QUADERNO DI LABORATORIO

COSA SI E' FATTO E COSA SI E' OSSERVATO

REINTERPRETABILE DOPO MOLTO TEMPO

ANCHE DA ALTRI

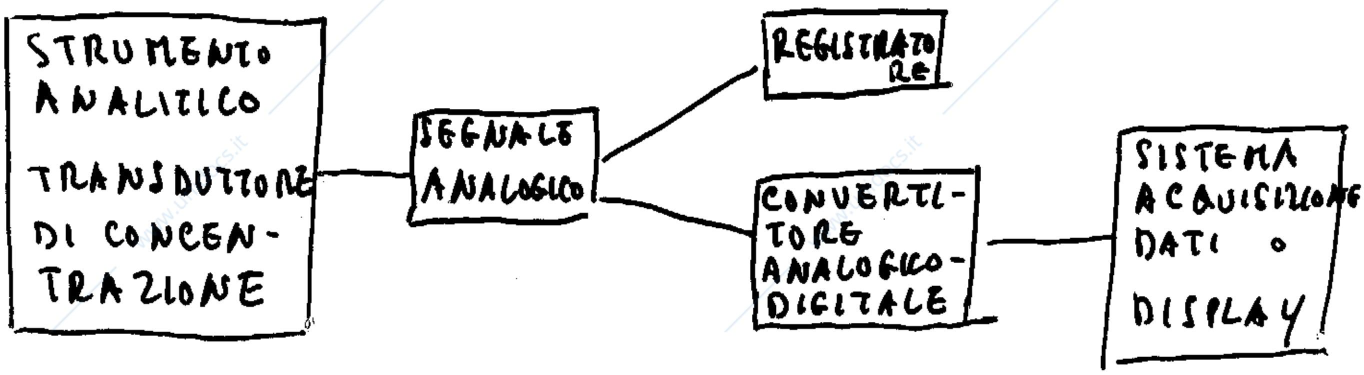
POSSIBILITA' DI COMPRENDERE ALLA LUCE DI NUOVE CONOSCENZE CIO' CHE E' STATO OSSERVATO

—

DATI:

RISULTATI NUMERICI DERIVANTI DA:

- LETTURA DIRETTA SU SCALE GRADUATE
- ANALISI VOLUMETRICA (BURETTE)
- " GRAVIMETRICA (BILANCE)
- ANALISI STRUMENTALE (STRUMENTI ANALOGICI) (REGISTRATORI A CARTA)
- ACQUISIZIONE DI VALORI NUMERICI DA ANALISI STRUMENTALE (BILANCE E STRUMENTI DIGITALI IN GENERALE)



TRANSDUTTORE DI CONCENTRAZIONE:
DISPOSITIVO CHE FORNISCE UN SEGNALE ANALOGICO (MISURABILE) (CORRENTE, TENSIONE ELETTRICA) PROPORZIONALE ALLA CONCENTRAZIONE

ES: ELETTRODO FOTODIODO

IL SEGNALE E' POI AMPLIFICATO REGISTRATO O DIGITALIZZATO.

IN TUTTE LE SITUAZIONI I RISULTATI ANALITICI SONO DEI <u>NUMERI</u> CHE DEVONO ESSERE TRATTATI NEL MODO PIU' OPPORTUNO.

CIFRE SIGNIFICATIVE:
NUMERO MINIMO DI CIFRE PER ESPRIMERLO IN NOTAZIONE SCIENTIFICA SENZA COMPROMETTERNE LA PRECISIONE

1,234	QUATTRO	CIFRE	SIGNIFICATIVE	$1,234 \cdot 10^{0}$
123,4	"	"	"	$1,234 \cdot 10^{2}$
12,34	"	"	"	$1,234 \cdot 10$
1234	"	"	"	$1,234 \cdot 10^{-3}$

GLI ZERI PRIMA DELLA VIRGOLA O NON COMPRESI FRA ALTRI NUMERI NON SONO SIGNIFICATIVI

L'ULTIMA CIFRA DI UNA MISURA E' QUELLA ALLA QUALE E' ASSOCIATA UNA IMPRECISIONE

$1,23 \cdot 10^4$	$\pm\ 0,01$	3 CIFRE SIGNIF.
$1,230 \cdot 10^4$	$\pm\ 0,001$	4 " "
$1,2300 \cdot 10^4$	$\pm\ 0,0001$	5 " "

NELLE OPERAZIONI FRA DUE NUMERI CON DIVERSE CIFRE SIGNIFICATIVE IL RISULTATO VIENE ARROTONDATO PER OTTENERE UN DATO OMOGENEO CON IL NUMERO MENO SICURO

$$\begin{array}{r} 1,234\ + \\ 1,23 \\ \hline 2,464 \end{array} \Downarrow 2,46 \qquad \begin{array}{r} 1,235 \\ 1,23 \\ \hline 2,465 \end{array} \Downarrow 2,46 \qquad \begin{array}{r} 1,236 \\ 1,23 \\ \hline 2,466 \end{array} \Downarrow 2,47$$

IL 5 SI ARROTONDA AL NUMERO PARI PIU' VICINO

ERRORI

⇒ ERRORE SISTEMATICO O DETERMINATO:

PUO' ESSERE IDENTIFICATO E CORRETTO, AD ESEMPIO pH METRO TARATO CON UN TAMPONE DIVERSO DA QUELLO VOLUTO. LO STRUMENTO FUNZIONA BENE MA LE MISURE SONO ERRATE NELLA STESSA DIREZIONE (POSITIVO O NEGATIVO)

⇒ ERRORE CASUALE O INDETERMINATO:

LIMITE STRUMENTALE O FISICO DELL'OPERATORE NON E' ELIMINABILE VARIA FRA VALORI POSITIVI E NEGATIVI. ES. RUMORE ELETTRICO ERRORE DI LETTURA (PARALLASSE)

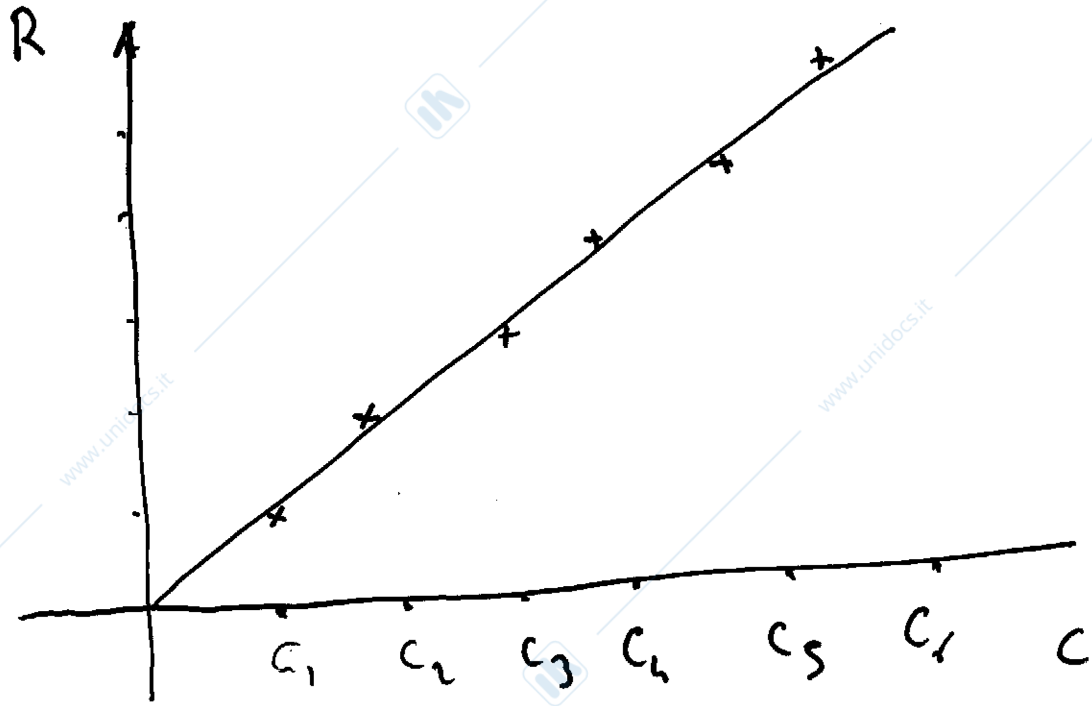
E' UN ERRORE DI TIPO STATISTICO

OTTENIMENTO DEL RISULTATO ANALITICO

1) LETTURA DIRETTA DI UNA GRANDEZZA DIRETTAMENTE PROPORZIONALE ALLA CONCENTRAZIONE: BURETTA

2) OTTENIMENTO DI UNA RISPOSTA ANALOGICA O DIGITALE CHE DEVE ESSERE CORRELATA ALLA CONCENTRAZIONE (ANALISI STRUMENTALE

RETTA DI CALIBRAZIONE



R = RISPOSTA STRUMENTALE: ASSORBANZA

INTENSITÀ DI CORRENTE, CONDUCIBILITÀ ELETTRICA, AREA PICCO CROMATOGRAFICO

POTENZIALE ELETTRICO

RETTA DI CALIBRAZIONE: SI ESEGUONO MISURE ANALIZZANDO SOLUZIONI STANDARD A CONCENTRAZIONE $C_1, C_2 \dots C_n$ ($n \simeq 5$)

(IN MODO DA COPRIRE UNA DECADE $\frac{C_n}{C_1} \simeq 10$

SI COSTRUISCE UN TABELLA

X CONCENTRAZIONE	Y RISPOSTA
C_1	R_1
C_2	R_2
⋮	⋮
C_n	R_n

E SI RIPORTANO IN GRAFICO GLI n PUNTI

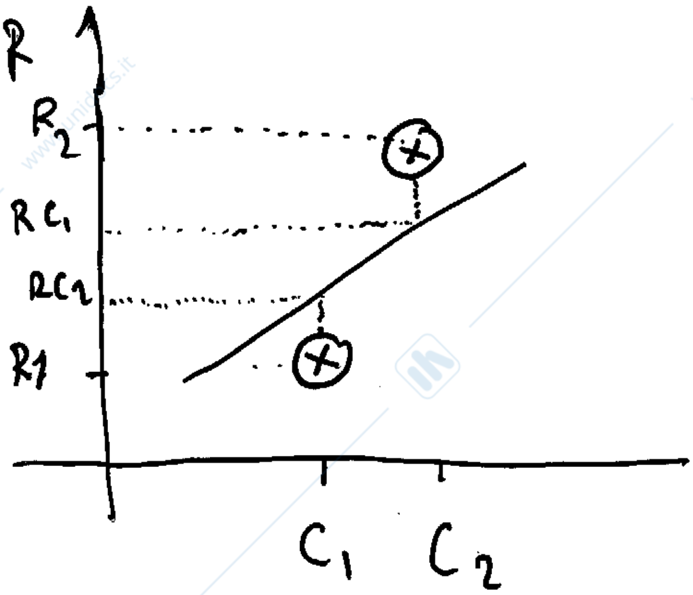
RICERCA DELLA RETTA MIGLIORE

(MANUALMENTE)

METODO DEI MINIMI QUADRATI

$$y = mx + b$$

m = PENDENZA b = INTERCETTA



NEL CALCOLO DEI MINIMI QUADRATI SI CONSIDERANO ESATTI I VALORI DI CONCENTRAZIONE E SI ESEGUE LO STUDIO DI UNA FUNZIONE MATEMATICA CHE ESPRIME LA SOMMA DEGLI SCARTI QUADRATICI MEDI FRA LE Y SPERIMENTALI E QUELLE CALCOLATE

GLI SCARTI QUADRATICI IMPEDISCONO CHE VALORI POSITIVI E NEGATIVI SI ANNULLINO

SI POSSONO CALCOLARE, TROVANDO LE CONDIZIONI DI MINIMO DELLA FUNZIONE I PARAMETRI DELLA RETTA

$$y = mx + b$$

COME ESPRESSIONI ABBASTANZA COMPLESSE

$$m = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n \sum (x_i)^2 - \left(\sum x_i\right)^2}$$

$$b = \frac{\sum (x_i)^2 \sum y_i - \sum x_i y_i \sum x_i}{n \sum (x_i)^2 - \left(\sum x_i\right)^2}$$

CHE POSSONO ESSERE TUTTAVIA CALCOLATE CON UNA SEMPLICE CALCOLATRICE SCIENTIFICA O CON UN COMPUTER

SOSTITUENDO ALLA Y LA RISPOSTA OTTENUTA CON UN CAMPIONE DA ANALIZZARE SI PUÒ CALCOLARE LA SUA CONCENTRAZIONE X DALL'EQUAZIONE DELLA RETTA

METODO DELLO STANDARD INTERNO

MOLTO UTILIZZATO IN CROMATOGRAFIA (GAS E LIQUIDA)

A TUTTI I CAMPIONI E A TUTTE LE SOLUZIONI STANDARD VIENE AGGIUNTA UNA CONCENTRAZIONE NOTA COSTANTE DI UNA SOSTANZA NOTA CHE DA UNA BUONA RISPOSTA E NON INTERFERISCE

TUTTE LE RISPOSTE SONO TRASFORMATE IN MISURE RELATIVE (DIVISE PER LA RISPOSTA DELLO STANDARD INTERNO) E CON ESSE PUÓ ESSERE FATTA LA RETTA DEI MINIMI QUADRATI.

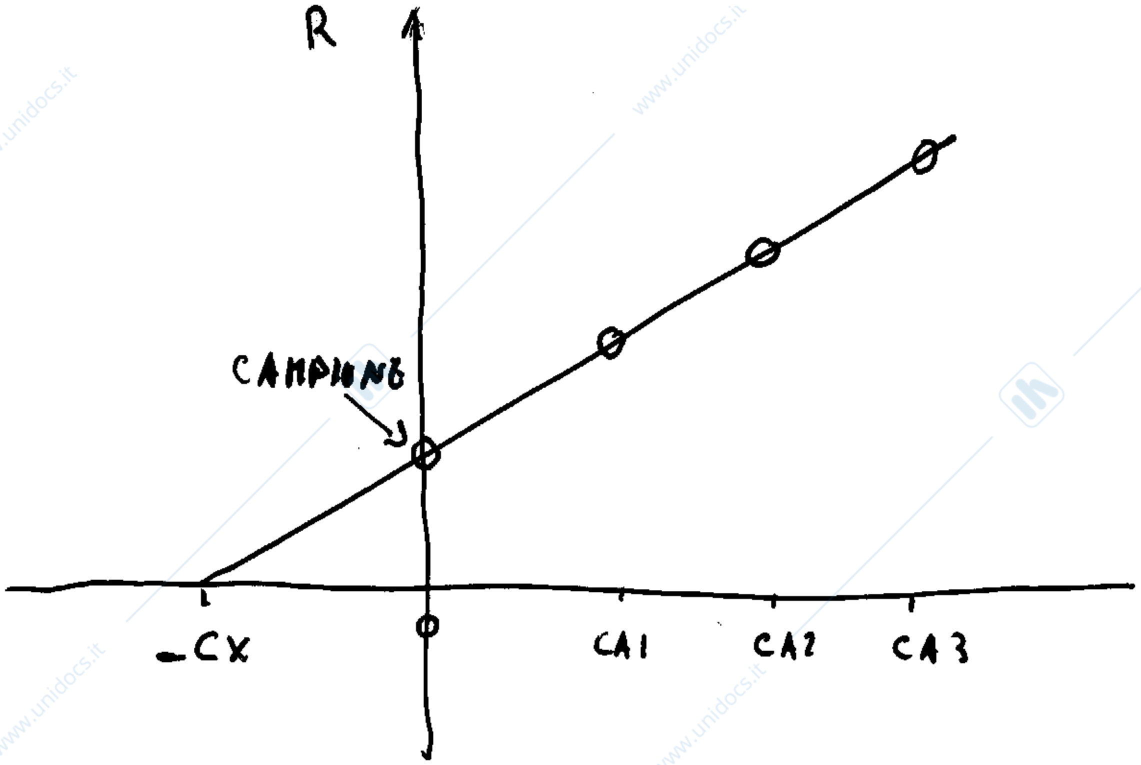
METODO DELLE AGGIUNTE STANDARD

SI MISURA LA RISPOSTA DI UN CAMPIONE PRIMA E DOPO L'AGGIUNTA DI QUANTITA' NOTE DI ANALITA (2 o 3 AGGIUNTE FINO A TRIPLICARE LA RISPOSTA

LE LETTURE ESEGUITE VENGONO RIPORTATE IN GRAFICO IN FUNZIONE (VARIABILE X) DELLA CONCENTRAZIONE AGGIUNTA

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari



SI CALCOLA LA RETTA DEI MINIMI QUADRATI E SOSTITUENDO Ø A Y SI CALCOLA IL VALORE (NEGATIVO) DI X CORRISPONDENTE ALLA CONCENTRAZIONE DEL CAMPIONE INCOGNITO.

CENNI DI STATISTICA

POICHÈ TUTTE LE MISURE CONTENGONO UN ERRORE SPERIMENTALE NON E' MAI POSSIBILE AVERE LA CERTEZZA ASSOLUTA CHE UN RISULTATO SIA ESATTO

LA STATISTICA SERVE AD INTERPRETARE LE VARIAZIONI DEI DATI SPERIMENTALI ED A CAPIRE QUALE' LA PROBABILITA' CHE UN RISULTATO ANALITICO SIA VALIDO

PER UNA SERIE DI DATI SPERIMENTALI RIPETUTI (DI QUALUNQUE TIPO: ESEMPIO CLASSICO DURATA DELLA VITA DELLE LAMPADINE, MA POTREBBE ESSERE LA RIPETIZIONE DELLA TITOLAZIONE DI UN ACIDO DEBOLE)

I RISULTATI RIPORTATE NEL GRAFICO A BARRE ASSUMONO, PER UN NUMERO ELEVATO DI RIPETIZIONI, L'ANDAMENTO DELLA CLASSICA <u>CURVA A CAMPANA</u>

DETTA <u>CURVA GAUSSIANA</u> O

<u>CURVA NORMALE DELL'ERRORE</u>

IZD

FIGURA 2.2
Grafico dei risultati di una serie di 40 esperimenti classificati per gruppi di valori adiacenti.
(*a*) La base di ogni barra dell'istogramma rappresenta un intervallo di 2 ppm, mentre l'altezza è il numero di risultati che si presentano in ciascun intervallo. Sull'asse *y* sono riportate due scale: quella della frequenza o numero di volte con cui si presenta un evento, e quella della frequenza relativa. Il valore medio è 100 ppm e i tre grafici, come riportato su di essi, descrivono la situazione dopo 5, 10, e 40 esperimenti.
(*b*) Per un numero «molto grande» di misurazioni, la distribuzione dei risultati tende ad avvicinarsi a quella di una curva gaussiana, caratterizzata da una deviazione standard σ e da un massimo in corrispondenza del valore medio. Quando si **normalizza** la gaussiana in modo che l'area sotto la curva sia unitaria, l'altezza del massimo diventa 0,399. Il valore dell'ordinata diventa 0,242 in corrispondenza di 1σ, 0,054 in corrispondenza di 2σ, e 0,004 4 per 3σ. Dopo aver costruito la gaussiana con un numero alto di risultati ottenuti da misurazioni ripetute, per quelle successive, relative allo stesso misurando nello stesso sistema, ci si aspetta questo comportamento:

- il 68,3% dei risultati cadrà entro $\pm1\sigma$ dal valore medio e
- il 95,4% dei risultati cadrà entro $\pm2\sigma$

Questi valori di percentuale corrispondono alle aree sotto la curva gaussiana normalizzata, delimitate da valori positivi e negativi di σ.

(*a*)

(*b*)

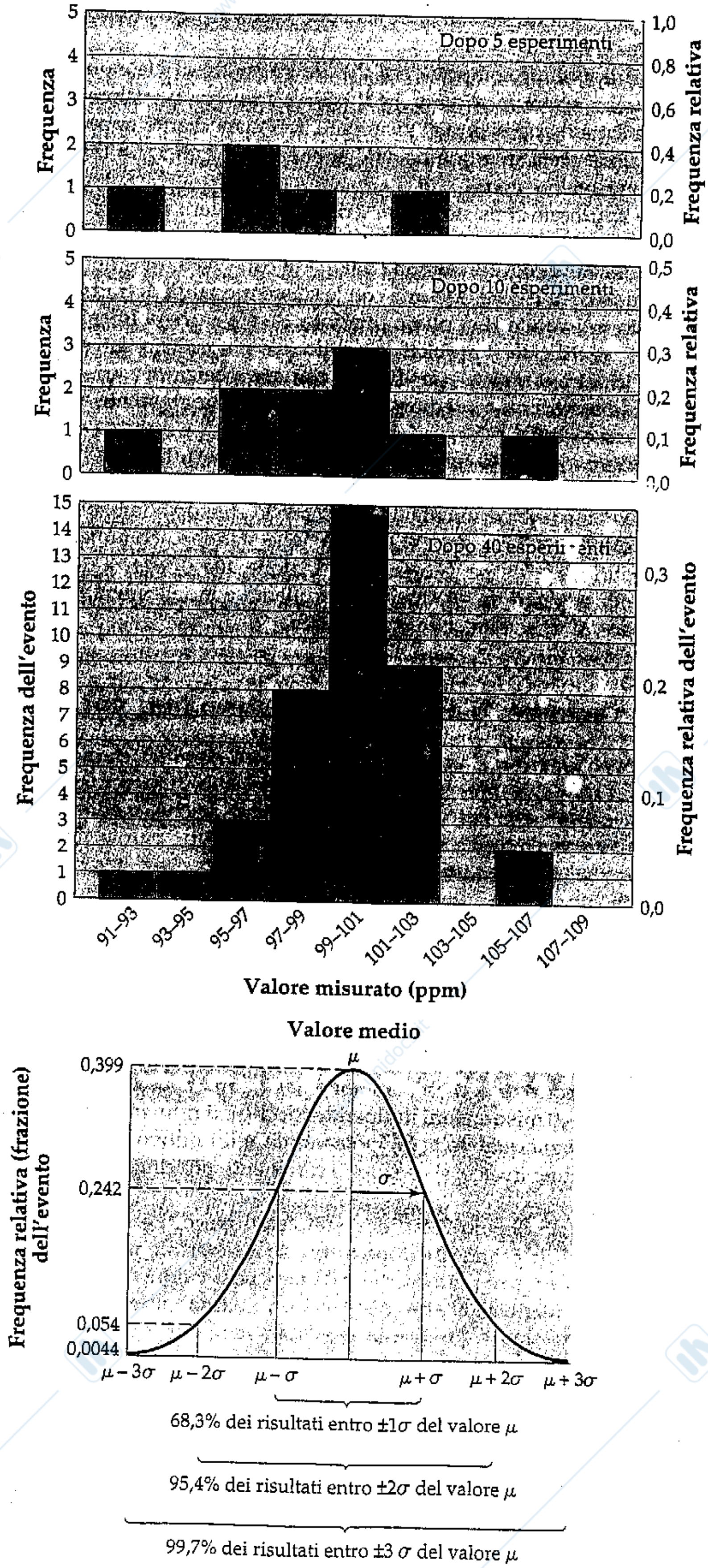
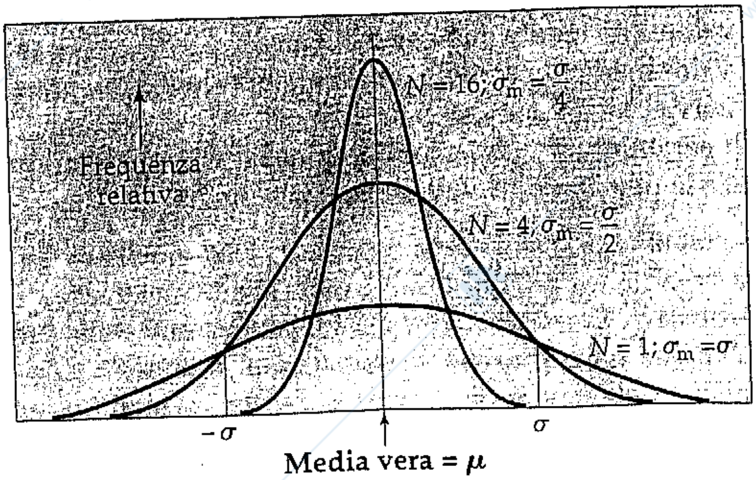


FIGURA 2.3
Variazione della deviazione standard della media, σ_m, in funzione del numero di misurazioni *N*.
Ogni esperimento ha un errore casuale pari a σ. Il valore di σ_m diminuisce con l'aumentare del numero di misurazioni, ma soltanto seguendo la radice quadrata di *N*. La ragione per cui σ_m può essere minore di σ, è che la media dei singoli errori tende ad avvicinarsi a zero al crescere del numero di esperimenti eseguiti.



PER UNA SERIE DI MISURE RIPETUTE n VOLTE SI DEFINISCONO:

$$\text{MEDIA} = \bar{X} = \frac{\sum x_i}{n}$$

DEVIAZIONE STANDARD (SD)

$$S = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

$$\text{VARIANZA} = S^2$$

$$\text{DEVIAZIONE STANDARD RELATIVA (RSD)} = \frac{S}{\bar{X}}$$

DEVIAZIONE STANDARD RELATIVA PERCENTUALE $\text{RSD}\% = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100$

PER UNA SERIE DI MISURE

VALORE MEDIO μ e DEVIAZIONE STANDARD σ

DALLO STUDIO DELLA CURVA GAUSSIANA

SI DIMOSTRA CHE

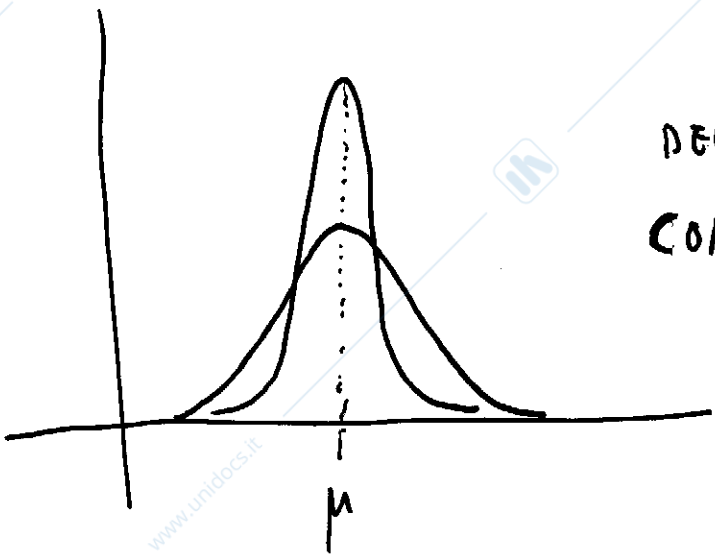
IL 68,3% DEI RISULTATI E' COMPRESO FRA $\mu \pm \sigma$

IL 95,4% " " " " " $\mu \pm 2\sigma$

IL 99.7% " " " " " $\mu \pm 3\sigma$

LA DEVIAZIONE STANDARD ESPRIME

LO <u>SPARPAGLIAMENTO</u> DEI RISULTATI



DUE SERIE DI MISURE DELLO STESSO PARAMETRO CON σ IN UN CASO DOPPIA RISPETTO ALL'ALTRO

14 D a

EXERCISES

1. A standard sample of pooled human blood serum contains 42.0 g of albumin per litre. Five laboratorie (A–E) each do six determinations (on the same day) of the albumin concentration, with the followin results (g/l. throughout):

A	42.5	41.6	42.1	41.9	41.1	42.2
B	39.8	43.6	42.1	40.1	43.9	41.9
C	43.5	42.8	43.8	43.1	42.7	43.3
D	35.0	43.0	37.1	40.5	36.8	42.2
E	42.2	41.6	42.0	41.8	42.6	39.0

Comment on the accuracy and precision of each of these sets of results.

Table 2.1 — Calculation of mean and standard deviation of A's results

	x_i(ml)	$(x_i - \bar{x})^2$
	10.08	0.0004
	10.11	0.0001
	10.09	0.0001
	10.10	0.0000
	10.12	0.0004
Total	50.50	0.0010

$\bar{x} = 50.50/5 = 10.10$ ml
$s = \sqrt{0.0010/4} = 0.016$ ml

be worked out mentally. This is not usually so and an alternative form of Eq. (2.2) can be used to simplify the arithmetic if a preprogrammed calculator is not available:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{(n-1)} - \frac{(\sum_i x_i)^2}{n(n-1)}} \qquad (2.3)$$

14 D b

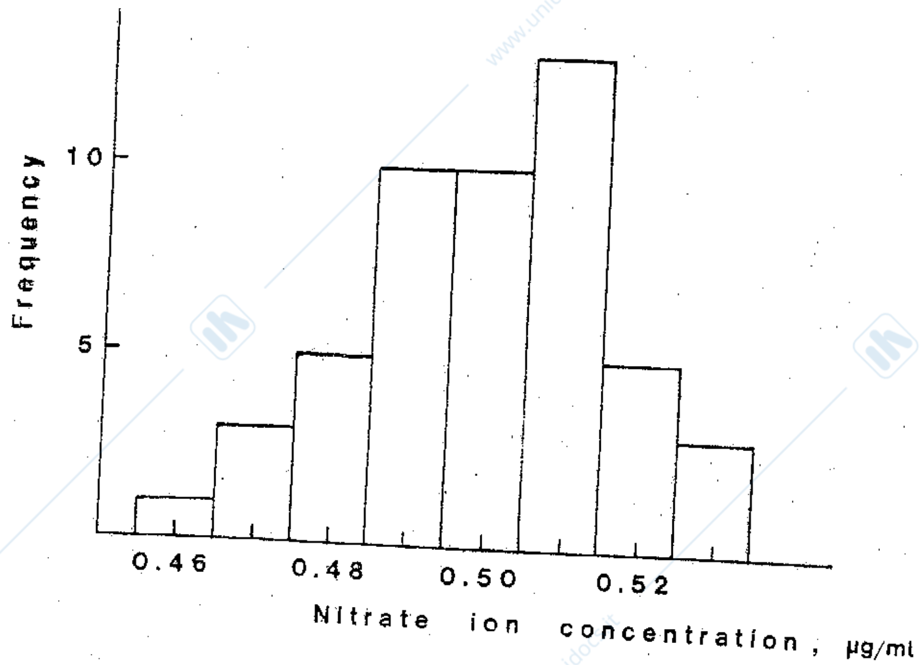


Fig. 2.1 — Histogram of the nitrate ion concentration data in Table 2.3.

2.2 DISTRIBUTION OF ERRORS

Although the standard deviation gives a measure of the spread of a set of results about the mean value, it does not indicate the way in which the results are distributed. To illustrate this we need a large number of measurements such as those in Table 2.2. This gives the results of 50 replicate determinations of the nitrate ion

Table 2.2 — Results of 50 determinations of nitrate ion concentration, in μg/ml

0.51	0.51	0.51	0.50	0.51	0.49	0.52	0.53	0.50	0.47
0.51	0.52	0.53	0.48	0.49	0.50	0.52	0.49	0.49	0.50
0.49	0.48	0.46	0.49	0.49	0.48	0.49	0.49	0.51	0.47
0.51	0.51	0.51	0.48	0.50	0.47	0.50	0.51	0.49	0.48
0.51	0.50	0.50	0.53	0.52	0.52	0.50	0.50	0.51	0.51

concentration in a particular water specimen, given to two significant figures. These can be summarized in a **frequency table** (Table 2.3). This table thus indicates that, in

Table 2.3 — Frequency table for measurements of nitrate ion concentration

Nitrate ion concentration (μg/ml)	Frequency
0.46	1
0.47	3
0.48	5
0.49	10
0.50	10
0.51	13
0.52	5
0.53	3

14 Dc

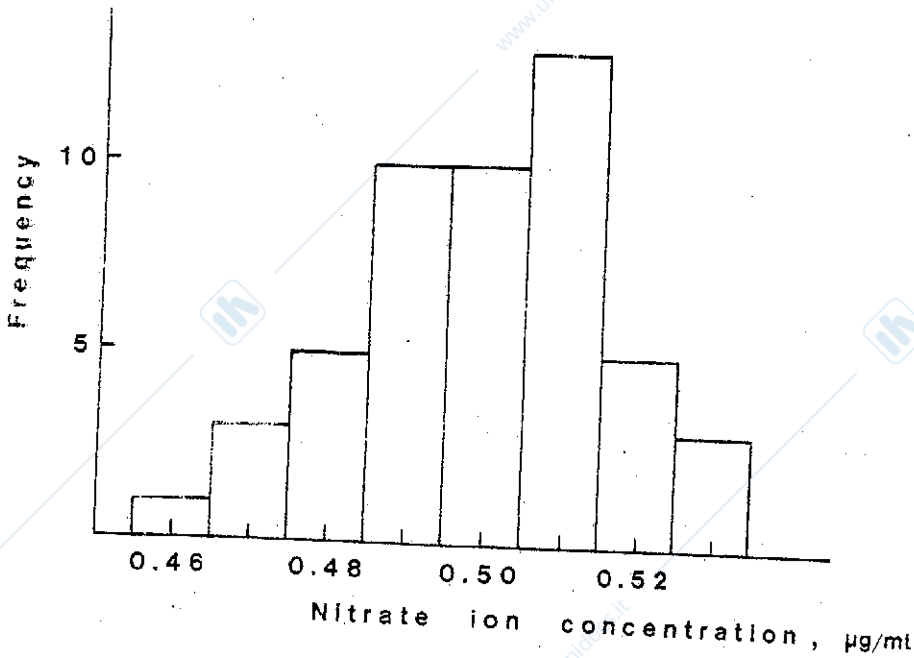


Fig. 2.1 — Histogram of the nitrate ion concentration data in Table 2.3.

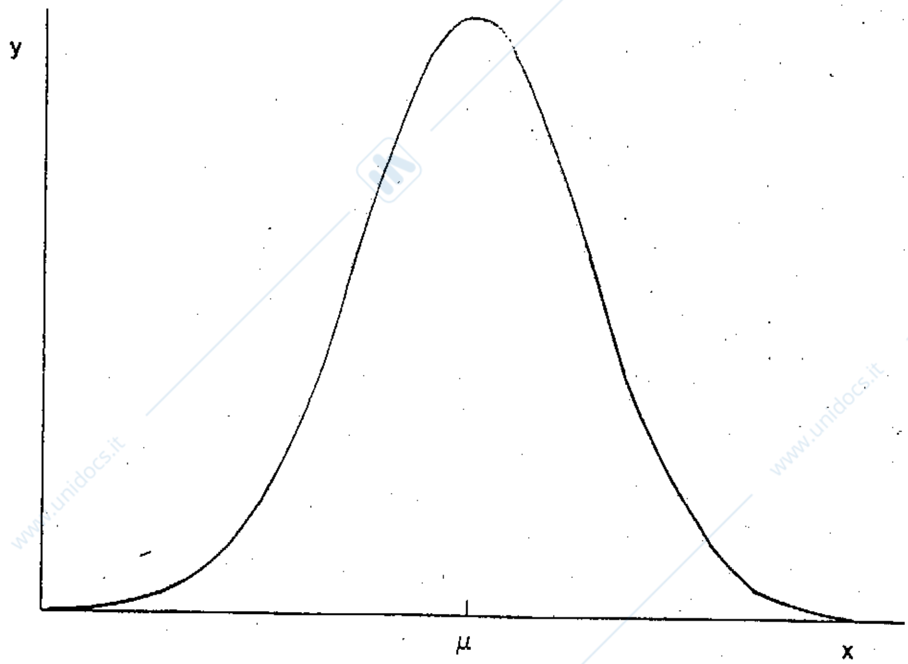


Fig. 2.2 — The mormal distribution, $y = \exp[-(x-\mu)^2/2\sigma^2]/\sigma\sqrt{2\pi}$. The mean is indicated by μ.

14Dd

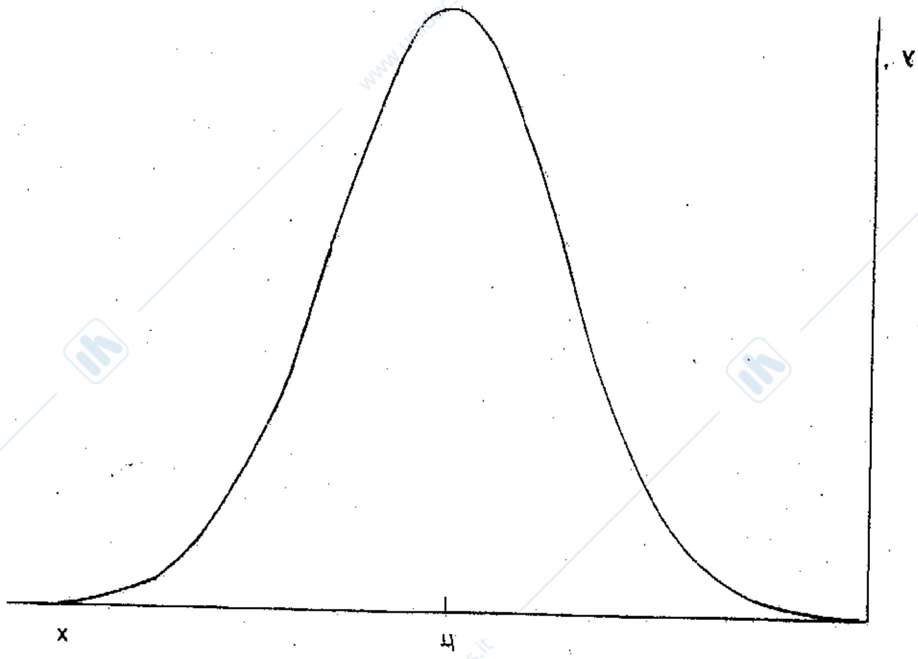


Fig. 2.2 — The normal distribution, $y = \exp[-(x-\mu)^2/2\sigma^2]/\sigma\sqrt{2\pi}$. The mean is indicated by μ.

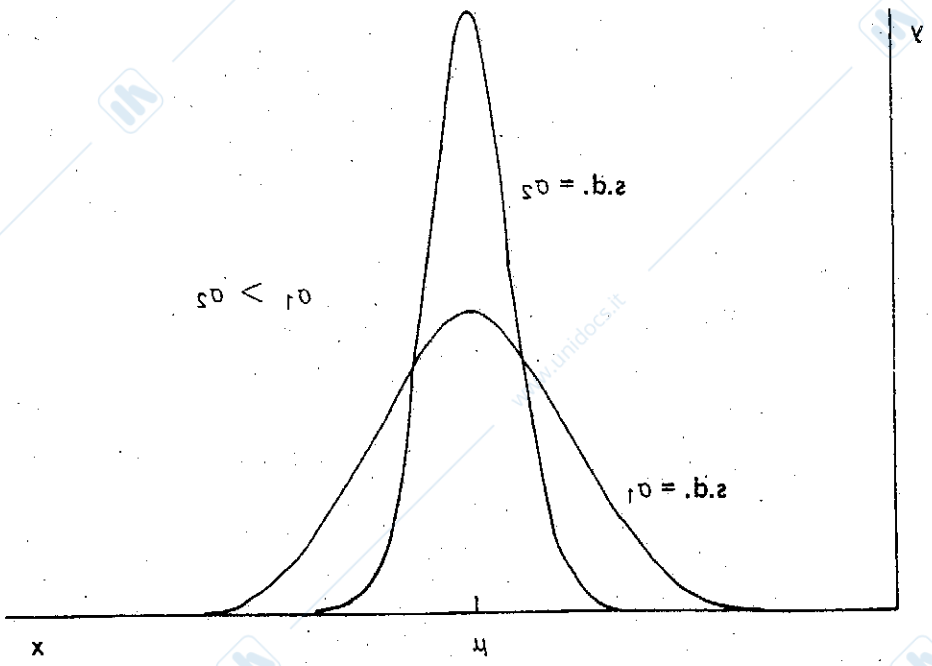


Fig. 2.3 — Normal distributions with the same mean but different values of the standard deviation.

14 De

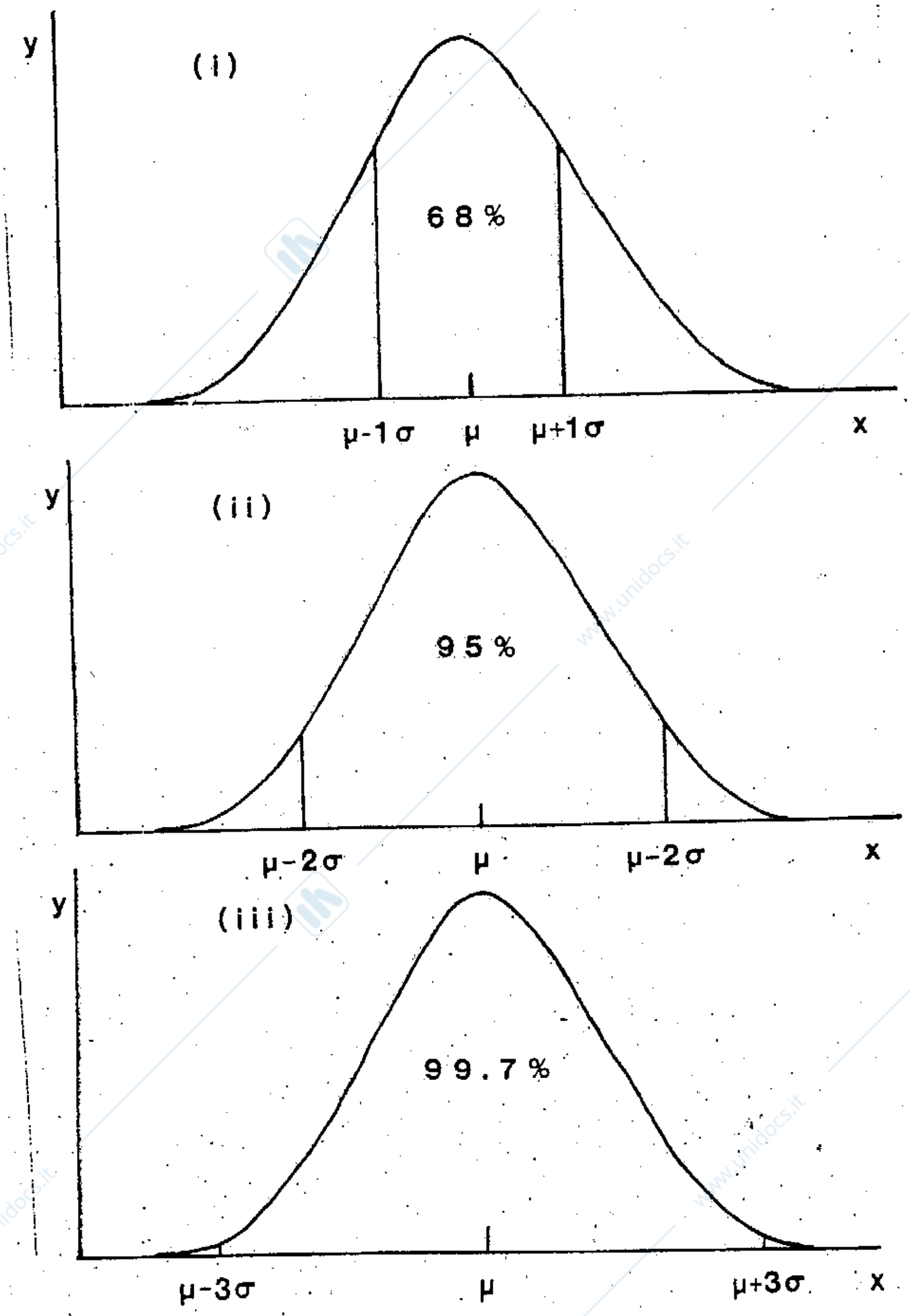


Fig. 2.4 — Properties of the normal distribution: (i) approximately 68% of values lie within $\pm 1\sigma$ of the mean; (ii) approximately 95% of values lie within $\pm 2\sigma$ of the mean; (iii) approximately 99.7% of values lie within $\pm 3\sigma$ of the mean.

CONVALIDA DI UN METODO ANALITICO IN TERMINI DI EFFICIENZA VALUTABILE CON I SEGUENTI PARAMETRI:

SPECIFICITA: CAPACITA' INEQUIVOCABILE DI RILEVARE L'ANALITA IN PRESENZA DI IMPUREZZE, PRODOTTI DI DEGRADAZIONE, ALTRI COMPONENTI (ECCIPIENTI IN UNA FORMULAZIONE FARMACEUTICA) ECC.
VIENE VERIFICATA SPERIMENTALMENTE CONFRONTANDO DATI OTTENUTI CON CAMPIONI A CONTENUTO NOTO DEI VARI COMPONENTI

LINEARITA': VERIFICA DELLA PROPORZIONALITA' CON LA CONCENTRAZIONE ALLO INTERNO DI UN CERTO INTERVALLO (RANGE) ATTRAVERSO UNA REGRESSIONE LINEARE E CALCOLO DEL PARAMETRO r COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE O REGRESSIONE

$$r^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - x)^2 \sum (y_i - \bar{y})}}$$

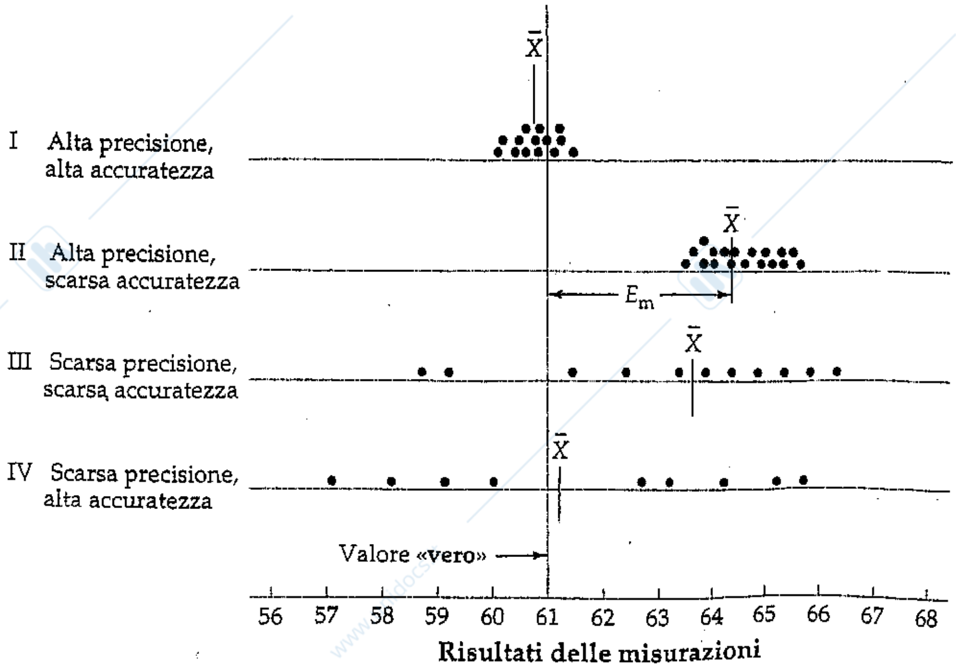


FIGURA 2.1
Illustrazione del concetto di accuratezza e precisione.
Quattro grafici con i valori dei risultati di quattro serie di determinazioni. I punti indicano i valori ottenuti nei singoli esperimenti. Si assume che il «valore vero» sia noto e pari a 61.

$\bar{X}$ è il valore medio di ognuna delle quattro serie di esperimenti I-IV.

E_m rappresenta l'errore medio.

L'errore medio relativo è $E_m/\bar{X}$ oppure, espresso come percentuale, $(E_m/\bar{X}) \times 100$.

ACCURATEZZA: CAPACITA' DEL METODO DI FORNIRE RISULTATI PROSSIMI AL VALORE ATTESO ("VERO"). VALUTABILE ANALIZZANDO CAMPIONI A CONTENUTO CONOSCIUTO IN TERMINI DI RECUPERO PERCENTUALE

PRECISIONE: ESPRIME LA VARIABILITA' DEI RISULTATI DELLE MISURE FATTE SU UN CAMPIONE OMOGENEO COME DEVIAZIONE STANDARD RELATIVA

VALUTABILE IN TERMINI DI

* RIPETIBILITA' INTRA LABORATORIO STESSE CONDIZIONI OPERATIVE

* PRECISIONE INTERMEDIA: INTRA LABORATORIO, GIORNI, ANALISTI, STRUMENTI DIVERSI.

* RIPRODUCIBILITÀ: INTRA E INTER LABORATORIO

ROBUSTEZZA: CAPACITÀ DEL METODO DI NON ESSERE INFLUENZATO SIGNIFICATIVAMENTE IN TERMINI DI RISULTATI FINALI DA PICCOLE E DELIBERATE VARIAZIONI DI ALCUNI DEI SUOI PARAMETRI OPERATIVI (pH, TEMPERATURA, TEMPO ECC) VERIFICATA SPERIMENTALMENTE

LIMITE DI QUANTIFICAZIONE LOQ O MLQ

CONCENTRAZIONE MINIMA DI ANALITA QUANTIFICABILE IN UN CAMPIONE CON PRECISIONE ED ACCURATEZZA APPROPRIATE

LIMITE DI RIVELAZIONE (LOD O MLR): ESPRIME IL PIÙ BASSO CONTENUTO DI ANALITA CHE PUÒ ESSERE RILEVATO MA NON QUANTIFICATO (TIPO INFERIORE A

$$LOQ = \frac{10 \cdot S_i}{m}$$

$$LOD = \frac{3.3 \cdot S_i}{m}$$

DOVE

S_i = ERRORE MEDIO STANDARD DELLA INTERCETTA OTTENUTO NELLA VERIFICA DI LINEARITA'

$$= SEE \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \cdot \left(\frac{\bar{x}}{\Sigma (x_i - \bar{x})^2}\right)^2}$$

SEE = STANDARD ERROR OF ESTIMATES

$$= \sqrt{\frac{\Sigma (y_i - \bar{y})^2}{n-2}}$$

x_i = CONCENTRAZIONE CAMPIONE i ESIMO

y_i = RISPOSTA STRUMENTALE " "

$\bar{x}$ = MEDIA DEI VALORI DI X PER N CAMPIONI

$\bar{y}$ = " " " " Y " " "

n = NUMERO CAMPIONI

m = PENDENZA MEDIA OTTENUTA NELLA VERIFICA DELLA LINEARITA'.