



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ
Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

Έλεγχος και Διασφάλιση Ποιότητας

Ενότητα 6: Εξοπλισμός - Έλεγχοι

Κουμπάρης Μιχαήλ

Τμήμα Χημείας

Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας

ΠΕΧΑΜΕΤΡΑ (1)

$$\text{pH} = \text{pH}_s - [(E - E_s) / k]$$

k : κλίση του ηλεκτροδίου, επηρεαζόμενη από τη θερμοκρασία (59,2 mV στους 25 °C)

Ελάχιστη αναγνωσιμότητα / ευαισθησία:

0,05 μονάδες pH ή 3 mV

Βαθμονόμηση:

Πρότυπο ρυθμιστικό ΚΗΡ (4,01 στους 25 °C) και ένα δεύτερο ώστε να περικλείονται οι αναμενόμενες τιμές



ΠΕΧΑΜΕΤΡΑ (2)

Έλεγχος καταλληλότητας συστήματος:

Ένα τρίτο ρυθμιστικό διάλυμα εντός της περιοχής βαθμονόμησης παρέχει τιμή εντός $\pm 0,05$ της τιμής αναφοράς.

Έλεγχος συχνός όταν χρησιμοποιείται, διαφορετικά πριν από τη χρήση.

Έλεγχοι καταλληλότητας:

Ολίσθηση (drift) και κλίση (mV/pH-μονάδα ή % Nerstian κλίση).

Τίθενται όρια ανοχής.



ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ UV-Vis (1)

$$A = \alpha b C_{g/L} = \varepsilon b C_{mol/L}$$

$$A = A_{cm}^{1\%} b C_{g/100 mL}$$

Μετρήσεις σε θερμοκρασία: 20 ± 1 °C

Απορρόφηση διαλύτη: $< 0,4$ κατά προτίμηση $< 0,2$

Ανοχή μήκους κύματος: ± 2 nm



ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ UV-Vis (2)

Έλεγχος καταλληλότητας:

α) **Κλίμακα μήκους κύματος** (μέγιστα διαλύματος υπερχλωρικού ολμίου, γραμμή λυχνίας εκκενώσεως υδρογόνου ή δευτερίου ή γραμμές λυχνίας ατμών υδραργύρου (πίνακας Φαρμακοποιίας).

Ανοχή ± 1 nm για περιοχή UV και ± 3 nm για περιοχή ορατού.

β) **Απορρόφηση**: Χρήση φίλτρων ή διαλύματος διχρωμικού καλίου σε θειικό οξύ (έλεγχος ειδικής απορρόφησης σε διάφορα μήκη κύματος 235, 257, 313, 350 nm).

Ανοχή για απορρόφηση $\pm 0,01$ (πίνακας Φαρμακοποιίας).



ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ UV-Vis (3)

γ) **Όριο παράσιτης ακτινοβολίας (stray light)**: Χρήση φίλτρων ή διαλυμάτων σε διάφορα μήκη κύματος. Απορρόφηση διαλύματος KCl 12 g/L σε κυψελίδα 1 cm αυξάνει απότομα μεταξύ 220 και 200 nm και είναι μεγαλύτερη του 2 στην περιοχή 198 – 202 nm ως προς νερό.

δ) **Διαχωριστικότητα** (για ποιοτική ανάλυση): Λαμβάνεται το φάσμα 0,02 % (V/V) τολουολίου σε εξάνιο.

Ο ελάχιστος λόγος απορρόφησης στο μέγιστο 269 nm προς αυτή στο ελάχιστο 266 nm αναφέρεται στη μονογραφία.



ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟ UV-Vis (4)

Επιλογή εύρους σχισμής (slit-width) (για ποσοτική ανάλυση):
Επιλέγεται έτσι, ώστε περαιτέρω μείωση να μην προκαλεί αλλαγή στην απορρόφηση.

Κυψελίδες: Ανοχή $\pm 0,005$ cm. Πληρωμένες με τον ίδιο διαλύτη πρέπει να παρέχουν την ίδια διαπερατότητα, διαφορετικά γίνεται διόρθωση.

Μεθοδολογίες ποσοτικοποίησης: καμπύλης αναφοράς, ενός προτύπου, χωρίς πρότυπο από ειδική απορρόφηση.



ΜΕΓΙΣΤΑ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ΓΙΑ ΕΛΕΓΧΟ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΜΗΚΟΥΣ ΚΥΜΑΤΟΣ

241.15 nm (H α)	404.66 nm (Hg)
253.7 nm (Hg)	435.83 nm (Hg)
287.15 nm (H α)	486.0 nm (D β)
302.25 nm (Hg)	486.1 nm (H β)
313.16 nm (Hg)	536.3 nm (H α)
334.15 nm (Hg)	546.07 nm (Hg)
361.5 nm (H α)	576.96 nm (H α)
365.48 nm (Hg)	579.07 nm (Hg)

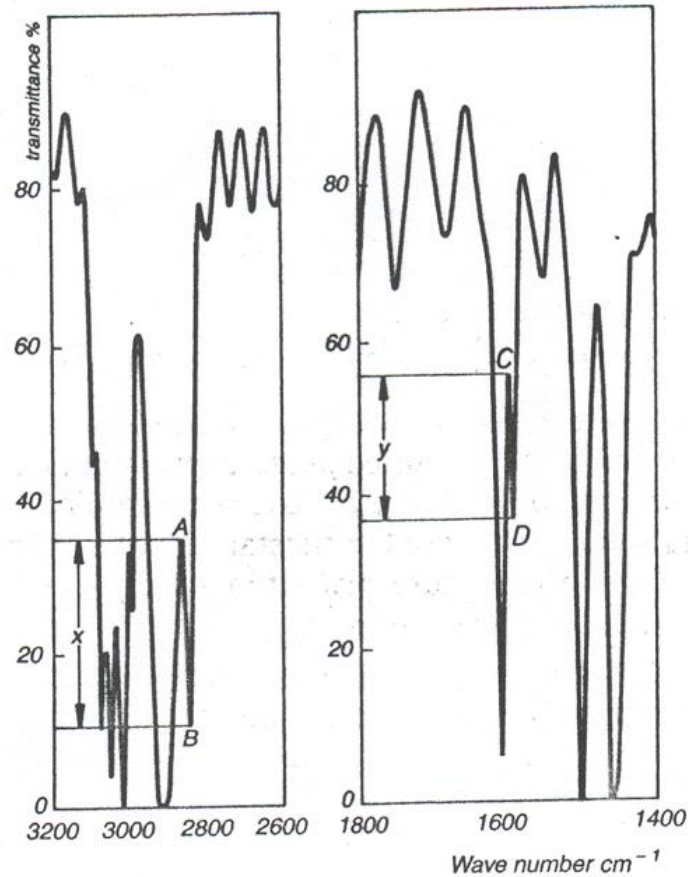


ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΕΩΣ ΜΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΧΡΩΜΙΚΟΥ ΚΑΛΙΟΥ

Wavelength (nm)	Specific absorbance $A_{1\text{ cm}}^{1\text{ per cent}}$	Maximum tolerance
235	124.5	122.9 to 126.2
257	144.5	142.8 to 146.2
313	48.6	47.0 to 50.3
350	107.3	105.6 to 109.0



ΤΥΠΙΚΟ ΦΑΣΜΑ ΠΟΛΥΣΤΥΡΕΝΙΟΥ ΓΙΑ ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΔΙΑΧΩΡΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΟΥ ΥΠΕΡΥΘΡΟΥ



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (1)

$$\text{Peak Area} = k C$$

Στήλες διοξειδίου πυριτίου (γενικά) σταθερές σε pH 2-8.

Στήλες πορώδους γραφίτη ή πολυμερικές σταθερές σε ευρύτερη περιοχή pH.

Θερμοκρασία κινητής φάσης και στήλης σταθερή κατά την ανάλυση (έλεγχος θερμοκρασίας εργαστηρίου και φούρνος στηλών).

Διαλύτες και λοιπά αντιδραστήρια καθαρότητας HPLC.

Ρύθμιση pH μόνο στην υδατική φάση και όχι στο μείγμα της κινητής φάσης.



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (2)

Έλεγχος καταλληλότητας συστήματος:

α) Παράγοντας συμμετρίας (symmetry factor ή tailing factor)

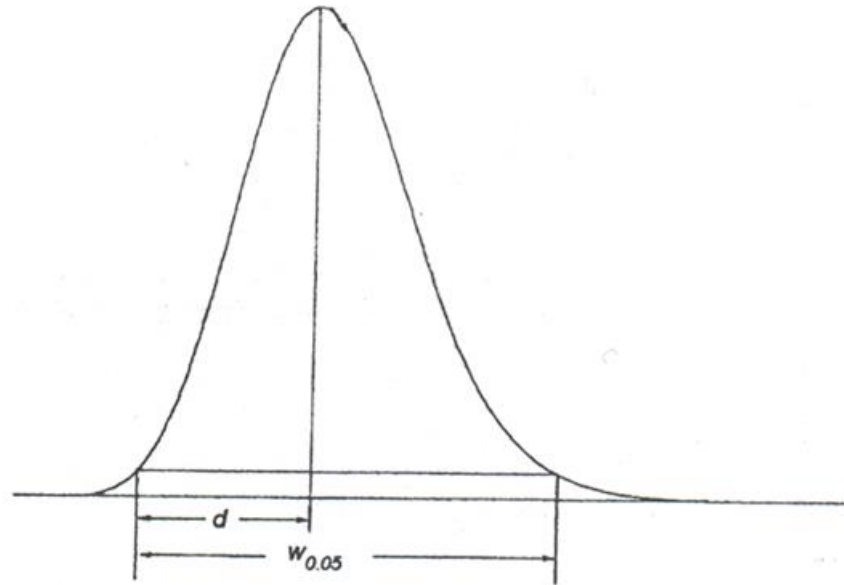
$$A_s = w_{0,05} / 2d$$

w= εύρος κορυφής στο 1/20 ύψους, d = απόσταση κατακόρυφου από κορυφή και την ανιούσα πλευρά στο 1/20 του ύψους.

Ιδανική τιμή 1, ανεκτή 0,8-1,5, εκτός εάν δηλώνεται διαφορετικά.



ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ ΣΥΜΜΕΤΡΙΑΣ SYMMETRY FACTOR (TAILING FACTOR)



$$A_s = w_{0,05}/2d$$

$W_{0,05}$ = εύρος κορυφής στο 1/20 (5%) του ύψους κορυφής

d = απόσταση κατακόρυφου από το μέγιστο της κορυφής και την ανιούσα πλευρά



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (3)

B) Απόδοση στήλης (column performance) και φαινόμενος αριθμός πλακών (ισοκρατική έκλυση):

$$N = 5,54 (t_R / w_h)^2$$

t_R = χρόνος ανάσχεσης, w_h = ημιεύρος ($w_{0,5}$)

Ο αριθμός πλακών ποικίλλει με το συστατικό, τη στήλη και το χρόνο ανάσχεσης.



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (4)

Γ) Διαχωριστικότητα (Resolution, R_s)

$$R_s = [1,18 (t_{R2} - t_{R1}) / (w_{h1} + w_{h2})]$$

$R_s > 1,5$ αντιστοιχεί σε διαχωρισμό στη γραμμή βάσης
(baseline separation)



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (5)

Δ) Λόγος κορυφής / κοιλάδας (Peak-to-valley ratio):

χρησιμοποιείται στον έλεγχο συγγενών ουσιών όταν δεν επιτυγχάνεται πλήρης διαχωρισμός.

$$p/v = H_p / H_v$$

H_p = ύψος υπεράνω της προέκτασης της γραμμής βάσης της μικρής κορυφής.

H_v = ύψος υπεράνω της προέκτασης της γραμμής βάσης και του χαμηλότερου σημείου της καμπύλης (κοιλάδας) που χωρίζει τις δύο κορυφές.



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (6)

Ε) Σχετική συγκράτηση (relative retention, r):

$$r = (t_{R2} - t_M) / (t_{R1} - t_M)$$

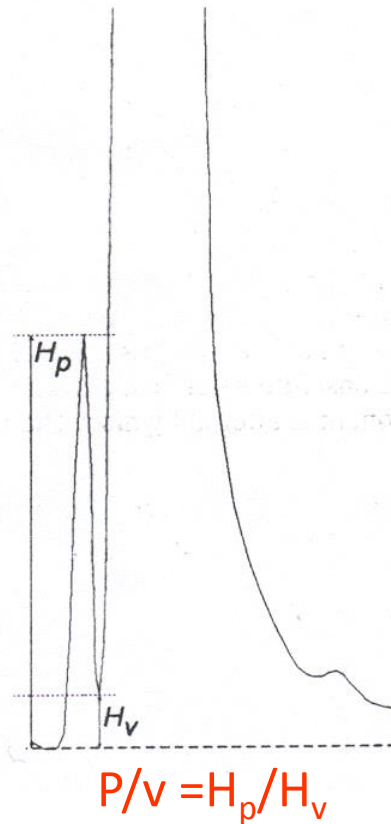
t_M = χρόνος ανάσχεσης μιας μη συγκρατούμενης ουσίας (π.χ. διαλύτης)

Μη ανηγμένη σχετική συγκράτηση $r_G = t_{R2} / t_{R1}$

Οι τιμές δίνονται στη μονογραφία (r_G)



ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ «PEAK TO VALEY RATIO»



H_p = ύψος υπεράνω προέκτασης γραμμής βάσης της μικρής κορυφής

H_v = ύψος υπεράνω προέκτασης γραμμής βάσης του χαμηλότερου σημείου της κοιλάδας που χωρίζει τη μικρή και μεγάλη κορυφή



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (7)

Στ) **Λόγος σήμα / θόρυβο (signal-to-noise ratio)**

$$S/N = 2H/h$$

H = ύψος κορυφής συστατικού, από κορυφή στην προέκταση της γραμμής βάσης.

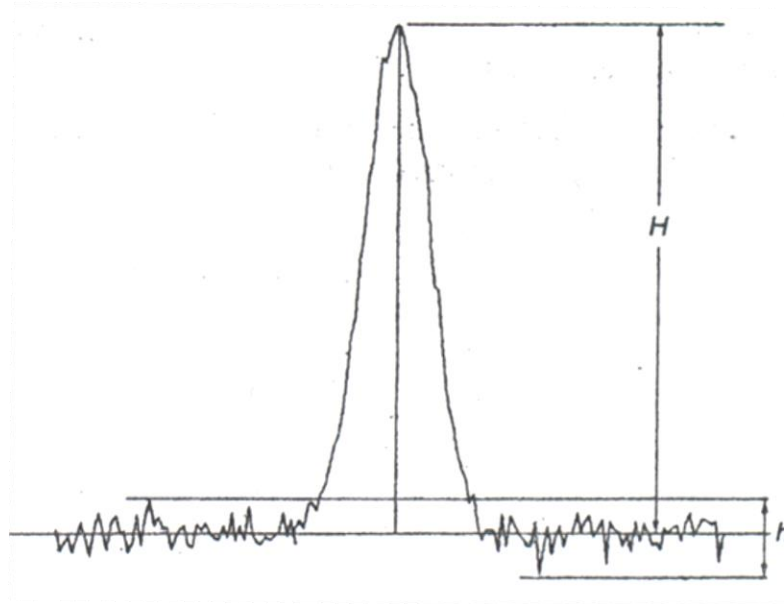
h = εύρος γραμμής βάσης (φάκελος θορύβου) κατά την ένεση λευκού δείγματος, παρατηρούμενη σε απόσταση 20 φορές το ημιεύρος κατανεμημένη ίσα από την κορυφή του συστατικού.

Ζ) **Επαναληψιμότητα:** Διαδοχικές ενέσεις προτύπου διαλύματος και υπολογισμός %RSD.



ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΛΟΓΟΥ «ΣΗΜΑ / ΘΟΡΥΒΟ»

S/N



$$S/N = 2H/h$$

H = ύψος κορυφής, από το μέγιστο στην προέκταση της γραμμής βάσης, παρατηρούμενη σε περιοχή 20πλάσια του ημιέυρους της κορυφής

H = εύρος θορύβου υποβάθρου στο χρωματογράφημα από ένεση λευκού διαλύματος παρατηρούμενη σε περιοχή 20πλάσια του ημιέυρους της κορυφής της ουσίας και εάν είναι δυνατόν εξίσου γύρω από την κορυφή



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (8)

$$RSD_{max} = \frac{KB\sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}}$$

Μέγιστη Επιτρεπόμενη Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD_{max})

υπολογίζεται από τον αριθμό των ενέσεων ($n = 3-6$) και το άνω όριο της περιεκτικότητας μείον 100% (B):

$K =$ σταθερά (0,349)

$t_{90\%, n-1} =$ Student's t για στάθμη 90% (δύο άκρων) και (n-1) βαθμούς ελευθερίας



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (9)

ΕΛΕΓΧΟΣ ΚΑΤΑΛΛΗΛΟΤΗΤΑΣ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

Αναπόσπαστο τμήμα της μεθόδου για τον έλεγχο καταλληλότητας του χρωματογραφικού συστήματος.

- Παράγοντας συμμετρίας (κύριας κορυφής) : 0,8 –1,5 (εκτός εάν δηλώνεται διαφορετικά).
- Μέγιστη επιτρεπτή RSD.

n	3	4	5	6
B%	RSD _{max}			
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,62	0,89	1,1	1,27



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (10)

ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Σύσταση κινητής φάσης: Διαλύτης με μικρότερη συγκέντρωση μπορεί να ρυθμιστεί $\pm 30\%$ (σχετικά) ή $\pm 2\%$ (απόλυτα), όποιο είναι μεγαλύτερο. Κανένα άλλο συστατικό μεταβολή μεγαλύτερη από ± 10 (απόλυτα).

pH υδατικού συστατικού κινητής φάσης: $\pm 0,2$ pH εκτός εάν δηλώνεται διαφορετικά, ή $\pm 1,0$ pH για εξέταση ουδέτερων ουσιών.

Συγκέντρωση αλάτων ρυθμιστικού διαλύματος: $\pm 10 \%$.

Μήκος κύματος ανιχνευτή: καμία ρύθμιση.



ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΙ (LC) (11)

ΡΥΘΜΙΣΕΙΣ ΣΥΝΘΗΚΩΝ

Στατική φάση:

Μήκος στήλης: $\pm 70\%$

Εσωτερική διάμετρος στήλης: $\pm 25\%$

Μέγεθος σωματιδίων: Μείωση μέχρι 50%, όχι αύξηση

Ταχύτητα ροής: $\pm 50\%$

Θερμοκρασία: $\pm 10\%$ μέχρι μέγιστο 60 °C



ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ ΟΓΚΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

VOLUMETRIC TRITRATION	CONTENT LIMITS (PER CENT)	REPEATABILITY (RSD)	RELATIVE ACCURACY (PER CENT)
ACID/BASE	± 1.0	0.33	± 0.67
NON-AQUEOUS	± 1.0	0.33	± 0.67
CONJUGATE ACID OF BASE	± 1.0	0.33	± 0.67
REDOX	± 1.5	0.5	± 1.0
ARGENTOMETRIC	± 1.5	0.5	± 1.0
COMPLEXOMETRIC	± 2.0	0.67	± 1.33



Relative errors for dilution with analytical glassware (pipettes/flasks f)

Concentration ratio	No. of steps	Step 1		Step 2		Relative error
		P	F	P	F	
1/2	1	25	50			0.16
1/2.5	1	20	50			0.18
1/5	1	20	100			0.17
1/10	1	25	250			0.13
1/12.5	1	20	250			0.16
1/30	1	15	500			0.20
1/50	1	20	1000			0.15
1/100	1	25	250	25	250	0.18
1/125	2	20	250	25	250	0.20
1/160	2	25	1000	25	100	0.19
1/200	2	25	500	25	100	0.18
1/250	2	20	250	25	500	0.20
1/400	2	25	250	25	1000	0.18
1/500	2	20	500	25	500	0.20
1/1000	2	20	1000	25	500	0.20

Adapted from R B Lam and T L Isenhour. Minimizing relative error in preparation of standard solutions by judicious choice of volumetric glassware. *Analytical Chemistry*, 1980, **53**, 1158-1161.



Relative Uncertainties in the Preparation of Analytical Solutions

Concentration to be prepared	Preparation of solution	Percentage Relative Uncertainty		
		Mass	Volume	Total
10 g/1000 ml	10g/1000ml	< 0.01	0.05	0.05
	1g/100ml	0.02	0.12	0.12
	0.5g/50ml	0.04	0.17	0.17
	0.25g/25ml	0.08	0.23	0.24
	0.1g/10ml	0.20	0.50	0.54
1g/1000 ml	1g/1000ml	0.02	0.05	0.05
	0.5g/500ml	0.04	0.07	0.08
	0.25g/25ml	0.08	0.23	0.24
	100mg/100ml	0.2	0.12	0.23
	50mg/50ml	0.4	0.17	0.43
	10mg/10ml	2.0	0.50	2.06
0.1 g/1000 ml	100mg/1000ml	0.2	0.05	0.21
	50mg/500ml	0.4	0.07	0.41
	25mg/250ml	0.8	0.08	0.80
	10mg/100ml	2.0	0.12	2.0
	5mg/50ml	4.0	0.17	4.0
	1mg/10ml	20.0	0.50	20.0
0.01 g/1000 ml	10mg/1000ml	2.0	0.05	2.0
	5mg/500ml	4.0	0.07	4.0
	1mg/100ml	20.0	0.12	20.0

An uncertainty of 0.2mg for the weighing procedure has been assumed for the calculations of the percentage relative uncertainties.



Τέλος

Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Σημειώματα

Σημείωμα Ιστορικού Εκδόσεων Έργου

Το παρόν έργο αποτελεί την έκδοση 1.0.

Έχουν προηγηθεί οι κάτωθι εκδόσεις:

- Έκδοση διαθέσιμη [εδώ](#).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Εθνικών και Καποδιστριακών Πανεπιστημίων Αθηνών, Κουμπάρης Μιχαήλ 2015. Κουμπάρης Μιχαήλ. «Έλεγχος και Διασφάλιση Ποιότητας». Έκδοση: 1.0. Αθήνα 2015.

Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:

<http://opencourses.uoa.gr/courses/CHEM103/>



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

- που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
- που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
- που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

