορά σε φυσικές ή σε χημικές ιδιότητες

General Steps in Sample Analysis



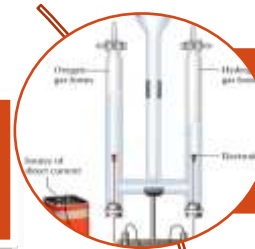
Παραδείγματα Μεθόδων διαχωρισμού



Διήθηση



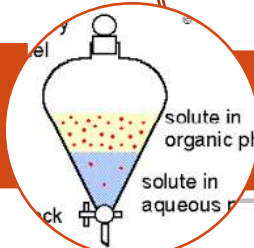
Εξάτμιση



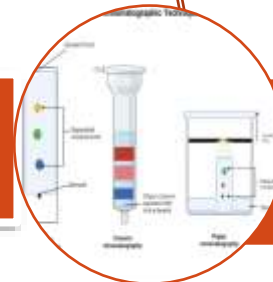
Ηλεκτρόλυση



Απόχυση



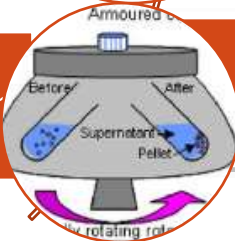
Εκχύλιση



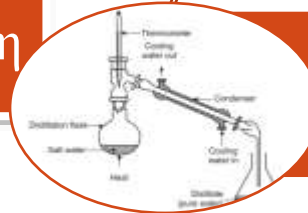
Χρωματογραφία



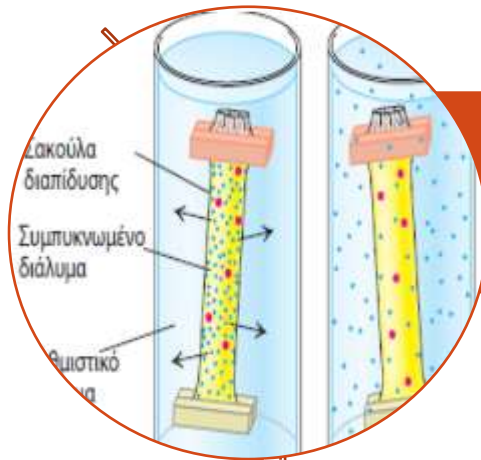
Κρυστάλλωση



Φυγοκέντρηση



Απόσταξη



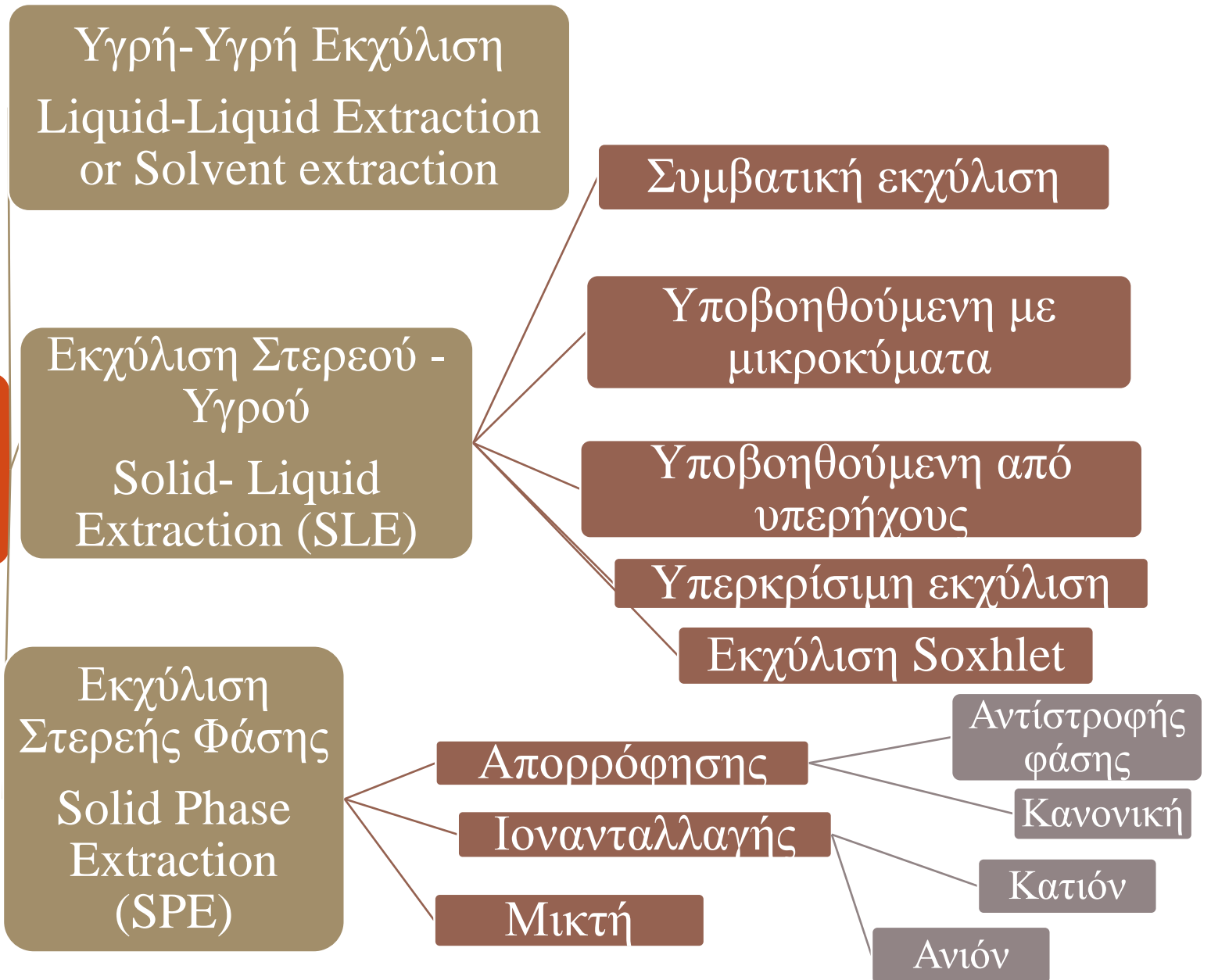
Διαπίδυση (πχ
διαχωρισμός πρωτεϊνών)



Διαχωρισμός με ιονανταλλαγή (πχ
ιονανταλλακτικές ρητίνες)

Όταν ο αναλύτης και η παρεμποδίζουσα ουσία
κατανέμονται σε διαφορετικές φάσεις
ελάχιστα αναμιγνυόμενες μεταξύ τους,
μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε ως μέθοδο
διαχωρισμού την εκχύλιση.

Τύποι Εκχύλισης



Υγρή-Υγρή Εκχύλιση

Liquid-Liquid Extraction or Solvent
extraction

Η υγρή–υγρή εκχύλιση (LLE), είναι μια τεχνική διαχωρισμού που βασίζεται στην ισορροπία κατανομής ουσιών μεταξύ δύο φάσεων οι οποίες αναμιγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Ο διαλύτης που χρησιμοποιείται πρέπει να μην είναι αναμίξιμος με το διαλύτη του δείγματος

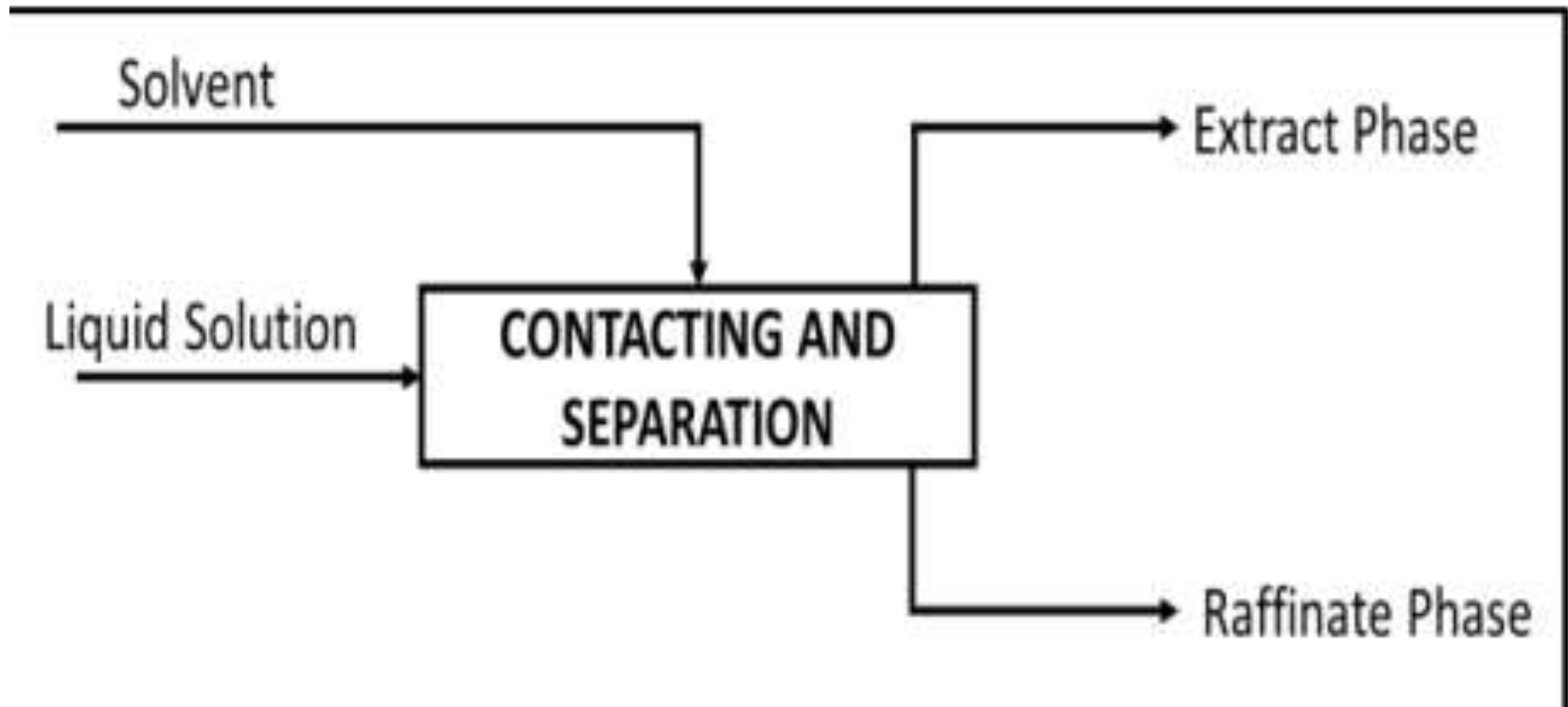


Τα συστατικά του μίγματος των οποίων επιθυμείται η απομόνωση, κατανέμονται σε κατάλληλο διαλύτη, (ανάλογα με τις ιδιότητές τους) ως εξής:

- τα ανόργανα άλατα και οι πολικές οργανικές ουσίες σε μια υδατική φάση (aqueous),
- οι μη πολικές οργανικές ουσίες σε μια οργανική φάση (organic).



Εφόσον διαχωριστούν οι δύο φάσεις των μη αναμίξιμων υγρών, η φάση που περιέχει την επιθυμητή ένωση απομονώνεται και ο διαλύτης της εξατμίζεται.



Κριτήρια για την επιλογή του πιο κατάλληλου διαλύτη εκχύλισης

- Να μην αντιδρά με την ουσία που πρόκειται να εκχυλιστεί.
- Να διαλύει μόνο την ουσία που πρέπει να εκχυλιστεί.
- Να έχει χαμηλό σ.ζ. ώστε να μπορεί στο τέλος να γίνει εύκολα η απομόνωση της ουσίας.
- Να μην είναι ούτε τοξικός ούτε εύφλεκτος.
- Να είναι οπτικά διαφανής ώστε να είναι δυνατές φασματοφωτομετρικές μετρήσεις σε επόμενο στάδιο.
- Να έχει πολύ διαφορετική πυκνότητα από την άλλη φάση της εκχύλισης έτσι ώστε να μπορεί να γίνει εύκολα ο διαχωρισμός των δύο φάσεων
- Να μην διαλύεται στην άλλη φάση ούτε και να σχηματίζει σταθερό γαλάκτωμα με αυτή.

Συντελεστής κατανομής K_D

Μια ουσία κατανέμεται μεταξύ δύο φάσεων, (από τις οποίες η μία συνήθως είναι υδατική και η άλλη κάποιος οργανικός διαλύτης), με συγκεκριμένη αναλογία για σταθερή τιμή θερμοκρασίας η οποία εκφράζεται με το συντελεστή κατανομής αυτής K_D

$$K_D = C_O / C_{aq}$$
$$E = C_O V_O / (C_O V_O + C_{aq} V_{aq}) = K_D V / (1 + K_D V)$$

- K_D : η σταθερά κατανομής
- C_O : Η συγκέντρωση του αναλύτη στην οργανική φάση διαλύτη 1
- C_{aq} : Η συγκέντρωση του αναλύτη στην υδατική φάση
- E : το κλάσμα του αναλύτη που είναι εκχυλισμένο στην οργανική φάση
 - V : ο λόγος V_O / V_{aq}

Μειονεκτήματα μεθόδου

Πολικοί υδατο-διαλυτοί διαλύτες δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εάν η εκχύλιση είναι προκα-τεργασία για επόμενη αναλυτική μέθοδο όπως HPLC

Χρήση μεγάλων ποσοτήτων οργανικών διαλυτών που συνεπά-γεται μεγάλο κόστος για την απόκτηση και για τη διάθεσή τους

Πιθανός σχημα-τισμός γαλα-κτωμά-των κατά τη διάρκεια της ανάμιξης

Απαιτεί-ται εξάτμιση του οργανι-κού διαλύτη που έπεται αύξηση του χρόνου για προκα-τεργασία στο δείγμα

Δεν αποφεύγεται η συνεκχύλιση άλλων συστατικών που πιθανά δρουν παρεμπο-διστικά σε επόμενο στάδιο της χημικής ανάλυσης

Σύγχρονες τάσεις που τροποποιούν την υγρή-υγρή εκχύλιση ώστε να εξαλειφθούν σε μεγάλο βαθμό τα μειονεκτήματά της

Εκχύλιση σε αδρανές στερεό υπόστρωμα (Supported Liquid Extraction) με τη χρήση μη αναμίξιμου διαλύτη ακινητοποιημένου σε γη διατόμων ή συνθετικά υλικά σε μικροστήλη πολυπροπυλενίου ανάλογη με αυτή της εκχύλισης στερεής φάσης.

Μικροεκχύλιση Υγρής Φάσης (Liquid Phase Microextraction-LPME).

Εφαρμόζεται με διάφορους τρόπους όπως:

- Χρήση σταγόνας μη αναμίξιμου διαλύτη
- Μικροεκχύλιση υγρής φάσης κοίλης ίνας
- Μικροεκχύλιση στερεοποιημένης επιπλέουσας οργανικής σταγόνας
- Μικροεκχύλιση διασποράς υγρού-υγρού

Εκχύλιση Στερεού Υγρού

**Solid- Liquid Extraction – SLE
LEACHING**

Με την εκχύλιση στερεού υγρού (έκπλυση) επιτυγχάνεται αφαίρεση συστατικών από ένα μείγμα στερεών, φέρνοντας το στερεό υλικό σε επαφή με έναν υγρό διαλύτη που διαλύει αυτά τα συγκεκριμένα συστατικά

Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε για την παραγωγή συμπυκνωμένου διαλύματος πολύτιμου στερεού υλικού, είτε για να ελευθερωθεί ένα αδιάλυτο στερεό από ένα διαλυτό υλικό με το οποίο είναι μολυσμένο.

Καθημερινά παραδείγματα η παρασκευή καφέ και τσαγιού

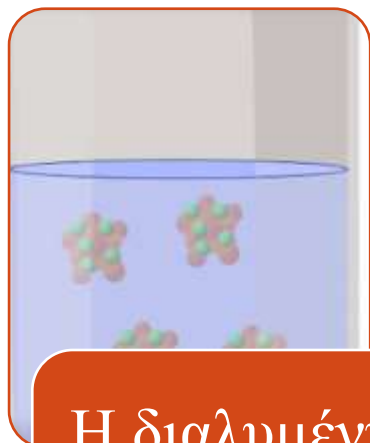
Στη μέθοδο αυτή ένας οργανικός διαλυτής για τις οργανικές ενώσεις και ένα αραιό οξύ ή βάση για τις ανόργανες προστίθεται στο μείγμα και ακολουθεί ανάδευση ώστε οι ενώσεις να διασπαρούν στο υγρό περιβάλλον έως ότου παραληφθούν.

**Στην Υγρή Στερεή
Εκχύλιση διακρίνουμε
δύο βασικά στάδια**

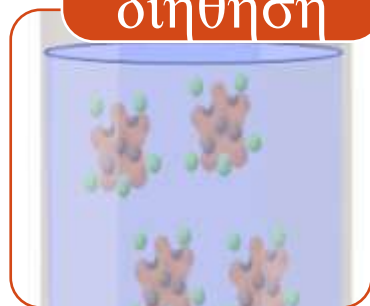
**Βήμα
επαφής του
στερεού με
τον
εκλεκτικό
διαλύτη**

**Βήμα διαχωρισμού
Οι αδιάλυτες ενώσεις
απομακρύνονται με
διήθηση ή και με
φυγοκέντρωση**

Η διαδικασία Υγρής –Στερεής
εκχύλισης μπορεί να επιταχυνθεί με
θέρμανση ή με την επίδραση
υπερήχων ή και μικροκυμάτων



Η διαλυμένη
ουσία
εκχυλίζεται
από τη
στερεά φάση
στον διαλύτη

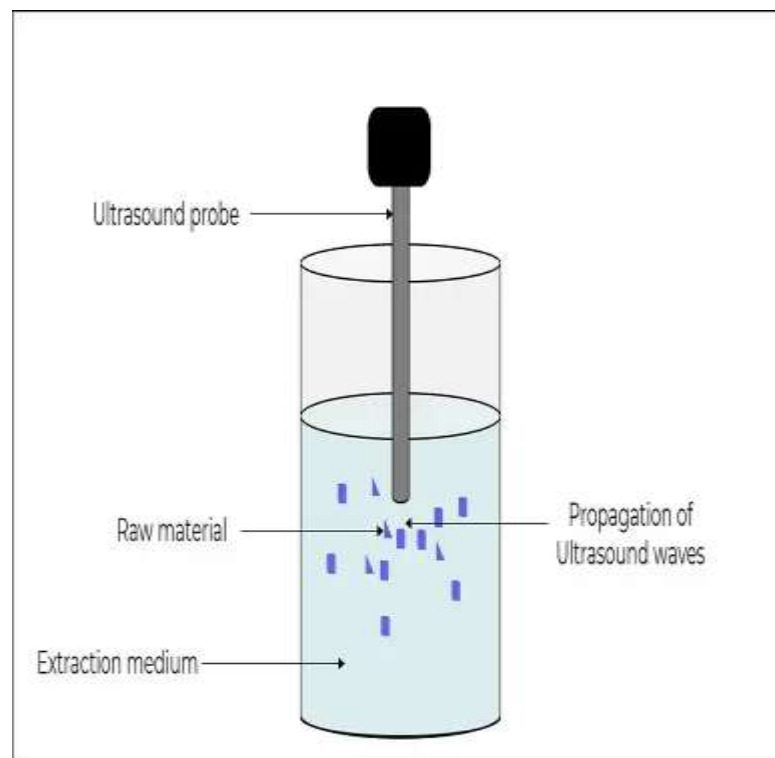
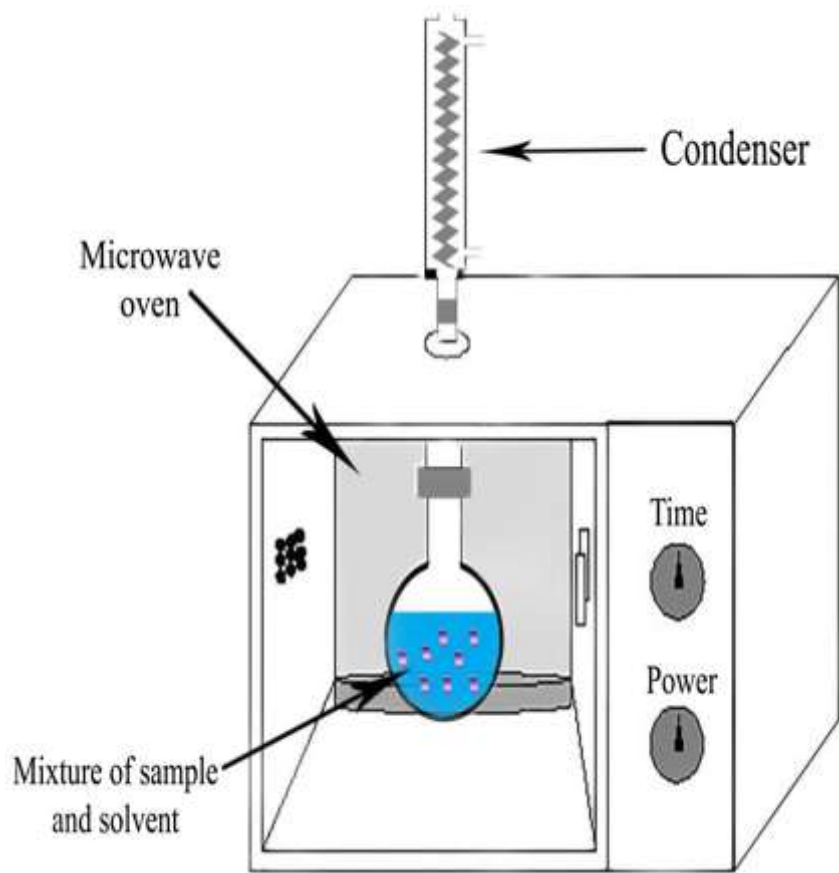


Στη
συνέχεια η
στερεά
φάση
αφαιρείται
με
διήθηση



Διαλυμένη
ουσία

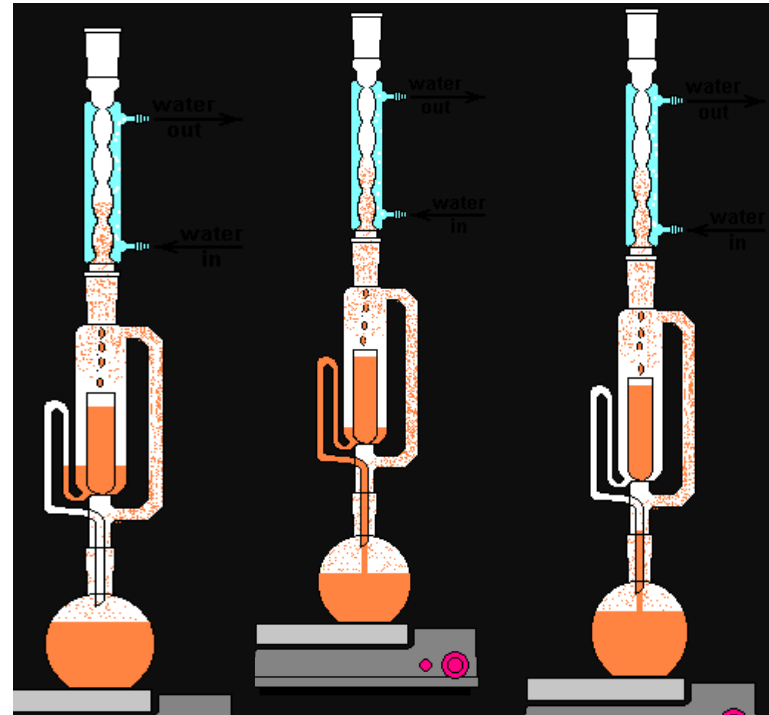
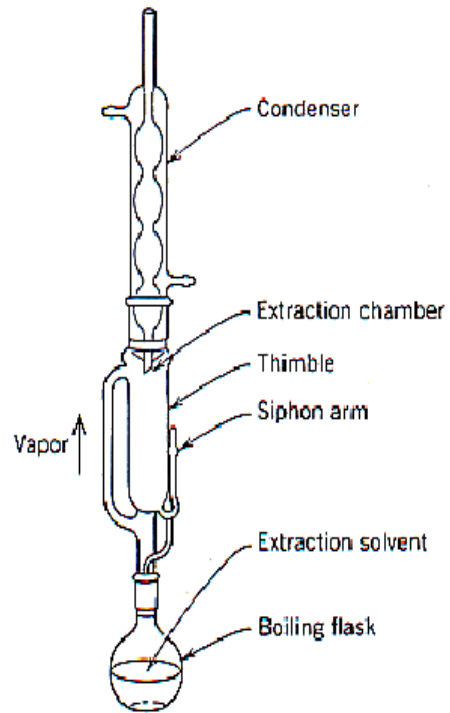




Mahsa Doulabi, Mohammad-Taghi Golmakani, Sara Ansari, "Evaluation and optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from eggplant peel by-product", Journal of Food Processing and Preservation, Volume 44, Issue 11, November 2020

<https://i0.wp.com/pharmagroww.com/wp-content/uploads/2021/12/Working-of-Ultrasound-assisted-extraction.webp?fit=1000%2C500&ssl=1>

Εκχύλιση Soxhlet



Στην εκχύλιση κατά Soxhlet μια μικρή ποσότητα διαλύτη εκχύλισης, είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί για μια μεγάλη ποσότητα στερεού δείγματος

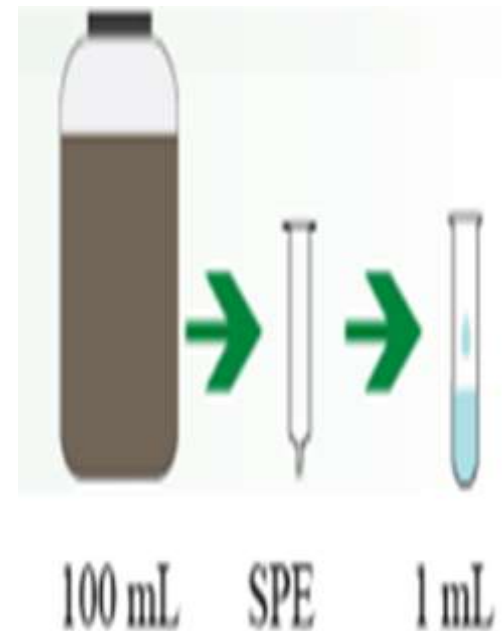


Εκχύλιση Στερεής Φάσης

Solid FACE Extraction (SPE)

SPE χρησιμοποιείται συνήθως για:

- **Προσυγκέντρωση (pre-concentration) προσδιοριζόμενης ουσίας, (αναλυτή) από μεγάλους όγκους δειγμάτων:** Όταν η προς διαχωρισμό ουσία βρίσκεται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις και η ευαισθησία των διαφόρων αναλυτικών μεθόδων δεν επαρκεί. Επιπρόσθετα πιθανά να υπάρχουν παρεμποδίζουσες ενώσεις που να πρέπει να απομακρυνθούν.



Μεγάλοι όγκοι δειγμάτων (αερίων ή υγρών) υποβάλλονται σε εκχύλιση στερεάς φάσης και έτσι η συνολική ποσότητα της επιθυμητής ουσίας να παγιδεύεται σε μικρό όγκο στερεάς φάσης από την οποία τελικά παραλαμβάνεται εύκολα με μικρό όγκο διαλύτη, και απαλλαγμένη από άλλα συστατικά που παρεμποδίζουν τη μέτρηση.

- **Καθαρισμός δείγματος:** Συχνά το ζητούμενο είναι η δέσμευση από τα δείγματα ουσιών που παρεμποδίζουν τη διαδικασία μέτρησης και όχι η δέσμευση της ουσίας που διαχωρίζεται.
- **Χρονοπρογραμματιζόμενες δειγματοληψίες πεδίου (time-programmed field sampling):** Η SPE είναι απλή και μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα εκτός εργαστηρίου. Έτσι μπορεί να πραγματοποιείται αυτοματοποιημένη/προγραμματισμένη δειγματοληψία σε τακτά χρονικά διαστήματα. Οι σωλήνες της εκχύλισης στερεάς φάσης που τελικά συλλέγονται, μεταφέρονται στο εργαστήριο και μετριέται κατά μαζικό τρόπο το περιεχόμενο τους για την υπο προσδιορισμό ουσία.

Πλεονεκτήματα SPE

Ο σχετικά μικρός χρόνος εκχύλισης ο οποίος απαιτείται

Οι μικροί όγκοι διαλυτών που χρησιμοποιούνται

Το γεγονός ότι είναι κατάλληλη τεχνική για συνδυασμό με χρωματογραφίες διαφόρων τύπων.

Είναι δυνατόν να αυτοματοποιηθεί και να αναλυθεί μεγάλος αριθμός δειγμάτων

Επιτυγχάνεται ικανοποιητικός καθαρισμός του δείγματος

Επιτυγχάνεται προσυγκέντρωση των συστατικών κι έτσι αυξάνεται η ευαισθησία της ανάλυσης

Έχει καλή επαναληψιμότητα και δίνει μεγάλα ποσοστά ανάκτησης

Τα υπό εκχύλιση συστατικά κατανέμονται στην SPE σε δυο φάσεις:

32

Στη στερεή φάση η οποία είναι το προσροφητικό υλικό

Στην υγρή φάση που είναι το υπόστρωμα με τις παρεμποδίσεις

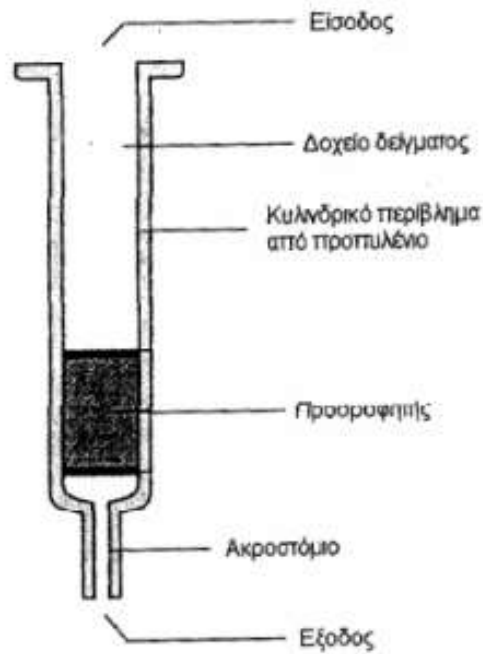
Οι υπό προσδιορισμό ουσίες πρέπει να έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τις ομάδες της στερεής φάσης ώστε να διαχωριστούν. Η παραλαβή των ενώσεων από το στερεό υπόστρωμα γίνεται με επιλογή κατάλληλων διαλυτών

Υπεύθυνες για τους διάφορους μηχανισμούς συγκράτησης και έκλυσης των ενώσεων στην SPE είναι οι διαμοριακές δυνάμεις που αναπτύσσονται μεταξύ:

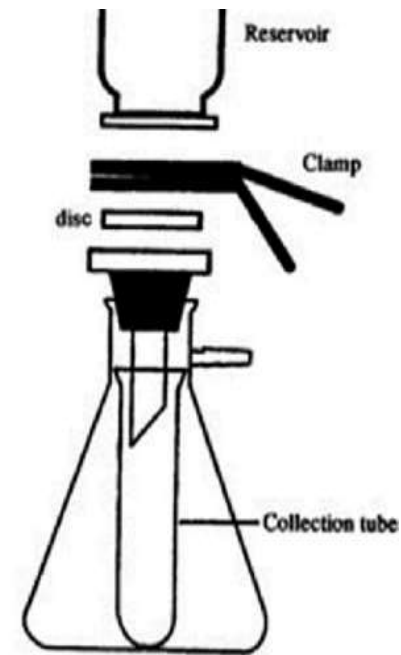
- των προσδιοριζόμενων συστατικών,
- των ενεργών ομάδων στην επιφάνεια του προσροφητικού υλικού,
- της υγρής φάσης του υποστρώματος του δείγματος ή του διαλύτη.

Συσκευές SPE

Φυσίγγιο



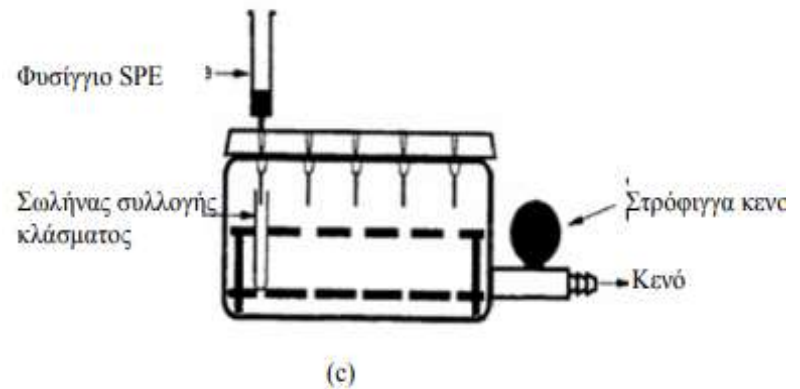
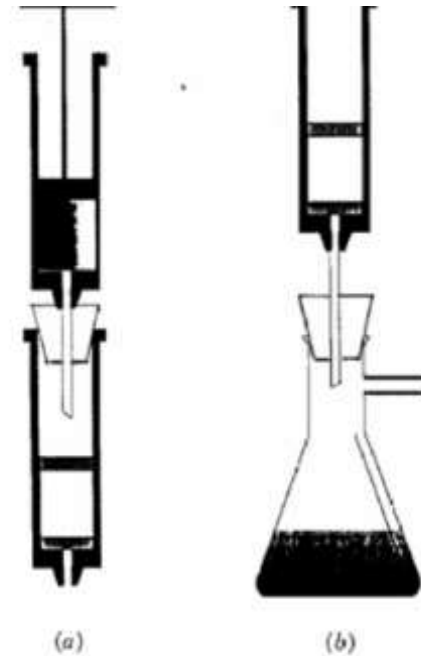
Δίσκος μεμβράνης



Οργανολογία SPE

Η ροή με βάση τη βαρύτητα μέσα από τα φυσίγγια είναι πολύ αργή, άρα υπάρχει απαίτηση για εφαρμογή πίεσης

- a) Χρήση σύριγγας για εφαρμογή πίεσης στο φυσίγγιο
- b) Κενό για μεμονωμένο φυσίγγιο
- c) Διάταξη για πολλαπλά φυσίγγια και εφαρμογή κενού



Τύποι Εκχύλιση στερεής φάσης (SPE)

Απορρόφησης

Κανονική

-Αναλυτές με χαμηλή έως υψηλή πολικότητα/ ουδέτεροι

-

Διαχωρισμός βασισμένος στην πολικότητα

-Μη πολική μήτρα δείγματος

-Οι λιγότερο πολικές ενώσεις εκκλύονται πρώτες

Ανάστροφη

- Αναλυτές με μέτρια έως χαμηλή πολικότητα

-

Διαχωρισμός που βασίζεται στην υδροφοβικότητα

-Υδατική μήτρα δείγματος

- Οι πιο πολικές ενώσεις εκκλύονται πρώτες

Ιονταλλαγής

Ανιόν

- Αναλύτες αρνητικά φορτισμένοι ή ιονισμένοι

-Διαχωρισμός βασισμένος στο φορτίο

- Υδατική μήτρα δείγματος με μικρή ιονική ισχύ

- Ασθενώς ιονισμένες ουσίες εκκλύονται πρώτες

Κατιόν

-Αναλύτες θετικά φορτισμένοι ή ιονισμένοι

-Διαχωρισμός βασισμένος στο φορτίο

- Υδατική μήτρα δείγματος με μικρή ιονική ισχύ

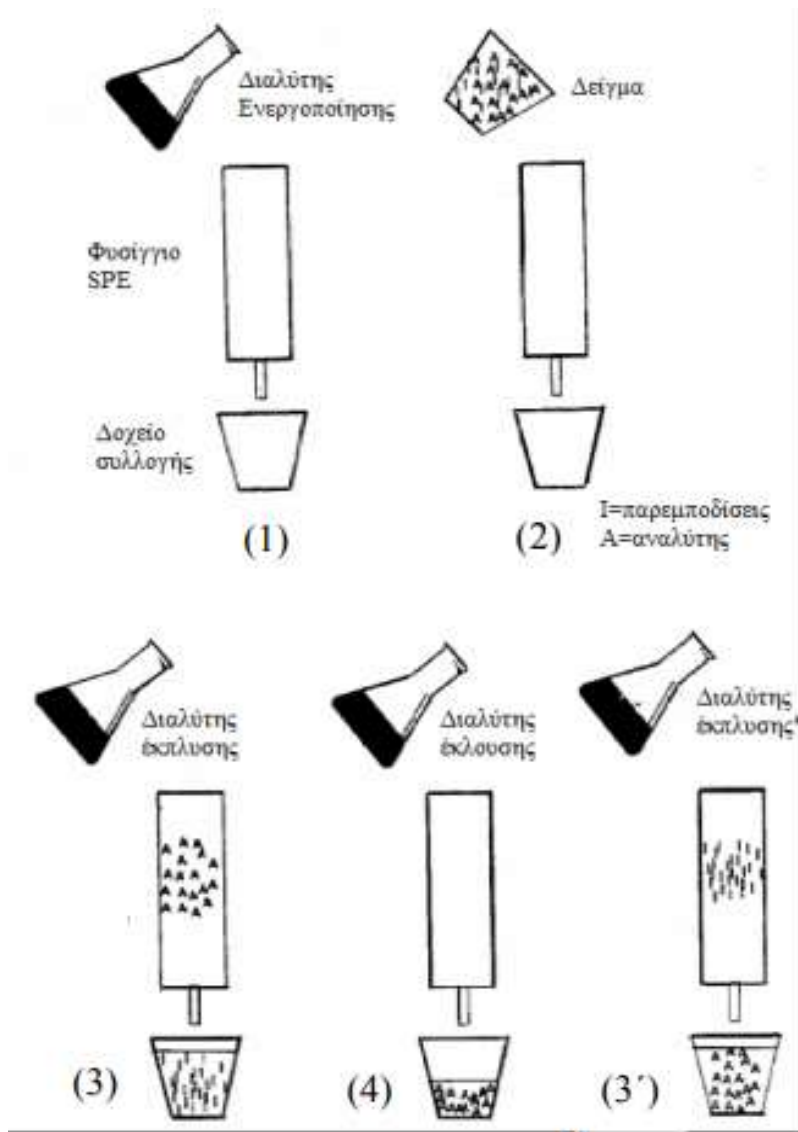
- Ασθενώς ιονισμένες ουσίες εκκλύονται πρώτες

Μικτή

Συνδυάζει τις ιδιότητες της απορρόφησης και του δεσμού υδρογόνου ή της ανταλλαγής ιόντων σε ένα φυσίγγιο

Στάδια SPE

- ▶ Ενεργοποίηση του προσροφητικού υλικού
- ▶ Προσθήκη του δείγματος
- ▶ Έκπλυση του φυσιγγίου για την απομάκρυνση ανεπιθύμητων συστατικών του υποστρώματος
- ▶ Έκλυση του δείγματος με κατάλληλο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών
- ▶ Εξάτμιση διαλύτη



Ε. Αργοντάκη Επικ. Καθηγήτρια «Προκατεργασία δείγματος για αναλύσεις με HPLC», Πανεπιστήμιο Αθηνών

ΒΗΜΑ

1:

Προετοιμασία

Ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού με χρήση κατάλληλου διαλύτη

Χρησιμοποιούνται μικροί όγκοι διαλύτη, συνήθως μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο. Οι περίσσεια διαλύτη απομακρύνεται χωρίς το προσροφητικό υλικό να ξηραίνεται εντελώς



ΒΗΜΑ 2: Προσθήκη δείγματος

Το δείγμα διαλυτοποιείται σε ασθενή διαλύτη και ακολούθως προστίθεται στο φυσίγγιο. Ο ασθενής διαλύτης κάνει εφικτή την κατακράτηση του αναλύτη.

ΒΗΜΑ 3: Έκπλυση
Με αυτό τον τρόπο
απομακρύνονται οι
ουσίες που
παρεμποδίζουν



ΒΗΜΑ 4:
Έκλουση
αναλύτη
Στόχος η
ποσοτική
παραλαβή του
αναλύτη



ΒΗΜΑ 5:
Εξάτμιση
διαλύτη

Η τεχνική SPE μπορεί να χρησιμοποιηθεί:

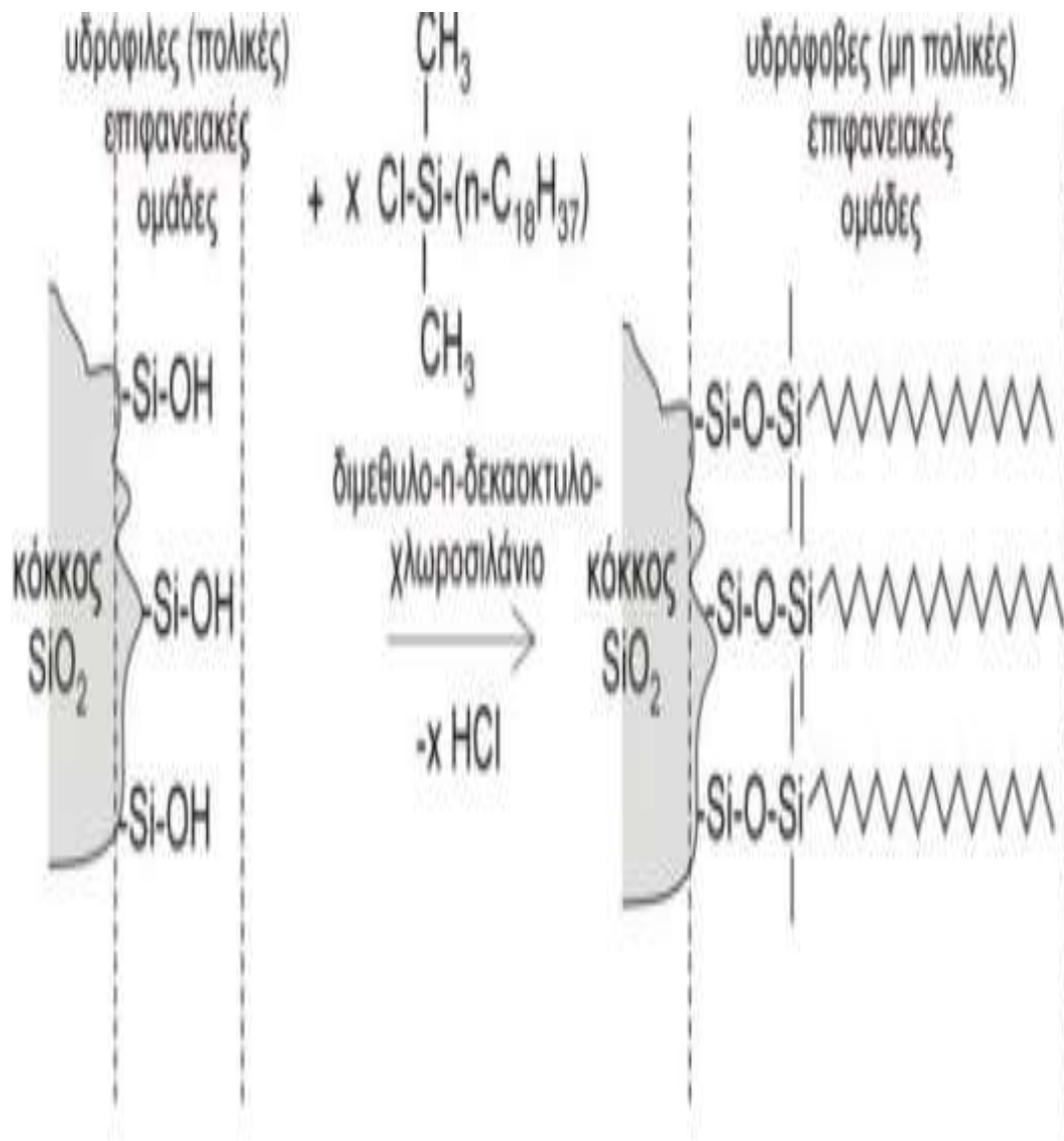
- offline (ανεξάρτητα από την περαιτέρω χρωματογραφική ανάλυση)

ή

- online (απευθείας συνδεδεμένη με το χρωματογραφικό σύστημα).

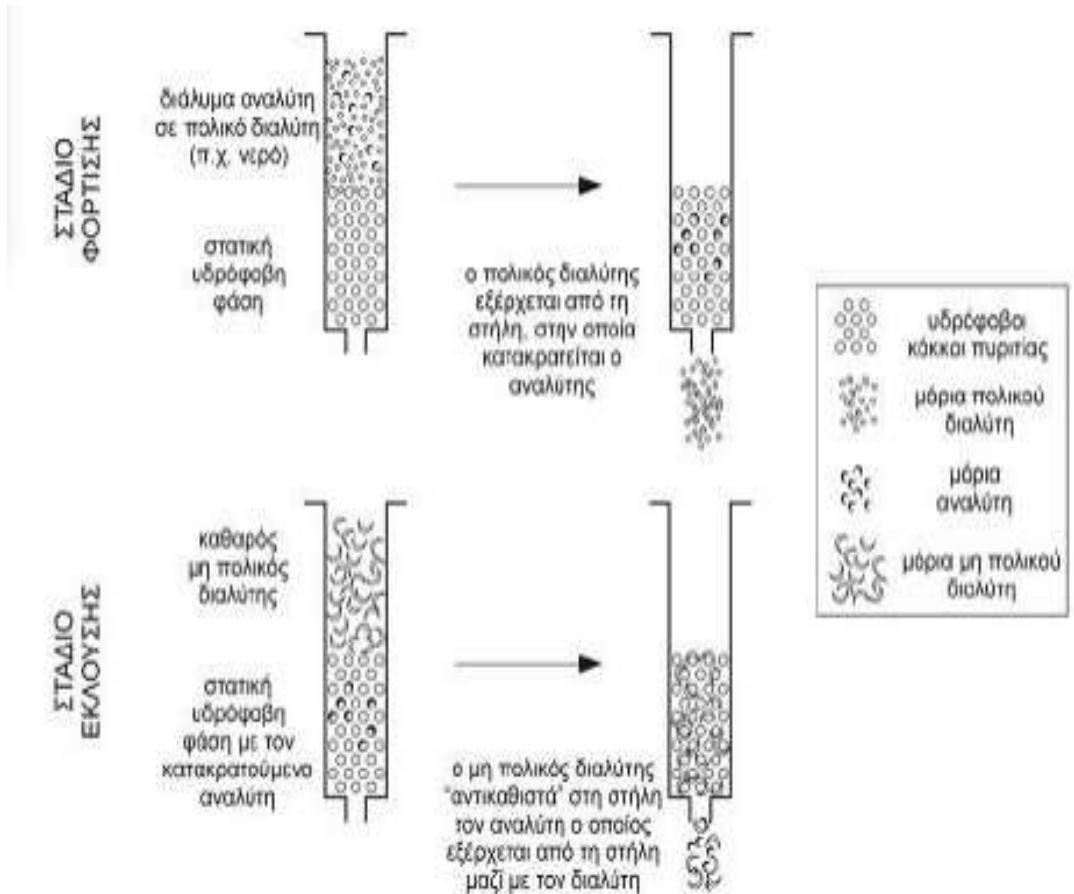
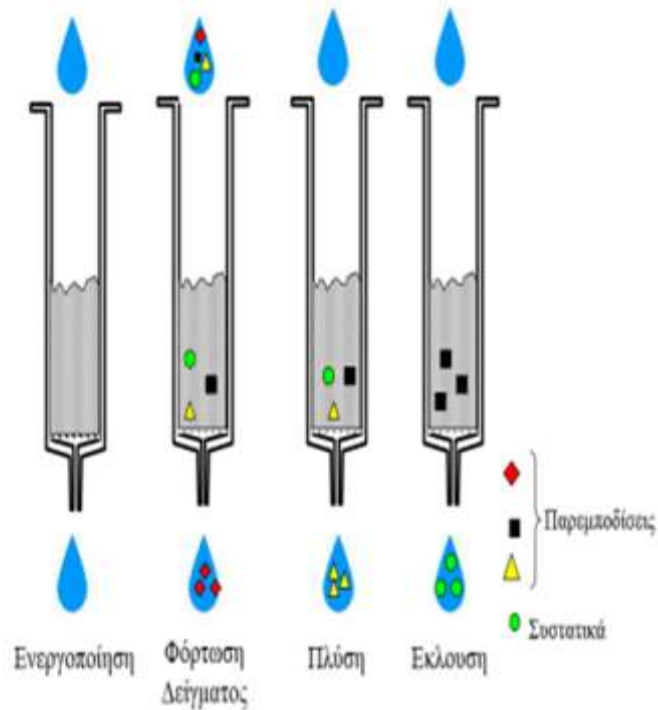
SPE Αντίστροφης φάσης (συνηθέστερη μέθοδος)



- Βασίζεται στην κατανομή του αναλύτη μεταξύ ενός πολικού ή μέτρια πολικού διαλύτη, (συνήθως νερού) ή «μήτρας» (matrix) και μιας μη πολικής στατικής φάσης. Ο αναλύτης μπορεί να είναι ουσία μέσης πολικότητας ή μη πολική ουσία
- Η πυριτία SiO_2 (silica) στην επιφάνεια της οποίας προσδέθηκαν με ομοιοπολικούς δεσμούς άλκυλο ή αρυλο ομάδες, είναι από τις κυριότερες στατικές φάσεις που χρησιμοποιούνται στην SPE. Η πρόσδεση γίνεται μέσω των ελεύθερων ομάδων σιλανόλης (SiOH) που είναι υδρόφιλες, πολικές και υπάρχουν στην επιφάνεια του πληρωτικού υλικού. Αυτές οι ομάδες αντιδρούν με σιλανοποιητικά αντιδραστήρια και τελικά μετατρέπονται σε υδρόφοβες αλκυλο ή αρυλο ομάδες.
- Η κατακράτηση οργανικών ενώσεων από υδατικά διαλύματα σε τέτοια υλικά οφείλεται σε δυνάμεις Van der Waals



- Αντίδραση σιλανοποίησης στην οποία οι επιφανειακές ομάδες Si-OH αντικαθίστανται με δεκαοκτύλια ώστε η στατική φάση να καθίσταται υδρόβη και μη πολική. Η στατική φάση αυτή λέγεται C-18
- Τα υποστρώματα πυριτίας C-8 και C-18 είναι από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα

- Για την έκλυση προσροφημένης ουσίας σε σωλήνα ή δίσκο SPE αντίστροφης φάσης χρησιμοποιείται μη πολικός διαλύτης που τα μόριά του ανταγωνίζονται τα μόρια της προσροφημένης ουσίας και εξαιτίας της μεγάλης τους περιόδου τη διώχνουν από το υπόστρωμα



	Διαλύτης	Χημικός τύπος	Σημείο ζέσεως, °C	Διπολική ροπή (σε debye)	Διηλεκτρική σταθερά
Αυξανόμενη πολικότητα ↓	κ-εξάνιο	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$	69	0	2,02
	τετραχλωράνθρακας	CCl_4	76	0	2,24
	βενζόλιο		80	0	2,28
	δισουλφαιθέρας	$(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{O}$	35	1,15	4,34
	μεθυλενοχλωρίδιο	CH_2Cl_2	40	1,60	9,08
	τετραϋδροφουράνιο (THF)		66	1,63	7,52
	αιθανόλη	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	78	1,69	24,3
	μεθανόλη	CH_3OH	68	1,70	33
	οξικό οξύ	CH_3COOH	118	1,74	6,15
	ύδωρ	H_2O	100	1,85	80
	ακετόνη	CH_3COCH_3	56	2,88	20,7
	φορμαμίδιο	HCONH_2	210	3,73	109
	N,N-διμεθυλοφορμαμίδιο (DMF)	$\text{HCON}(\text{CH}_3)_2$	153	3,82	38,3
	ακετονιτρίλιο	CH_3CN	81	3,92	36,6
διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO)	CH_3SOCH_3	189	3,96	47,2	

SPE κανονικής φάσης

- Σε μηχανισμό SPE κανονικής φάσης παίρνουν μέρος ένας πολικός αναλύτης (προσδιοριζόμενη ουσία), μια μέσης πολικότητας ή και μη πολική μήτρα (διαλύτης), όπως για παράδειγμα ακετόνη, εξάνιο ή και χλωριωμένοι διαλύτες και μια πολική στατική φάση.
- Πληρωτικά υλικά που χρησιμοποιούνται στο μηχανισμό αυτό είναι το οξείδιο του πυριτίου με πολικές ομάδες προσδεμένες οι οποίες προσδίδουν πολικότητα στην πυριτία, πολικά ανόργανα προσροφητικά υλικά όπως για παράδειγμα LC alumina, LC-Si κλπ

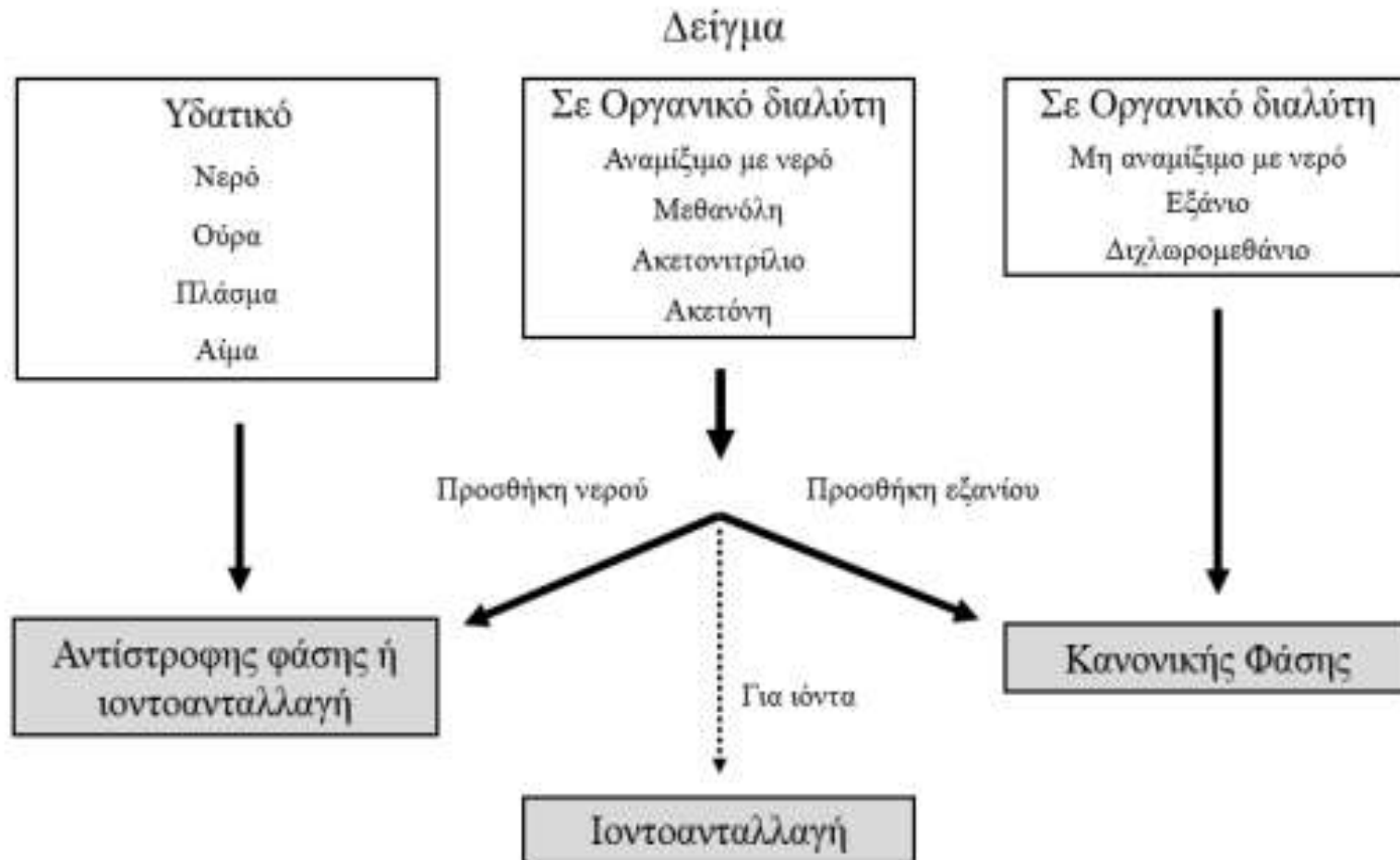
- Η κατακράτηση του αναλύτη στην SPE κανονικής φάσης οφείλεται κατά κύριο λόγο στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ πολικών δραστικών ομάδων του αναλύτη και πολικών δραστικών ομάδων της επιφάνειας του προσροφητικού. Τέτοιες είναι δεσμοί υδρογόνου, διπόλου-διπόλου και διπόλου επαγόμενου διπόλου
- Ουσία που κατακρατείται με τέτοιους μηχανισμούς εκλύεται με την προσθήκη στο προσροφητικό, διαλύτη που αναστέλλει το μηχανισμό διασύνδεσης με την εξασθένιση των ελκτικών δυνάμεων. Ο διαλύτης πρέπει να είναι πολικότερος της μήτρας (δηλαδή του διαλύτη στον οποίο το δείγμα είναι διαλυμένο)

SPE με ιονανταλλαγή

- Χρησιμοποιείται για ενώσεις που βρίσκονται με τη μορφή ιόντων σε υδατικά διαλύματα
- Οι ηλεκτροστατικές έλξεις που αναπτύσσονται μεταξύ της φορτισμένης δραστικής ομάδας του συστατικού και των φορτισμένων ομάδων που είναι συνδεδεμένες στο υπόστρωμα του silica gel, αποτελούν τον κύριο μηχανισμό συγκράτησης της ένωσης
- Χρησιμοποιούνται για τον εν λόγω μηχανισμό συγκράτησης σουλφονύλο-, καρβοξύλο-, διαιθυλαμίνο- και τριμεθυλαμίνο- ομάδες για τη δημιουργία δεσμευμένης φάσης

- Για τη συγκράτηση μιας ένωσης στον ιονανταλλάκτη από ένα υδατικό διάλυμα, θα πρέπει το pH του δείγματος να είναι τέτοιο ώστε η προσδιοριζόμενη ένωση και η δραστική ομάδα του προσροφητικού υλικού να είναι φορτισμένες.
- Για την αποδέσμευση των υπό προσδιορισμό συστατικών αρκεί ή αυτά ή το υπόστρωμα να είναι σε μη ιονισμένη μορφή. Εναλλακτικά χρησιμοποιείται διάλυμα μεγάλης ιοντικής ισχύος ή διάλυμα που περιέχει ιόντα που αντικαθιστούν την υπό προσδιορισμό ουσία, συνεπώς δρούν ανταγωνιστικά

Επιλογή μηχανισμού SPE



Στην εκχύλιση στερεής φάσης χρησιμοποιούνται εκτός από τα πυριτικά υλικά όλο και πιο πολύ πολυμερικά υλικά που πλεονεκτούν διότι παραμένουν σταθερά σε μεγάλο εύρος pH.

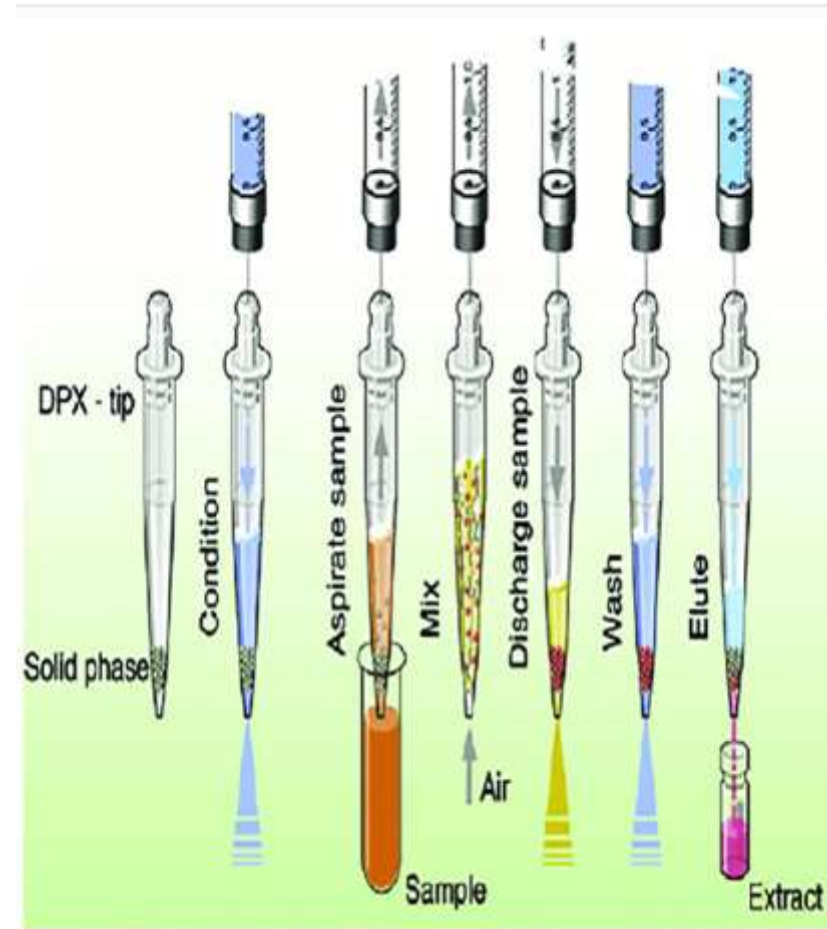
Στα πλεονεκτήματά τους θεωρείται και το ότι παρέχουν ομάδες με υδρόφιλο και με λιπόφιλο χαρακτήρα

Τέτοια υλικά είναι τα OASIS® HLB της Waters, τα ABSELUT NEXUS της Varian, τα Strata-X της Phenomenex καθώς και άλλα.

Εκχύλιση στερεής φάσης σε διασπορά με στήλη DPX

Νέο είδος εκχύλισης για βιολογικά δείγματα, (πχ εφαρμογής σε ναρκωτικές ουσίες

- Η μέθοδος χρησιμοποιεί στήλη συνολικού όγκου 1 mL ή 5 mL που περιέχει προσροφητικό υλικό ανάλογο με αυτό που χρησιμοποιείται στην SPE
- Κάθε στήλη έχει σύριγγα 10 mL που προσαρμόζεται στην κορυφή της ώστε με τη βοήθεια του αέρα να αναμιγνύεται το δείγμα τόσο με το προσροφητικό υλικό που βρίσκεται ελεύθερο και σε διασπορά, (κύρια διαφορά με την SPE) όσο και με το διαλύτη.



Μικροεκχύλιση Στερεής Φάσης (SPME)

(Τεχνική που αναπτύχθηκε το 1990 από Arthur και Pawliszyn)

Διαχωριστική τεχνική η οποία:

- Παρουσιάζει όρια ανίχνευσης 5-10 ppt (ng/L) για πτητικά, ημιπτητικά και μη πτητικά συστατικά. Καλή γραμμικότητα και ευαισθησία.
- Είναι γρήγορη, ευαίσθητη, εύκολα αυτοματοποιούμενη, οικονομική, χωρίς να απαιτεί χρήση διαλυτών.
- Έχει πλεονεκτήματα σε σχέση με άλλες διότι συνδυάζει ταυτόχρονη εκχύλιση και προσυγκέντρωση της υπό προσδιορισμό ουσίας από στερεά, αέρια ή υγρά δείγματα και άμεση μεταφορά για ανάλυση σε σύστημα είτε υγρής είτε αέριας χρωματογραφίας.

Η διαδικασία εκχύλισης με SPME περιλαμβάνει ταυτόχρονη εκχύλιση και προσυγκέντρωση αναλυτών από το υπόστρωμα των δεινμάτων:

ΑΡΧΙΚΑ

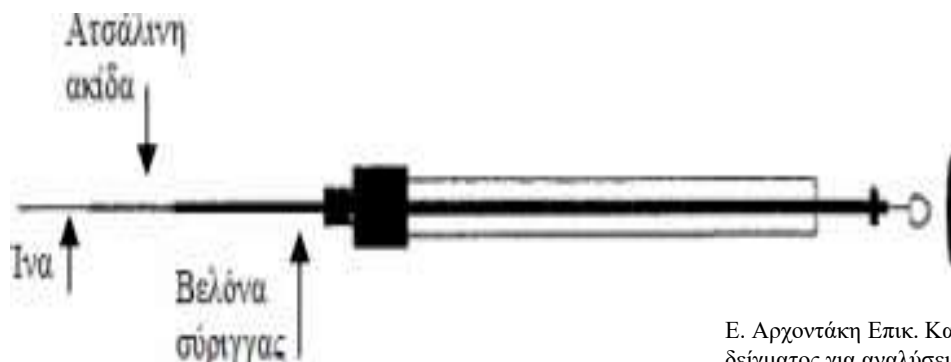
Μια ίνα τετηγμένου SiO_2 επικαλυμμένη με κάποια στατική φάση (coating) πολυμερούς υλικού, εισέρχεται στο φιαλίδιο που περιέχει το δείγμα και το υπό προσδιορισμό συστατικό (αναλύτης) κατανέμεται μεταξύ του υποστρώματος και του πολυμερούς υλικού της στατικής φάσης.

ΣΤΗ ΣΥΝΕΧΕΙΑ

Η ίνα με τα επιθυμητά συστατικά μεταφέρεται στον εισαγωγέα του αναλυτικού οργάνου όπου θα πραγματοποιηθεί εκρόφηση, διαχωρισμός και ποσοτικοποίηση

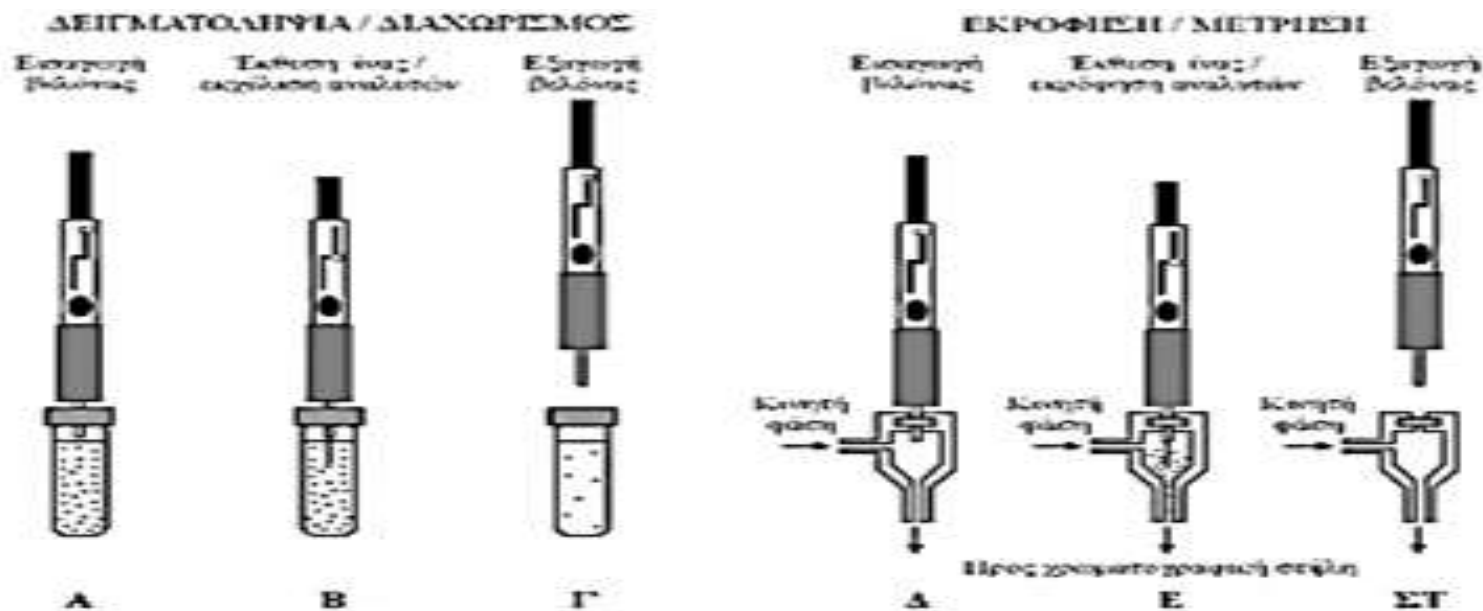
Λόγω μεγάλης εκλεκτικότητας πολυμερούς υλικού, συνήθως δεν είναι απαραίτητο το ενδιάμεσο στάδιο καθαρισμού

- Στο παρακάτω σχήμα παριστάνεται η αρχική συσκευή που στηριζόταν σε επικαλυμμένη ίνα στερεωμένη σε ακροφύσιο σύριγγας. Η λεπτή στερεωμένη ίνα SiO_2 επικαλύπτεται σε μια πολυμερική στατική φάση, (πχ πολυμεθυλοσιλοξάνιο ή πολυακρυλικό εστέρα. Η ίνα εμβαπτίζεται στο διάλυμα που αναλύεται και οι αναλύτες διαχέονται και κατανέμονται στην επίστρωση με βάση των σταθερών κατανομής τους. Ακολουθεί απομάκρυνση της ίνας από το διάλυμα και τοποθέτησή της στο σύστημα έγχυσης της υγρής ή της αέριας χρωματογραφίας. Εκεί οι αναλύτες εκτοπίζονται με χρήση ισχυρού διαλύτη κατά ανάλογη διαδικασία με αυτή του σταδίου έκλουσης της SPE



Ε. Αρχοντάκη Επικ. Καθηγήτρια «Προκατεργασία δείγματος για αναλύσεις με HPLC», Πανεπιστήμιο Αθηνών

- A. Διάτρηση ελαστικού διαφράγματος φιαλιδίου από τη βελόνα
- B. Μεταφορά συστατικών στην ίνα
- C. Προστασία ίνας μέσα στη βελόνα και εξαγωγή βελόνας
- D. Εισαγωγή της βελόνας στον εισαγωγέα δείγματος του χρωματογράφου
- E. Εκρόφιση επιθυμητών συστατικών από ίνα και μεταφορά τους από κινητή φάση προς χρωματογραφική στήλη
- F. Εξαγωγή βελόνας από τον εισαγωγέα δείγματος



Η τεχνική εκχύλισης SPME βασίζεται στην κατανομή
του αναλύτη μεταξύ της υδατικής φάσης και της
στατικής του πολυμερούς υλικού

- Η εκχύλιση με SPME θεωρείται πως ολοκληρώνεται όταν η συγκέντρωση του αναλύτη φτάσει σε ισορροπία μεταξύ του υποστρώματος του δείγματος και του πολυμερούς υλικού της ίνας.
- Στην ισορροπία, το ποσό του αναλύτη που εκχυλίζεται είναι σταθερό (εντός ορίων πειραματικού σφάλματος) και ανεξάρτητο από τον επιπλέον χρόνο εκχύλισης.

Η δυναμική της απορρόφησης περιγράφεται από την ακόλουθη σχέση:

$$n = \frac{(K_{fs} \times V_f \times V_s)}{(K_{fs} \times V_f + V_s)} C_o$$

Η πιο πάνω σχέση αναφέρεται κύρια σε υγρή επίστρωση ίνας (όπως το πολυδιμέθυλοσιλοξάνιο, PDMS) αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για στερεές επιστρώσεις για μικρές συγκεντρώσεις αναλυτών. Το διάλυμα θα πρέπει να είναι ομοιογενές και να μην διαφεύγουν αναλύτες στην αέρια φάση

- n : moles επιθυμητού συστατικού που προσροφώνται στη στατική φάση
- K_{fs} : συντελεστής κατανομής μεταξύ υδατικής και στατικής φάσης
- V_{fx} , V_s : όγκος δείγματος και ίνας αντίστοιχα
- C_o : αρχική συγκέντρωση στο διάλυμα, του προς ανάλυση συστατικού

Παράγοντες που επηρεάζουν τη διαδικασία εκχύλισης και την εκχυλιστική ικανότητα της SPME

- Η επίστρωση της ίνας
- Ο χρόνος δειγματοληψίας και εκρόφησης
- Η θερμοκρασία δειγματοληψίας και εκρόφησης
- Η ανάδευση του δείγματος

Άλλοι παράγοντες που είναι δυνατόν να επηρεάσουν θετικά αυξάνοντας την απόδοση εκχύλισης και ελαττώνοντας σημαντικά το χρόνο που απαιτείται:

- Προσθήκη αλάτων (πχ NaCl και Na_2SO_4)
- Εφαρμογή ανάδευσης

Παράγοντες βελτίωσης εκλεκτικότητας και ταχύτερης αποκατάστασης ισορροπίας

- Ρύθμιση του pH ανάλογα με το pK_a της υποπροσδιορισμό ένωσης

Η επίδραση της θερμοκρασίας διαφέρει ανάλογα με το είδος SPME και εξαρτάται και από την πτητικότητα του αναλύτη

Τύπος	Προσροφητικό	Μηχανισμός συγκράτησης	Δείγματα	Ιδιότητες Αναλύτη	Σχέδιο Έκλουσης	Παραδείγματα εφαρμογών
Αντίστροφη φάση	Μη πολικό <ul style="list-style-type: none"> • C2 • C8 • C18 • -phenyl 	Μη πολικός ή Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις	Υδατικά Δείγματα <ul style="list-style-type: none"> • Βιολογικά υγρά • Υδατικά εκχυλίσματα • Περιβαλλοντικά υδατικά δείγματα 	Έχει μη πολικές ιδιότητες <ul style="list-style-type: none"> • Οι περισσότερες οργανικές • Αλκυλο, αρωματικές, αλεικυκλικές λειτουργικές ομάδες 	Διαλύτες ή μείγματα διαλυτών επαρκούς μη πολικού χαρακτήρα <ul style="list-style-type: none"> • Μεθανόλη, ακετονιτρίλιο, διχλωρομεθάνιο • Buffers / Μείγματα διαλυτών 	<ul style="list-style-type: none"> • Φάρμακα και μεταβολίτες σε βιολογικά υγρά • Περιβαλλοντικοί ρύποι στο νερό • Υδατικά εκχυλίσματα ιστών και στερεών

Τύπος	Προσροφητικό	Μηχανισμός συγκράτησης	Δείγματα	Ιδιότητες Αναλύτη	Σχέδιο Έκλυσης	Παραδείγματα εφαρμογών
Κανονική	<p>Πολικό</p> <ul style="list-style-type: none"> • Αλουμίνα • Πυρίτιο (Si-OH) • δυόλη • κυανό • αμινο • Florisil (MgO3Si) 	<p>Πολικές Αλληλεπιδράσεις</p> <ul style="list-style-type: none"> • δεσμοί υδρογόνου • διπόλου-διπόλου • επαγόμενου διπόλου 	<p>Μη πολικά</p> <ul style="list-style-type: none"> • Οργανικά εκχυλίσματα στερεών • Εξαιρετικά μη πολικοί διαλύτες • Λιπαρά έλαια, • Υδρογονάνθρακες 	<p>Παρουσιάζει πολικές ιδιότητες</p> <ul style="list-style-type: none"> • Υδροξύλια • Καρβονύ-λια • Αμίνες • διπλοί δεσμοί • Ετεροάτομα (O,N,S,P) 	<p>Οι πολικές αλληλεπιδράσεις διαταράσσονται με πιο πολικό διαλύτη ή διάλυμα</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ακετο-νιτρίλιο • Μεθανόλη, • Ισοπροπανόλη • Συνδυασμός διαλυτών 	<ul style="list-style-type: none"> • Καθαρισμός οργανικών εκχυλισμάτων εδαφών και λάσπης • Κλασματοποίηση υδρογονανθράκων πετρελαίου • Απομόνωση ενώσεων καλλυντικών

Τύπος	Προσροφητικό	Μηχανισμός συγκράτησης	Δείγματα	Ιδιότητες Αναλύτη	Σχέδιο Έκλυσης	Παραδείγματα εφαρμογών
Ιονο-νταλλαγής	<ul style="list-style-type: none"> • Τεταρτοταγείς αμίνες (ανιόν) • Σουλφονικά οξέα (κατιόν) 	Ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση φορισμένων λειτουργικών ομάδων του αναλύτη με αντίθετα φορισμένες λειτουργικές ομάδες του ροφητή	<p>Υδατικά ή οργανικά δείγματα με χαμηλή συγκέντρωση (<0,1 M)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Βιολογικά υγρά • Αντιδράσεις σύνθεσης διαλύματος 	<p>Κατιονο-νταλλαγή για βασικές ενώσεις όπως οι αμίνες</p> <p>Ανταλλαγή ανιόντων – για όξινες ενώσεις</p>	<p>Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις διαταράσσονται μέσω:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Τροποποίηση pH για εξουδετέρωση λειτουργικών ομάδων ένωσης και/ή ροφητικού • Αύξηση συγκέντρωσης αλατιού (>1M). • Χρήση πιο επιλεκτικού αντίθετου ιόντος για ανταγωνισμό θέσεων δέσμευσης ανταλλαγής ιόντων 	<ul style="list-style-type: none"> • Φαρμακα • Ενώσεις σε Βιολογικά υγρά • Λιπαρά οξέα τροφίμων ή γεωπονικών δειγμάτων • Οργανικά οξέα στα ούρα • Ζιζανιοκτόνα σε έδαφος

ΣΦΑΛΜΑΤΑ-ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Πηγή: Αντώνιος Κ. Καλοκαιρινός, Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας
Τμήματος Χημείας ΕΚΠΑ, «Αναλυτική Χημεία», 2015, Ελληνικά
Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα, Κάλλιπος
(www.Kallipos.gr)

Τα αποτελέσματα μιας ποσοτικής ανάλυσης θα πρέπει να συνοδεύονται από δεδομένα που να δίνουν την αξιοπιστία τους.

40% ως αποτέλεσμα μιας ανάλυσης έχει ελάχιστη αξία

Αντίθετα

40,07 ± 0,04% (s, N=5) δηλώνει πως το αποτέλεσμα 40,07, προέκυψε από πέντε μετρήσεις (N=5), και η τυπική απόκλιση s βρέθηκε ίση με ± 0,04

Σημαντικό είναι το αποτέλεσμα να δίνεται και με τον κατάλληλο αριθμό σημαντικών ψηφίων.

- Η πραγματική τιμή κάποιου μετρούμενου μεγέθους συνήθως δεν είναι γνωστή και αντί αυτής χρησιμοποιείται μια «παραδεκτή τιμή» με την οποία συγκρίνονται όλες οι πειραματικές τιμές
- Εάν πραγματοποιηθούν N επαναλαμβανόμενες μετρήσεις κάποιου μεγέθους και ληφθούν αριθμητικές τιμές x_i , ως πιο αντιπροσωπευτική τιμή της μ προτείνεται η **μέση τιμή (mean)** των πειραματικών μετρήσεων:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_N}{N} = \frac{\sum_{i=1}^N x_i}{N} = \frac{\sum x_i}{N}$$

- **Ως ακρίβεια (accuracy)**, κάποιου αναλυτικού αποτελέσματος, ορίζεται η εγγύτητα της πειραματικής τιμής προς την αληθινή τιμή μ . Η ακρίβεια εκφράζεται συνήθως με το απόλυτο σφάλμα (error), E κάποιας μέτρησης x_i : $E_{x_i} = x_i - \mu$

ή με αυτό της μέσης τιμής \bar{x} : $E_{\bar{x}} = \bar{x} - \mu$

Επαναληψιμότητα (precision), μετρήσεων. Δείχνει πόσο κοντά μεταξύ τους είναι τα αποτελέσματα. Μέτρα της επαναληψιμότητας μιας σειράς μετρήσεων, είναι κατά κύριο λόγο η μέση απόκλιση, η τυπική απόκλιση (standard deviation s) και το εύρος (range R).

- **Τυπική απόκλιση s, για μικρό αριθμό μετρήσεων**

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

Όπου N-1 οι βαθμοί ελευθερίας

- Για αριθμό μετρήσεων $N > 20$, η τιμή πλησιάζει την μ και η τυπική απόκλιση s την τιμή της **τυπικής απόκλισης του πληθυσμού σ** , η οποία δίνεται από τη σχέση

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^2}{N}}$$

- Για μικρό αριθμό μετρήσεων, ένα χρήσιμο μέγεθος είναι και το **εύρος R (διαφορά ελάχιστης από τη μέγιστη τιμή)** $R = x_{\text{μεγ}} - x_{\text{ελαχ}}$

- Σφάλμα, τυπική απόκλιση και εύρος → ίδιες μονάδες με το μέγεθος που μετριέται αλλά υπάρχουν φορές που είναι απαραίτητη η σύγκριση μεγεθών που εκφράζονται με διαφορετικές μονάδες, άρα είναι προτιμότερο να χρησιμοποιούνται οι σχετικές τιμές τους ως προς το μετρούμενο μέγεθος.

- Έτσι προέκυψαν

➤ το σχετικό σφάλμα $E_r = \frac{E}{\mu}$

➤ η σχετική τυπική απόκλιση $S_r = \frac{s}{\bar{x}}$

➤ και το σχετικό εύρος $R_r = \frac{R}{\bar{x}}$

Αν τα παραπάνω σχετικά μεγέθη πολλαπλασιαστούν επί 100 ή 1000 ή 10^6 εκφράζονται επί τοις εκατό (%), επί τοις χιλίοις (‰) και σε μέρη ανά εκατομμύριο

Η % σχετική τυπική απόκλιση $\frac{s}{\bar{x}} \times 100$ με RSD % (% relative

standard deviation) και είναι γνωστή ως συντελεστής μεταβλητότητας CV (coefficient of variation)

- Προσοχή χρειάζεται στο πρόσημο του αποτελέσματος στον υπολογισμό του σφάλματος μιας τιμής ή της μέσης τιμής.
 - Όταν $\bar{x} < \mu$ το αποτέλεσμα έχει – πρόσημο και το σφάλμα είναι αρνητικό και όταν $\bar{x} > \mu$, το αποτέλεσμα έχει + πρόσημο και το σφάλμα είναι θετικό.
- **Ακρίβεια και επαναληψιμότητα είναι το μέτρο της αξιοπιστίας μιας αναλυτικής μεθόδου**
 - Ακρίβεια εκφράζεται συνήθως με το σφάλμα και με το σχετικό σφάλμα
 - Επαναληψιμότητα εκφράζεται με το εύρος (για μικρό αριθμό μετρήσεων) και κατά κύριο λόγο με την τυπική απόκλιση και τη σχετική τυπική απόκλιση

Κακή ακρίβεια
Κακή
επαναληψιμότητα



Καλή ακρίβεια
Καλή
επαναληψιμότητα

Κακή ακρίβεια
Καλή
επαναληψιμότητα

ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΣΤΗΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Καθορισμένα ή
συστηματικά
Αποδίδονται σε
συγκεκριμένες
αιτίες

Σφάλματα μεθόδου

Σφάλματα
οργάνων

Προσωπικά
Σφάλματα

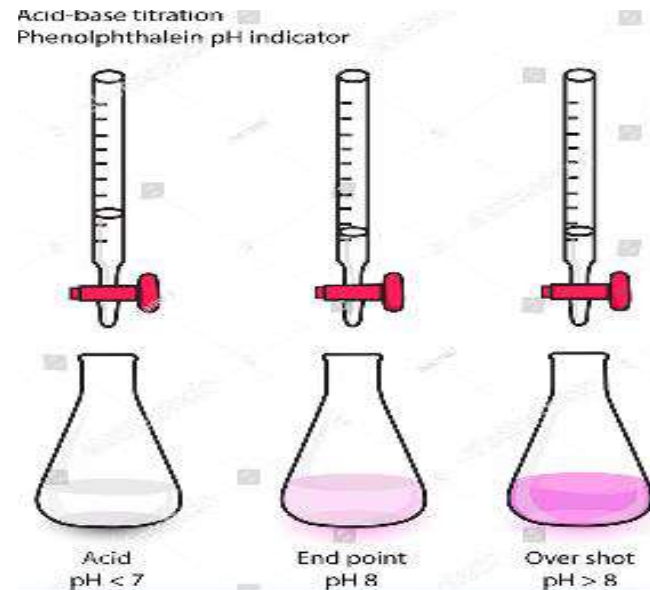
Τυχαία

Συνοδεύουν κάθε μέτρηση και οφείλονται σε μη μόνιμες αιτίες π.χ. ατέλειες αισθητήριων οργάνων παρατηρητή, θερμικός θόρυβος οργάνων κ.λ.π..

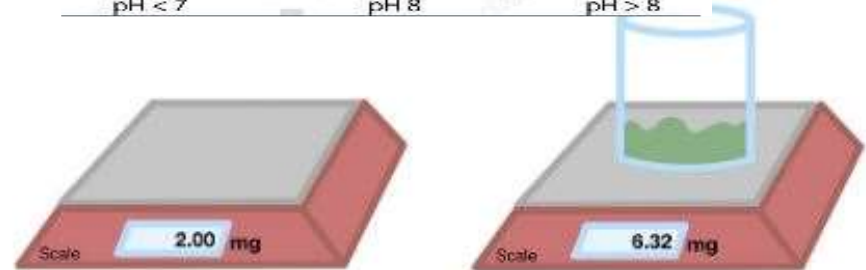
Εξουδετερώνονται ως ένα βαθμό με την αύξηση των μετρήσεων αλλά δεν εξαλείφονται πλήρως

Παραδείγματα συστηματικών σφαλμάτων

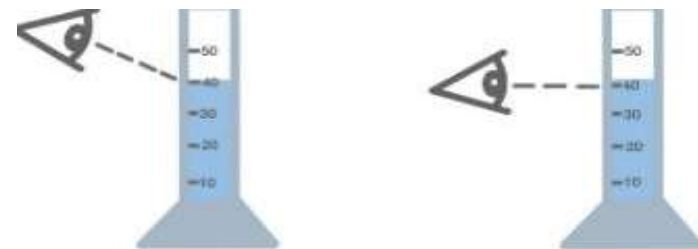
a. Σφάλματα μεθόδου. Τα σφάλματα οφείλονται στη μέθοδο και μειώνονται μόνο όταν μεταβληθούν οι πειραματικές συνθήκες. Τυπικό παράδειγμα είναι η μη σύμπτωση αλλαγής χρώματος του δείκτη σε μια ογκομετρική ανάλυση με το ισοδύναμο σημείο



b. Σφάλματα Οργάνου (Instrumental Error). Μη σωστή βαθμονόμηση ζυγού

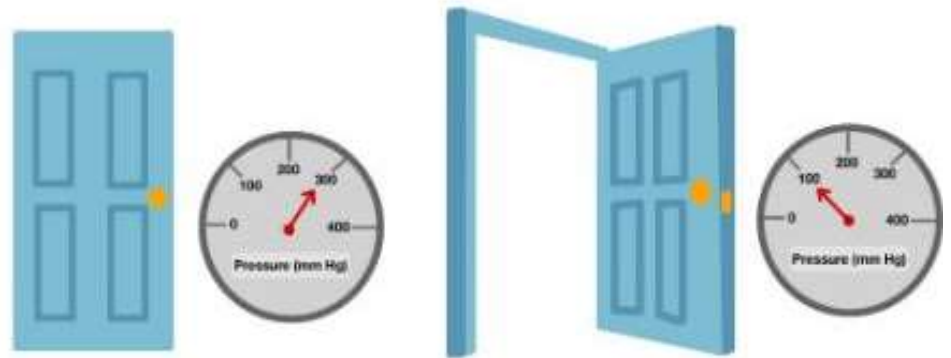


c. Προσωπικά σφάλματα που οφείλονται στον παρατηρητή

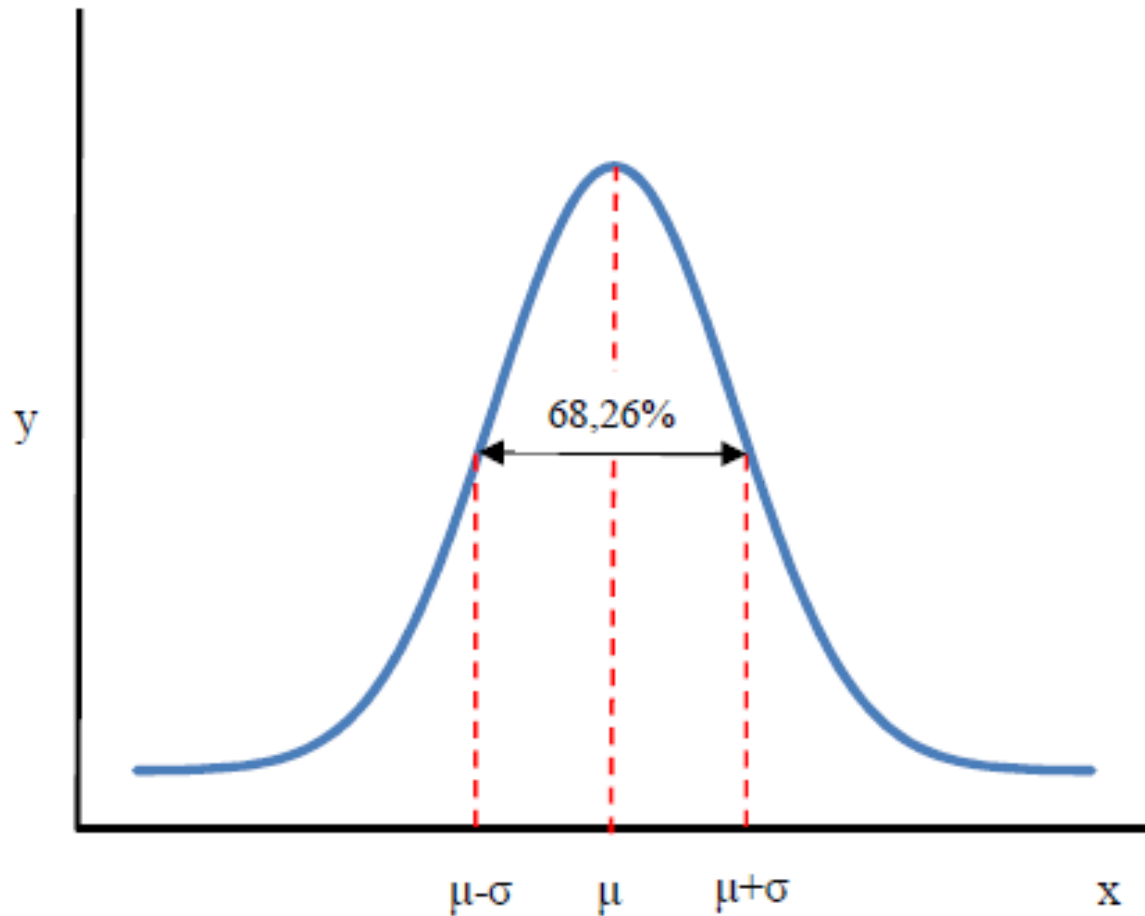


Παραδείγματα τυχαίων Σφαλμάτων

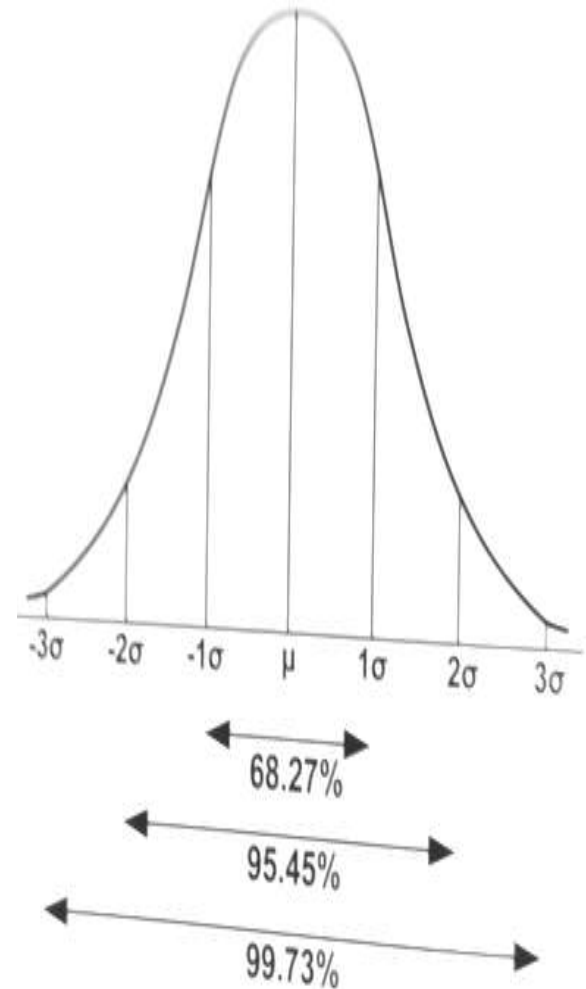
Κατά την μέτρηση πίεσης, φοιτητές και φοιτήτριες μπαίνουν και βγαίνουν από το εργαστήριο, με αποτέλεσμα η τιμή της πίεσης να εμφανίζεται χαμηλότερη.



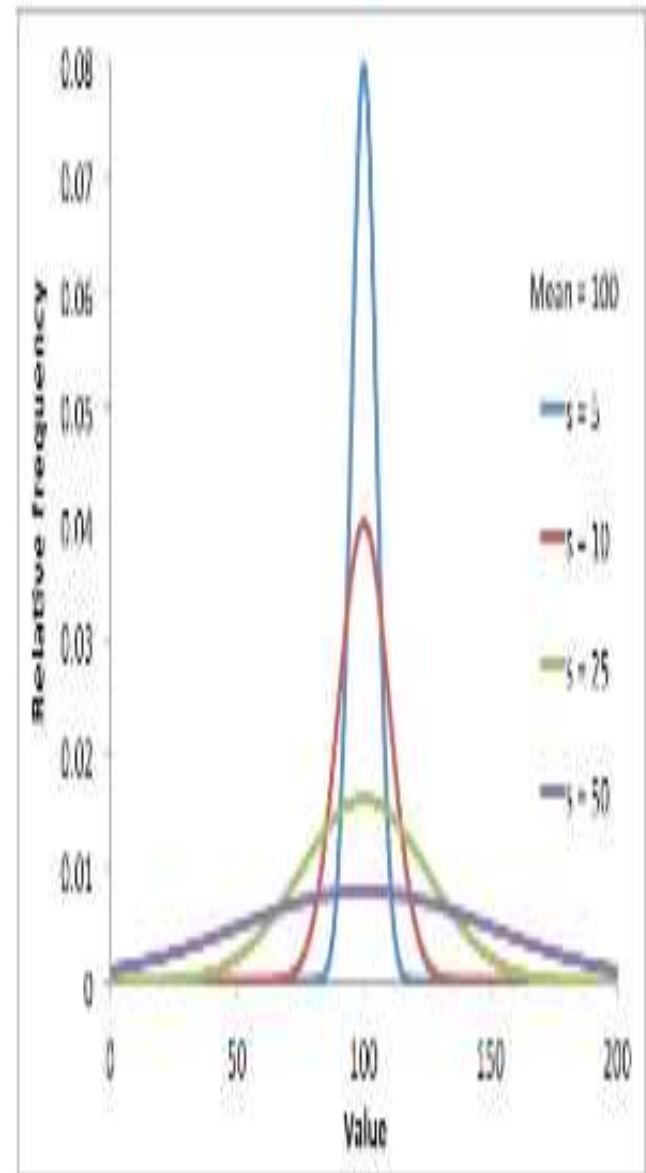
Η κατανομή των τυχαίων σφαλμάτων ακολουθεί το νόμο της κανονικής κατανομής κατά Gauss



- Η καμπύλη επικεντρώνεται γύρω από μια κορυφή ίση με τη μέση τιμή και έχει χαρακτηριστικό κωδωνοειδές σχήμα
- Η καμπύλη είναι ομαλή και δεν έχει όρια στον άξονα x
- Η πλειονότητα των εμφανιζόμενων μετρήσεων συγκεντρώνεται εντός τριών τυπικών αποκλίσεων του μέσου όρου
- Το μέγεθος της συχνότητας μειώνεται απότομα στο διάστημα $\mu \pm 1\sigma$ και σε μεγαλύτερα διαστήματα ομαλότερα
- Σχεδόν το 68% του πληθυσμού, είναι σε απόσταση $\pm 1\sigma$ από το μέσο όρο μ
- Σχεδόν το 95% του πληθυσμού, είναι σε απόσταση $\pm 2\sigma$ από το μέσο όρο μ
- Σχεδόν το 99,7% του πληθυσμού, είναι σε απόσταση $\pm 3\sigma$ από το μέσο όρο μ



- Η καμπύλη κανονικής κατανομής, είναι δυνατόν να πάρει μορφές που να διαφέρουν ως προς το ύψος και το πλάτος.
- Το πλάτος εξαρτάται από το μέγεθος της τυπικής απόκλισης. Στο διπλανό σχήμα φαίνεται πώς όσο αυξάνει η τυπική απόκλιση η καμπύλη γίνεται ευρύτερη και μικρότερη (σε ύψος). Μεγαλύτερη τυπική απόκλιση υποδηλώνει ύπαρξη περισσότερων μετρήσεων που βρίσκονται σχετικά μακριά από τη μέση τιμή. Μικρότερη τυπική απόκλιση χαρακτηρίζει σύνολο δεδομένων με τις μετρήσεις πιο κοντά στον μέσο όρο.
- Για να μπορούν να συγκριθούν οι καμπύλες τα αποτελέσματα κανονικοποιούνται με βάση τον μετασχηματισμό: $z = (X - \mu) / \sigma$. Όπου z είναι το κανονικοποιημένο αποτέλεσμα.



Ως όρια εμπιστοσύνης ή αξιοπιστίας του μέσου όρου ορίζονται οι δύο τιμές που βρίσκονται αριστερά και δεξιά και ορίζουν το διάστημα εμπιστοσύνης, με άλλα λόγια την περιοχή τιμών μέσα στην οποία προβλέπεται με ορισμένη πιθανότητα ότι βρίσκεται η τιμή μ . Συνήθως η πιθανότητα αυτή εκφράζεται επί τοις εκατό και ονομάζεται στάθμη εμπιστοσύνης.

Όρια εμπιστοσύνης με την προϋπόθεση πως το δείγμα είναι αρκετά μεγάλο ώστε η πραγματική τυπική απόκλιση σ να ισούται με την τυπική απόκλιση του δείγματος

$$\text{Όρια εμπιστοσύνης} = \bar{x} \pm z \cdot \sigma / \sqrt{n}$$

όπου:

- ✓ $z = 1.96$ για 95% όρια εμπιστοσύνης
- ✓ $z = 2.58$ για 99% όρια εμπιστοσύνης
- ✓ $z = 2.97$ για 99.7% όρια εμπιστοσύνης

Όρια εμπιστοσύνης εάν το δείγμα δεν είναι αρκετά μεγάλο και εάν εκτιμάται πως η πραγματική τυπική απόκλιση σ απέχει από την τυπική απόκλιση του δείγματος

Όρια εμπιστοσύνης
 $= \bar{x} \pm t_{n-1} \cdot (s/\sqrt{n})$

Βαθμοί ελευθερίας (n-1)	Τιμή συντελεστή t για 95% όρια εμπιστοσύνης	Τιμή συντελεστή t για 99% όρια εμπιστοσύνης
2	4.30	9.92
5	2.57	4.03
10	2.23	3.17
20	2.09	2.85
50	2.01	2.68
100	1.98	2.63

Κανόνες γραφής σημαντικών ψηφίων κατά την παρουσίαση αποτελεσμάτων

Δεκαδικοί αριθμοί:

Αναφέρονται μόνο τα σημαντικά ψηφία του αριθμού

➤ Τερματικά μηδενικά δεξιά της υποδιαστολής είναι πάντα σημαντικά

➤ Σε περίπτωση που το μηδέν βρίσκεται ανάμεσα σε μη μηδενικά ψηφία, λογίζεται ως σημαντικό ψηφίο

➤ Σε περίπτωση που το μηδέν βρίσκεται αριστερά κάποιου δεκαδικού αριθμού, δεν λογίζεται ως σημαντικό ψηφίο

π.χ. 5,11 cm 5,00 cm, 0,101 cm 0,000412 cm όλοι 3 σημαντικά ψηφία

ΚΑΝΟΝΕΣ ΚΑΘΟΡΙΣΜΟΥ ΣΗΜΑΝΤΙΚΩΝ ΨΗΦΙΩΝ

Μη δεκαδικοί αριθμοί:

- Τερματικά μηδενικά σε μη δεκαδικούς αριθμούς, μπορεί να είναι σημαντικά μπορεί και όχι.

Για παράδειγμα έστω μετράμε την ομική αντίσταση $R = 21000 \text{ Ohm}$. Δεν γνωρίζουμε αν τα τρία τελευταία μηδενικά είναι σημαντικά ψηφία. Το αποτέλεσμα θα πρέπει να γραφεί ως δύναμη του 10

- ✓ 2.1×10^4 ο αριθμός έχει δύο σημαντικά ψηφία και βέβαιο είναι μόνο το πρώτο
- ✓ 2.10×10^4 ο αριθμός έχει τρία σημαντικά ψηφία και αβέβαιο είναι το τελευταίο μηδενικό

Σημαντικά ψηφία σε υπολογισμούς

- Σε πολλαπλασιασμό ή διαίρεση, το αποτέλεσμα δίνεται με τόσα σημαντικά ψηφία όσα έχει η μέτρηση με τα λιγότερα σημαντικά.
- Σε πρόσθεση ή αφαίρεση το αποτέλεσμα δίνεται με τόσα σημαντικά ψηφία όσα έχει η μέτρηση με τα λιγότερα δεκαδικά ψηφία

Στρογγυλοποίηση

- Έτσι ονομάζεται η διαδικασία απόρριψης ψηφίων που δεν είναι σημαντικά από το αποτέλεσμα υπολογισμών και η τροποποίηση του τελευταίου ψηφίου που μένει
- Όλη η προσοχή δίνεται στο πρώτο από αριστερά ψηφίο που πρέπει να απορρίψουμε.
- Εάν αυτό είναι 5 ή μεγαλύτερο, προσθέτουμε μια μονάδα στο ψηφίο που προηγείται και και απορρίπτουμε όσα ψηφία βρίσκονται δεξιά αυτού.

Στρογγυλοποίηση σε τρία σημαντικά του 3,3453 δίνει 3,35

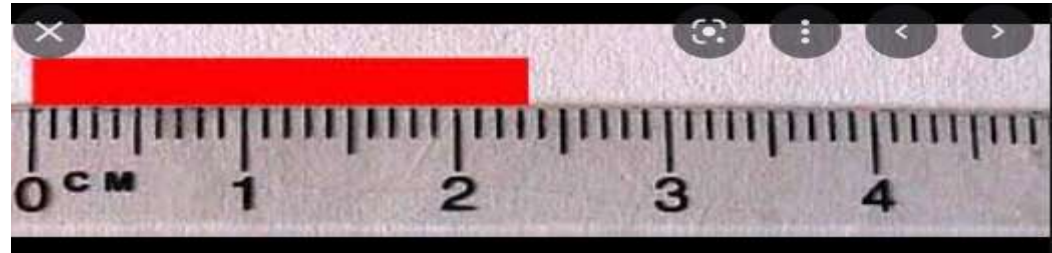
- Εάν είναι μικρότερο του 5 απλώς το απορρίπτουμε με όλα τα υπόλοιπα που βρίσκονται δεξιά του

Στρογγυλοποίηση του 3,3443 σε τρία σημαντικά ψηφία δίνει 3,34

ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

Αναλογικά

Το σφάλμα θα είναι το $\frac{1}{2}$ της ελάχιστης υποδιαίρεσης του οργάνου



Η μέτρηση είναι πιο κοντά στα
23 mm

Αρα τελικά το σφάλμα
ανάγνωσης 0.50 mm

Και η μέτρηση (23 ± 0.50) mm

ΣΦΑΛΜΑΤΑ ΑΝΑΓΝΩΣΗΣ

Ψηφιακά

Πρέπει να θεωρείται αβέβαιο το τελευταίο ψηφίο. Επειδή συνήθως δεν είναι γνωστό αν το όργανο στρογγυλεύει το αποτέλεσμα στο τελευταίο ψηφίο, πρέπει να παίρνουμε ως σφάλμα ανάγνωσης μια μονάδα στο τελευταίο ψηφίο της ένδειξης.



Η ένδειξη
12.034, έχει
σφάλμα
ανάγνωσης
 $\pm 0,001$

Βιβλιογραφία

- [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction)
- file:///D:/%CE%91%CE%B5%CE%B9%CF%86%CE%B9%CE%BA%CE%AE%20%CE%93%CE%B5%CF%89%CF%81%CE%B3%CE%AF%CE%B1/%CE%9D%CE%B5%CE%B1%20%CE%BA%CE%B5%CF%86%CE%AC%CE%BB%CE%B1%CE%B9%CE%B1%20%CE%91%CE%BD%CE%B1%CE%BB%20%CE%BA%CE%B1%CE%B9%20%CE%9F%CF%81%CE%B3%20%CE%A7%CE%B7%CE%BC/%CE%99%CE%BF%CF%8D%CE%BB%CE%B9%CE%BF%CF%82%20%CE%95%CE%BA%CF%87%CF%8D%CE%BB%CE%B9%CF%83%CE%B7/Mela_Sofia-Maria_Dip_2018.pdf
- <https://www.restek.com/row/technical-literature-library/articles/solvent-miscibility-and-solubility/>
- Ε. Αρχοντάκη Επικ. Καθηγήτρια «Προκατεργασία δείγματος για αναλύσεις με HPLC», Πανεπιστήμιο Αθηνών
https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM165/10-SAT_prokatergasia_deigmatos_math_1_%201-2-08.pdf
- <https://eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/CHEM233/%CE%9A%CE%95%CE%A6%2015%20%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A7%CE%A9%CE%A1%CE%99%CE%A3%CE%9C%CE%9F%CE%A3%20%CE%9C%CE%95%20%CE%95%CE%9A%CE%A7%CE%A5%CE%9B%CE%99%CE%A3%CE%97.pdf>
- https://teachntest.org/extraction-classification-methods-and-important-applications/?utm_content=cmp-true
- <https://encyclopedia.pub/entry/713>
- <https://www.arcjournals.org/pdfs/ijarcs/v6-i3/2.pdf>
- <http://archive.eclass.uth.gr/eclass/modules/document/file.php/SEYC123/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3/13.%20%CE%95%CE%99%CE%A3%CE%91%CE%93%CE%A9%CE%93%CE%97%20%CE%A3%CE%A4%CE%9F%CE%9D%20%CE%94%CE%99%CE%91%CE%A7%CE%A9%CE%A1%CE%99%CE%A3%CE%9C%CE%9F-%CE%95%CE%9A%CE%A7%CE%A5%CE%9B%CE%99%CE%A3%CE%97.pdf>

- <http://archive.eclass.uth.gr/eclass/modules/document/file.php/SEYC123/%CE%94%CE%99%CE%91%CE%9B%CE%95%CE%9E%CE%95%CE%99%CE%A3%8.%20%CE%A3%CE%A4%CE%91%CE%98%CE%9C%CE%99%CE%9A%CE%97%20%CE%91%CE%9D%CE%91%CE%9B%CE%A5%CE%A3%CE%97.pdf>
- [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_\(Analytical_Chemistry\)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Analytical_Sciences_Digital_Library/Contextual_Modules/Sample_Preparation/03_Solid-Phase_Extraction)
- file:///C:/Users/user/OneDrive%20-STEFANO DUGHERI , GIORGIO MARRUBINI , NICOLA MUCCI , GIOVANNI CAPPELLI , ALESSANDRO BONARI , ILENIA POMPILIO, LUCIA TREVISANI and GIULIO ARCANGELI, "A review of micro-solid-phase extraction techniques and devices applied in sample pretreatment coupled with chromatographic analysis", Acta Chromatographica, Received: April 20, 2020 • Accepted: May 04, 2020, <http://dx.doi.org/10.1556/1326.2020.00790>
- <http://artemis.library.tuc.gr/MT2013-0036/MT2013-0036.pdf>
- Νταρακάς Ευθύμιος, Πεταλά Μαρία, Τσιρίδης Βασίλειος, «Περιβαλλοντική Χημεία και Μηχανική», 2020, Εκδόσεις Τζόλα
- Καθ. Κωνσταντίνου Η. Ευσταθίου, Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας Πανεπιστημίου Αθηνών «ΕΝΟΤΗΤΑ Α ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ», Άνοικτά Ακαδημαϊκ'α Μαθήματα ΕΚΠΑ
- <https://sites.chem.utoronto.ca/chemistry/coursenotes/analsci/stats/MeasMeanVar.html>
- https://groups.chem.ubc.ca/stoodley/Module1_3_Gaussian.html
- <https://www.exprii.com/t/types-of-error-overview-comparison-8112>
- «Εργαστηριακές Ασκήσεις Φυσικής», Τόμος Ι, Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο, Τομέας Φυσικής Γενικό Τμήμα, Εκδόσεις Συμμετρία, Αθήνα 1994
- «Ανάλυση Σφαλμάτων», Ε-Π Χριστοπούλου, Καθηγήτρια Τμήματος Φυσικής Σχολής Θετικών επιστημών Πανεπιστημίου Πατρών, Μάρτιος 2005