



ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΗΝ ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Σινάνογλου Ι. Βασιλεία

Βασικές έννοιες

- Αναλυτικό Πρόβλημα
- Επιλογή Αναλυτικής Μεθόδου
- Πρωτόκολλο Ανάλυσης, προετοιμασία
- Ευαισθησία Μεθόδου
- Εκλεκτικότητα
- Όριο ανίχνευσης (limit of detection, LOD)
- Όριο ποσοτικοποίησης (limit of quantification, LOQ)
- Επικύρωση μεθόδου
- Προσδιορισμός και Μέτρηση
- Στατιστική επεξεργασία αποτελεσμάτων
- Γνωμάτευση

Αναλυτικό Πρόβλημα

Το σύνολο των ερωτημάτων που μπορούν να τεθούν:

- Ποιοτική ανάλυση ουσιών δείγματος
- Ποσοτική ανάλυση ουσιών δείγματος
- Οργανοληπτική εξέταση
- Χημικός χαρακτηρισμός ουσιών δείγματος
- Έλεγχος νοθείας / καθαρότητας/αυθεντικότητας
- Έλεγχος μεταβολών και αλλοιώσεων
- Συμμόρφωση με τη νομοθεσία

Αναλυτική τεχνική - Αναλυτική μέθοδος

- Αναλυτική τεχνική (analytical technique). Η αξιοποίηση ενός φυσικού ή χημικού φαινομένου στη χημική ανάλυση για παροχή ποιοτικών ή και ποσοτικών πληροφοριών σχετικά με την χημική σύσταση ουσίας.
- Αναλυτική μέθοδος (analytical method). Η εφαρμογή μιας αναλυτικής τεχνικής για την επίλυση ενός αναλυτικού προβλήματος.

Επιλογή Αναλυτικής Μεθόδου

- Σχεδιασμός (εξεύρεση της καταλληλότερης αναλυτικής διαδικασίας).
- Βασίζεται στην εφαρμογή φυσικοχημικού φαινομένου, π.χ. απορρόφηση ακτινοβολίας, φθορισμός, διαχωρισμός συστατικών λόγω κατανομής σε δύο φάσεις, κλπ.

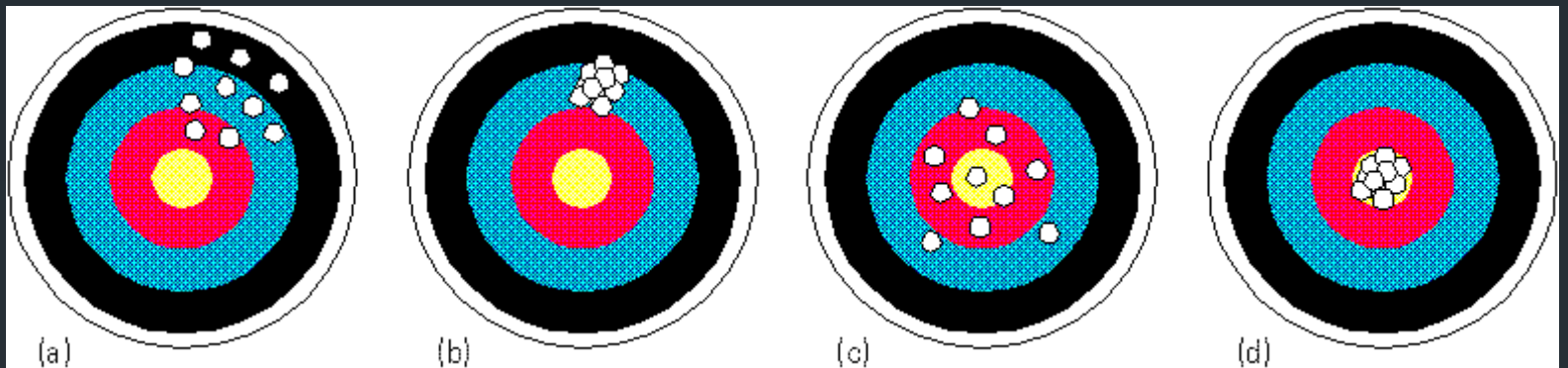
Πρωτόκολλο Ανάλυσης, Προετοιμασία δείγματος

- Πρωτόκολλα αναγνωρισμένων επίσημων μεθόδων ανάλυσης ή έγκυρες επιστημονικές μέθοδοι.
- Λεπτομερής περιγραφή της πορείας της ανάλυσης (είδος και ποσότητες αντιδραστηρίων, εξοπλισμός, χρόνος εκτέλεσης διαφόρων διαδικασιών, συνθήκες, κλπ.).
- Λήψη εργαστηριακού δείγματος αντιπροσωπευτικού του πληθυσμού.

Χαρακτηριστικά ποιότητας αναλυτικών μεθόδων

- ❖ Ακρίβεια (accuracy)
- ❖ Πιστότητα (precision)
- ❖ Όριο ανίχνευσης (limit of detection, LOD)
- ❖ Όριο ποσοτικοποίησης (limit of quantification, LOQ)
- ❖ Ευαισθησία (sensitivity)
- ❖ Γραμμική περιοχή (linearity)
- ❖ Εκλεκτικότητα (selectivity)

Ακρίβεια και Πιστότητα



Ακρίβεια -
Πιστότητα -

Ακρίβεια -
Πιστότητα +

Ακρίβεια +
Πιστότητα -

Ακρίβεια +
Πιστότητα +

Ακρίβεια (accuracy)

Εκφράζει την εγγύτητα μιας πειραματικής τιμής x_i ή της μέσης τιμής \bar{x} μιας σειράς μετρήσεων με την αληθινή τιμή μ .

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

Μέτρα ακρίβειας

Απόλυτο σφάλμα: $E = x_i - \mu$

Σχετικό σφάλμα: $E_{σχ} = (x_i - \mu) / \mu$

Όσο μικρότερο είναι το σφάλμα (E) τόσο μεγαλύτερη είναι η ακρίβεια.

Ο έλεγχος της ακρίβειας πραγματοποιείται με την ανάλυση προτύπου δείγματος.

Πιστότητα (precision)

- ❑ Εκφράζει το βαθμό εγγύτητας σειράς πειραματικών μετρήσεων μεταξύ τους.
- ❑ Υποκατηγορίες της πιστότητας :
 - Επαναληψιμότητα (Repeatability) για μετρήσεις του ίδιου δείγματος, με την ίδια μέθοδο και ίδιες πειραματικές συνθήκες
 - Αναπαραγωγιμότητα (Reproducibility) για μετρήσεις του ίδιου δείγματος, με την ίδια μέθοδο και διαφορετικές πειραματικές συνθήκες

Μέτρα πιστότητας

Απόκλιση (d_i): $d_i = x_i - \bar{x}$

Μέση απόκλιση (\bar{d}):
$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}|}{n}$$

Τυπική απόκλιση (s) (standard deviation)
όπου $n-1$ βαθμοί ελευθερίας

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

Τυπική απόκλιση του πληθυσμού (σ):

Όταν $n > 20$ τότε $\bar{x} \rightarrow \mu$ και $s \rightarrow \sigma$

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

Διασπορά ή μεταβλητότητα ή
διακύμανση (variance) (s^2):

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

Τυπικό σφάλμα (standard error) ή
τυπική απόκλιση της μέσης τιμής ($s_{\bar{x}}$):

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Εύρος (R) ή δειγματική διακύμανση (range):

$$R = x_{\max} - x_{\min}$$

Κατηγορίες σφαλμάτων

■ Συστηματικά ή καθορισμένα

Εμφανίζονται με τον ίδιο τρόπο σε όλες τις μετρήσεις που πραγματοποιούνται στις ίδιες συνθήκες, δηλαδή έχουν καθορισμένη τιμή, προσδιορίσιμη αιτία και είναι ίδιου πρόσημου και μεγέθους.

Μπορούν να προσδιορισθούν ώστε να ελαχιστοποιηθούν ή να εξαλειφθούν.

■ Τυχαία

Δεν οφείλονται σε μόνιμες αιτίες και μπορεί να επιδράσουν στη μέτρηση θετικά ή αρνητικά.

Κατηγορίες συστηματικών σφαλμάτων

- **Σταθερά** Δεν εξαρτώνται από την ποσότητα του αναλύτη. Άρα περιορίζονται με την αύξηση του μετρούμενου μεγέθους.
- **Αναλογικά:** Εξαρτώνται από την ποσότητα του αναλύτη.
- **Σύνθετα:** Συνδυασμός σταθερών και αναλογικών σφαλμάτων

Πηγές συστηματικών σφαλμάτων

- **Σφάλματα μεθόδου**

Λόγω της μη ιδανικής εξέλιξης των σταδίων της πειραματικής διαδικασίας και της δράσης των αντιδραστηρίων

- **Σφάλματα οργανολογίας**

Προβλήματα λειτουργίας και βαθμονόμησης, κατασκευαστικές ατέλειες

- **Προσωπικά σφάλματα**

Λανθασμένη εκτίμηση, προκατάληψη, φυσικές αδυναμίες του αναλυτή (αχρωματοψία, κλπ.)

Αντιμετώπιση συστηματικών σφαλμάτων

- Θεωρητικός υπολογισμός
- Τακτική βαθμονόμηση των οργάνων
- Μέτρηση τυφλού διαλύματος (σταθερό και θετικό καθορισμένο σφάλμα) που περιέχει ότι ακριβώς και το άγνωστο διάλυμα εκτός από την προσδιοριζόμενη ουσία,
- Μέτρηση προτύπων διαλυμάτων που περιέχουν ότι ακριβώς και το άγνωστο διάλυμα και την προσδιοριζόμενη ουσία σε γνωστές συγκεντρώσεις.

Αντιμετώπιση τυχαίων σφαλμάτων

- Αύξηση του αριθμού των μετρήσεων.
- Η διασπορά των μετρήσεων (τυπική απόκλιση) ως προς τη μέση τιμή, παρέχει εκτίμηση των τυχαίων σφαλμάτων.
- Η κατανομή των τυχαίων σφαλμάτων ακολουθεί το νόμο της κανονικής κατανομής Gauss :

$$y = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

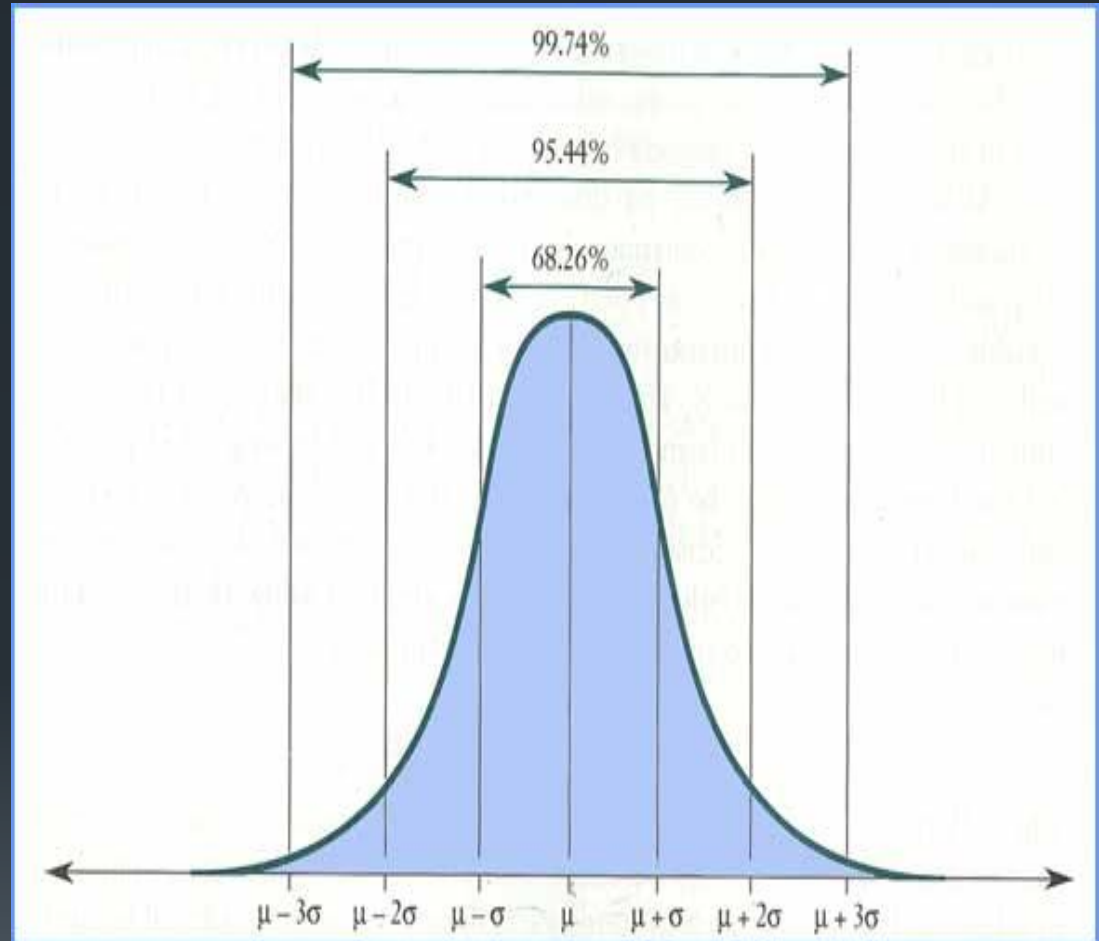
- y = συχνότητα εμφάνισης μιας ορισμένης απόκλισης.
- $x - \mu$ = απόλυτο σφάλμα
- σ = τυπική απόκλιση
- $e = 2,7183$
- $\pi = 3,14159$

Κατανομή Gauss

Η περιοχή $\pm 1\sigma$, περιλαμβάνει το 68,26%, η περιοχή $\pm 2\sigma$ περιλαμβάνει το 95,44% και η περιοχή $\pm 3\sigma$, περιλαμβάνει το 99,74% της επιφάνειας.

Για μεγάλο αριθμό μετρήσεων το μ είναι συνήθως ίδιο με τον μέσο όρο, εφ' όσον υπάρχουν μόνο τυχαία σφάλματα.

Το πλάτος της καμπύλης δείχνει την επαναληψιμότητα των μετρήσεων και είναι τόσο μικρότερο όσο καλύτερη είναι η επαναληψιμότητα.



Καθορισμός του είδους του σφάλματος

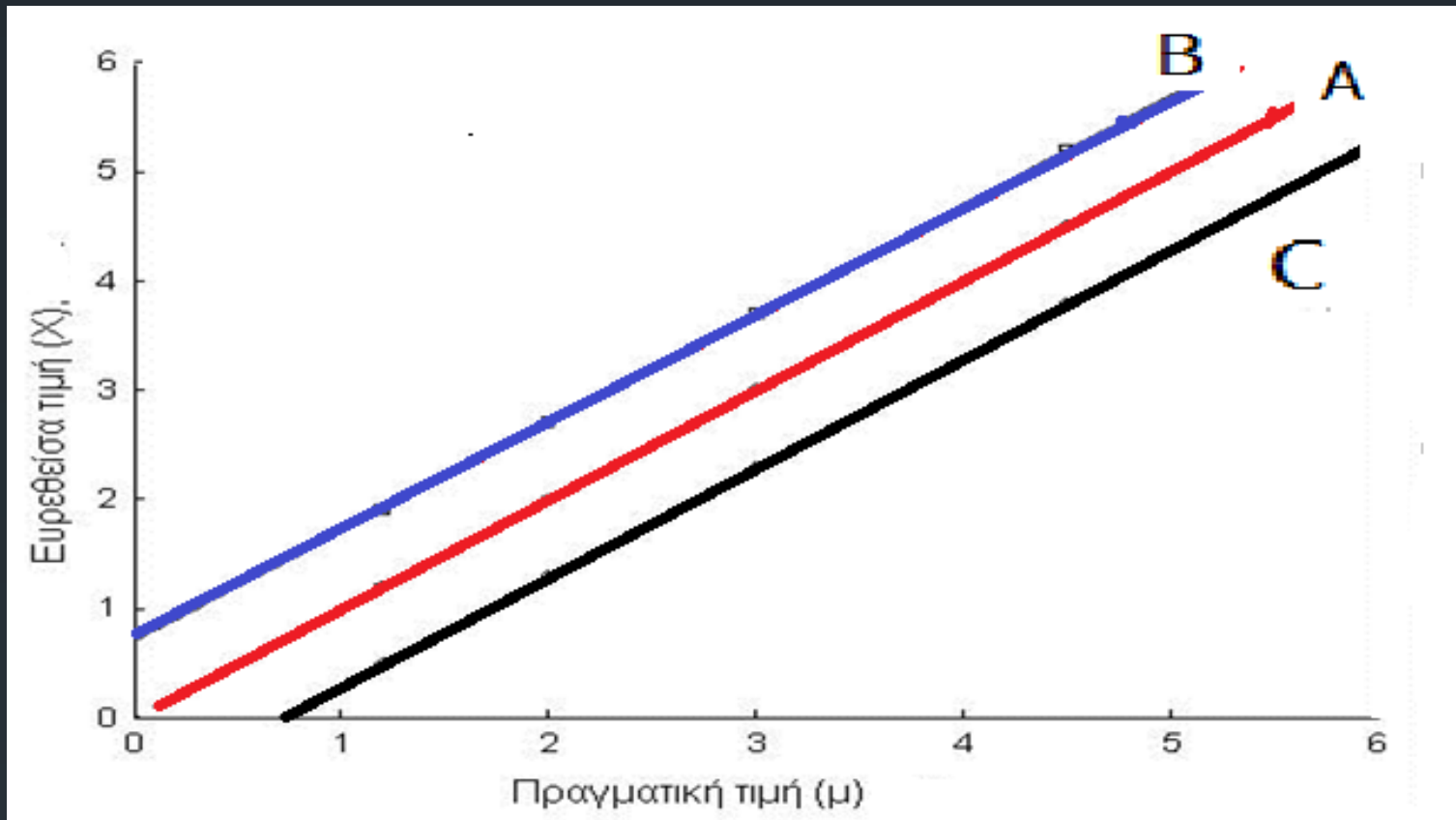
- ❖ Αν το απόλυτο σφάλμα $E = \bar{x} - \mu$ είναι πολύ μεγαλύτερο ως τάξη μεγέθους από την τυπική απόκλιση s τότε το σφάλμα είναι καθορισμένο.
- ❖ Αν το απόλυτο σφάλμα $E = \bar{x} - \mu$ είναι σταθερό το σφάλμα είναι σταθερό καθορισμένο.
- ❖ Αν το σχετικό σφάλμα $E_{σχ} = E/\mu$ είναι σταθερό το σφάλμα είναι αναλογικό καθορισμένο.

Καθορισμός του είδους του καθορισμένου σφάλματος

- Επιτυγχάνεται με την ανάλυση προτύπων δειγμάτων μεταβαλλόμενης περιεκτικότητας μι.
- Η εξίσωση ευθείας καθορίζει το είδος και το μέγεθος του καθορισμένου σφάλματος.

$$x_i = \alpha \mu_i + \beta$$

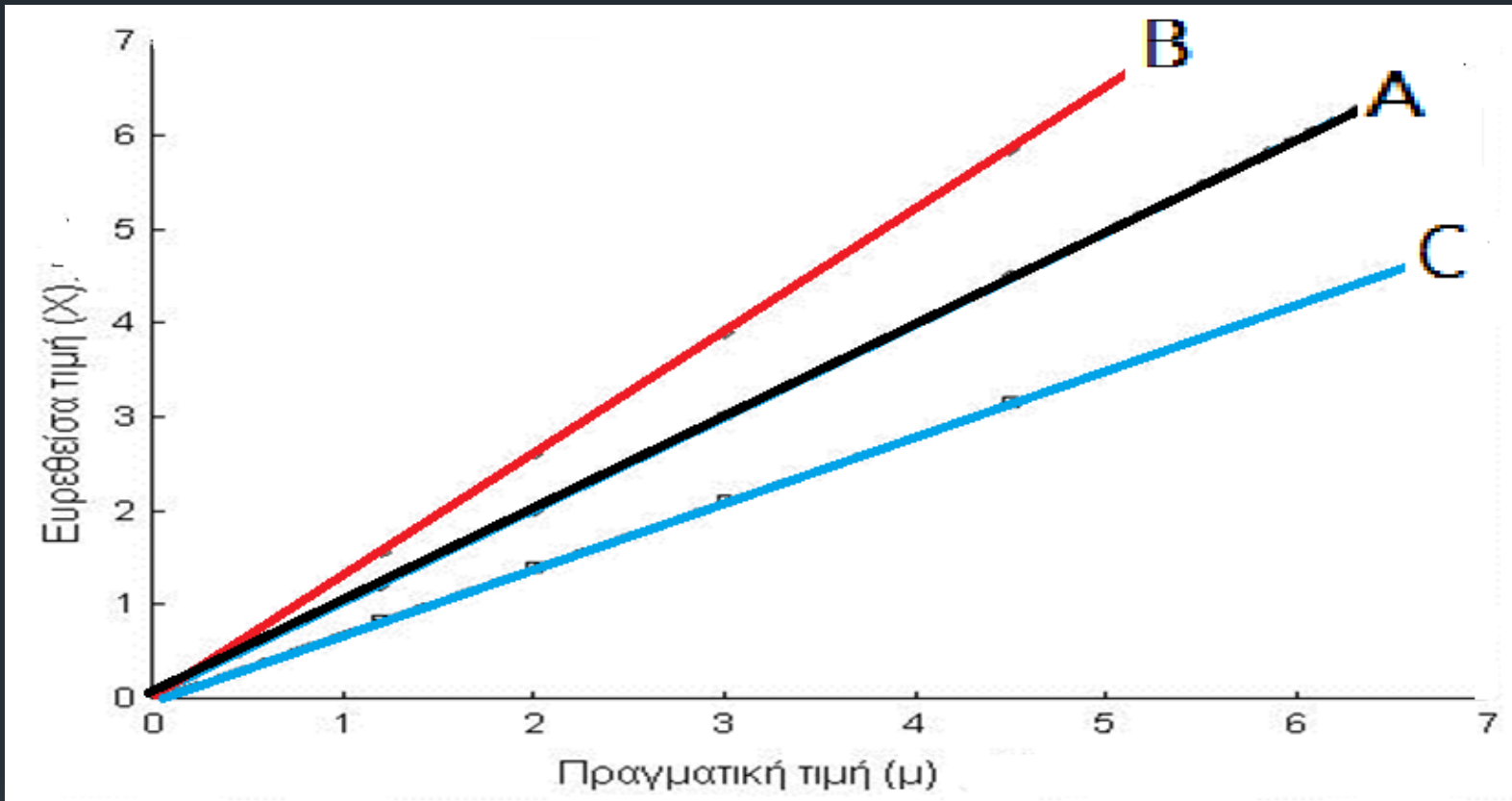
- Ο όρος β της εξίσωσης ισούται με το σταθερό καθορισμένο σφάλμα.
- Το μέγεθος $(\alpha-1) \times 100$ ισούται με % σχετικό αναλογικό σφάλμα.



A: Μέθοδος χωρίς σφάλμα ($\beta=0$)

B: Μέθοδος με θετικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα ($\beta>0$)

C: Μέθοδος με αρνητικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα ($\beta<0$)



A: Μέθοδος χωρίς σφάλμα ($\alpha=1$)

B: Μέθοδος με θετικό αναλογικό σφάλμα ($\alpha>1$)

C: Μέθοδος με αρνητικό σταθερό καθορισμένο σφάλμα ($\alpha<1$)

Ορισμοί

- ❖ Ευαισθησία (sensitivity): μεταβολή του σήματος προς τη μεταβολή της συγκέντρωσης του αναλύτη (κλίση πρότυπης καμπύλης αναφοράς).
- ❖ Δυναμική περιοχή συγκεντρώσεων: γραμμική σχέση σήματος / συγκέντρωσης ουσίας.
- ❖ Εκλεκτικότητα (selectivity): έλλειψη παρεμπόδισης στον προσδιορισμό ουσίας, από άλλα συστατικά του δείγματος.

Όριο ανίχνευσης (detection limit):

- ❖ η μικρότερη ποσότητα που μπορεί να ανιχνευτεί χωρίς να μπορεί να ποσοτικοποιηθεί
- ❖ η συγκέντρωση του αναλύτη για την οποία το σήμα του οργάνου διαφέρει από το σήμα του λευκού δείγματος (blank) κατά 3 φορές την τυπική απόκλιση του σήματος του λευκού.

Όριο ποσοτικοποίησης (quantification limit):

- ❖ η χαμηλότερη συγκέντρωση η οποία μπορεί να μετρηθεί με αξιοπιστία.
- ❖ η συγκέντρωση του αναλύτη για την οποία το σήμα του οργάνου διαφέρει από το σήμα του λευκού δείγματος (blank) κατά 10 φορές την τυπική απόκλιση του σήματος του λευκού.

Επικύρωση μεθόδου (method validation)

- Απαραίτητες διαδικασίες που αποδεικνύουν ότι μία αναλυτική μέθοδος είναι κατάλληλη να εφαρμοστεί για το σκοπό για τον οποίο έχει αναπτυχθεί.
- Ανάγκη συμμόρφωσης ως προς τις απαιτήσεις της Νομοθεσίας
- Διεθνείς Οργανισμοί, όπως ο FDA (Food Drug Administration) και ο WHO (World Health Organization), έχουν θεσπίσει οδηγίες για την επικύρωση των αναλυτικών μεθόδων.

Κατηγορίες επικύρωσης

- **Πλήρης (Full Validation)**

Απαιτείται κατά την ανάπτυξη νέας αναλυτικής μεθόδου

- **Μερική (Partial Validation)**

Απαιτείται μετά από τροποποίηση ήδη επικυρωμένης αναλυτικής μεθόδου

- **Διασταυρούμενη (Cross-Validation)**

Εφαρμόζεται ώστε να συγκριθούν οι παράμετροι επικύρωσης, όταν χρησιμοποιούνται δύο ή περισσότερες αναλυτικές μέθοδοι.

Απαραίτητες διαδικασίες επικύρωσης μεθόδου

Απαιτείται έλεγχος των ακόλουθων παραμέτρων:

- ακρίβεια (accuracy)
- πιστότητα (precision)
- όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού (limit of detection and limit of quantification)
- ευαισθησία (sensitivity)
- εκλεκτικότητα (selectivity)
- ανάκτηση (recovery)
- σταθερότητα (stability), για ευαίσθητα υλικά

Υλικά για την Επικύρωση μεθόδου

- ❑ Χρήση Πρότυπων Υλικών Αναφοράς (Certified Reference Materials, CRMs): υλικά, των οποίων μια ή περισσότερες ιδιότητες έχουν πιστοποιηθεί από τον Οργανισμό Πιστοποίησης και συνοδεύονται από έγκυρο πιστοποιητικό.
- ❑ Χρήση υλικών αναφοράς (reference materials).


Χρήση της στατιστικής στην ενόργανη ποσοτική ανάλυση

Στατιστική

- ❖ Συλλογή, ανάλυση και ερμηνεία δεδομένων
- ❖ Εξαγωγή συμπερασμάτων κάτω από συνθήκες αβεβαιότητας
- ❖ Εξαγωγή συμπερασμάτων που έχουν μεγάλη πιθανότητα να είναι σωστά

Ερωτήματα που τίθενται

- Το αποτέλεσμα της ανάλυσης δείγματος ανταποκρίνεται στην αληθή τιμή;
- Από την ανάλυση διαφορετικών δειγμάτων μπορούμε να αποφανθούμε για την διαφοροποίησή τους;
- Από την ανάλυση δείγματος με διαφορετικές μεθόδους τυχόν διαφοροποίηση στα αποτελέσματα μπορεί να αξιολογηθεί; Ποια μέθοδος είναι αποτελεσματικότερη;

- 
- Μπορούμε με τη βοήθεια εξίσωσης να προβλέπουμε την επιτυχία ενός πειράματος;
 - Μπορούμε να αποφανθούμε για τη συμμόρφωση ή μη ενός προϊόντος;
 - Μπορούμε να ταξινομήσουμε ένα δείγμα σε μια κατηγορία ανάλογα με τα αποτελέσματα της ανάλυσής του;
 - Μπορούμε να ελέγξουμε τη νοθεία σε ένα τρόφιμο;
 - Μπορούμε να αποφανθούμε για την αυθεντικότητα ενός τροφίμου;

Όρια και διάστημα εμπιστοσύνης (confidence levels and interval)

- Ως διάστημα εμπιστοσύνης ορίζεται η περιοχή τιμών μέσα στην οποία βρίσκεται η αληθής τιμή μ με ορισμένη πιθανότητα.
- Τα όρια εμπιστοσύνης οριοθετούν το διάστημα εμπιστοσύνης.
- Τα όρια εμπιστοσύνης προκύπτουν από τη μαθηματική σχέση:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{z \sigma}{\sqrt{n}}$$

Όπου:

$z = (\bar{x} - \mu) / \sigma$ εκφράζει την απόκλιση της \bar{x} από την μ σε σχέση με την σ

- Επειδή στην περίπτωση ανάλυσης άγνωστων δειγμάτων τα μ και σ δεν είναι γνωστά, τα όρια εμπιστοσύνης προκύπτουν από τη μαθηματική σχέση:

$$\mu = \bar{x} \pm \frac{t \cdot s}{\sqrt{n}}$$

- όπου t είναι μια μεταβλητή που ονομάζεται Student's t-test και εξαρτάται από τον αριθμό των πειραματικών μετρήσεων και την στάθμη εμπιστοσύνης.

Τιμές t ως συνάρτηση των βαθμών ελευθερίας και της στάθμης εμπιστοσύνης

Βαθμοί ελευθερίας	Επίπεδο εμπιστοσύνης (%)						
	50	90	95	98	99	99.5	99.9
1	1.000	6.314	12.706	31.821	63.657	127.32	636.619
2	0.816	2.920	4.303	6.965	9.925	14.089	31.598
3	0.765	2.353	3.182	4.541	5.841	7.453	12.924
4	0.741	2.132	2.776	3.747	4.604	5.598	8.610
5	0.727	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	6.869
6	0.718	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.959
7	0.711	1.895	2.365	2.998	3.500	4.029	5.408
8	0.706	1.860	2.306	2.896	3.355	3.832	5.041
9	0.703	1.833	2.262	2.821	3.250	3.690	4.781
10	0.700	1.812	2.228	2.764	3.169	3.581	4.587
15	0.691	1.753	2.131	2.602	2.947	3.252	4.073
20	0.687	1.725	2.086	2.528	2.845	3.153	3.850
25	0.684	1.708	2.068	2.485	2.787	3.078	3.725
30	0.683	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.646
40	0.681	1.684	2.021	2.423	2.704	2.971	3.551
60	0.679	1.671	2.000	2.390	2.660	2.915	3.460
120	0.677	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.373
∞	0.674	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.291

Παρατηρήσεις

- Η τιμή της μεταβλητής t αυξάνεται όταν αυξάνεται η στάθμη εμπιστοσύνης και όταν ελαττώνονται οι βαθμοί ελευθερίας ($n-1$).
- Η στάθμη εμπιστοσύνης που συνήθως κρίνεται ικανοποιητική είναι 95% σπανιότερα δε 99% ή και 90%.
- Η διαφορά ($100 - \% \text{ στάθμη εμπιστοσύνης}$) καλείται % πιθανότητα σφάλματος και παρέχει την πιθανότητα (P) με την οποία η μ βρίσκεται έξω από το διάστημα εμπιστοσύνης.

Παράδειγμα 1

■ Σε μία ανάλυση δείγματος βιταμίνης E βρέθηκαν:

$$\bar{x} = 1,992 \text{ mg/mL}$$

$$s = 0,017 \text{ mg/mL (για } N = 5)$$


Να υπολογισθούν τα όρια εμπιστοσύνης για $P = 0,05$ και $P = 0,01$

Για $P = 0,05$ (στάθμη εμπιστοσύνης 95%) και βαθμούς ελευθερίας (5-1=4), βρίσκεται ότι $t = 2,776$,

Για $P = 0,01$ (στάθμη εμπιστοσύνης 99%), $t = 4,604$.

Για $P=0,05$: Όρια εμπιστοσύνης: $1,992 \pm [(2,776 \times 0,017) / \sqrt{5}] = 1,992 \pm 0,021 \text{ mg/mL}$

Για $P=0,01$: Όρια εμπιστοσύνης: $1,992 \pm [(4,604 \times 0,017) / \sqrt{5}] = 1,992 \pm 0,035 \text{ mg/mL}$



Μεθοδολογία για την αποδοχή
ή την απόρριψη αποτελέσματος

Σύγκριση της πειραματικής μέσης τιμής \bar{x} με την αληθή τιμή μ

- Η σύγκριση γίνεται αφού υπολογιστεί η τιμή του t από τη σχέση:

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

- Για προκαθορισμένη στάθμη εμπιστοσύνης το $t_{\text{πειρ}}$ συγκρίνεται με την θεωρητική τιμή του t .
- Εάν $t_{\text{πειρ}} > t_{\text{θεωρ}}$, συμπεραίνεται, ότι η διαφορά $(\bar{x} - \mu)$ είναι σημαντική (συστηματικό σφάλμα).
- Εάν $t_{\text{πειρ}} < t_{\text{θεωρ}}$ η διαφορά $(\bar{x} - \mu)$ είναι αμελητέα λόγω τυχαίων σφαλμάτων.

Παράδειγμα 2

Αναλύεται ελαιόλαδο αναφοράς με οξύτητα 2,00 % (w/w) πέντε φορές και βρίσκεται ότι έχει οξύτητα (% w/w):
1,99 - 2,10 - 2,08 - 1,97 - 2,09.

Να εξεταστεί αν υπάρχει προσδιορισμο σφάλμα στη μέθοδο για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

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

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

$$S = 0,06\%$$

$t_{\text{πειρ}} = 1,86 < t_{\text{θεωρ}} = 2,78$ για 4 (5-1) βαθμούς ελευθερίας
Άρα δεν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα για στάθμη εμπιστοσύνης 95%

Παράδειγμα 3

Κατά τον έλεγχο μιας νέας μεθόδου αναλύσεως συμπληρώματος διατροφής που περιέχει εσπεριδίνη, ναρινγκίνη και τυροσόλη με φασματοφωτομετρία υπεριώδους ελήφθησαν τα αποτελέσματα του επομένου πίνακα κατά την ανάλυση πρότυπων δισκίων συμπληρωμάτων.

Να καθορισθεί εάν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα κατά τον προσδιορισμό των παραπάνω συστατικών για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας μετρήσεων

Ουσία	Αρ. αναλύσεων	Αληθής τιμή	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση
εσπεριδίνη	6	50,0	44,1	1,81
ναρινγκίνη	7	5,00	4,87	0,16
τυροσόλη	8	10,0	10,8	0,67

Αποτελέσματα - Γνωμάτευση

Για την εσπεριδίνη

$$t_{\text{πειρ}} = (|50,0-44,1| \sqrt{6}) / 1,81 = 7,986 > t_{\text{θεωρ}} = 2,571$$

Υπάρχει συστηματικό αρνητικό σφάλμα

Για την ναρινγκίνη

$$t_{\text{πειρ}} = (|5,00-4,87| \sqrt{7}) / 0,16 = 2,153 < t_{\text{θεωρ}} = 2,447$$

Δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα

Για την εσπεριδίνη

$$t_{\text{πειρ}} = (|10,0-10,8| \sqrt{8}) / 0,67 = 3,379 > t_{\text{θεωρ}} = 2,365$$

Υπάρχει συστηματικό θετικό σφάλμα

Σύγκριση δύο μέσων πειραματικών τιμών \bar{x}_1 και \bar{x}_2

- Ο υπολογισμός του $t_{\text{πειρ}}$ γίνεται από την σχέση:

$$t_{\text{πειρ.}} = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_{1-2}} \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

- Όπου S_{1-2} είναι η τυπική απόκλιση οποιασδήποτε τιμής σε καθεμιά από τις δύο σειρές δεδομένων που υπολογίζονται από τη σχέση:

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

- Συγκρίνεται η $t_{\text{πειρ.}}$ με την $t_{\text{θεωρ.}}$ που δίνεται από τον πίνακα και για $(n_1 + n_2 - 2)$ βαθμούς ελευθερίας και την επιθυμητή στάθμη εμπιστοσύνης.

Παράδειγμα 4

Σε δείγμα φυσικού χυμού προσδιορίζεται η περιεχόμενη βιταμίνη C με δύο μεθόδους α) με την πρότυπη μέθοδο του ΑΟΑC (Association of Official Analytical Chemists) και β) με χρωματογραφική μέθοδο. Να εξεταστεί αν οι δύο μέθοδοι διαφέρουν για στάθμη εμπιστοσύνης 95 και 99%. Δίνεται η περιεχόμενη βιταμίνη C σε g/L:

Για την ΑΟΑC: 39,5 – 40,1 – 39,7 – 40,5 – 39,7

Για την άλλη μέθοδο: 40,0 – 41,0 – 40,7 – 40,2 – 40,6 – 40,5

Για την ΑΟΑC:

$$\bar{x} = (39,5+40,1+39,7+40,5+39,7) / 5 = 39,9$$

$$S = 0,40$$


$$N = 5$$

Για την άλλη μέθοδο:

$$\bar{x} = (40,0 + 41,0+40,7+40,2+40,6+40,5)/6 = 40,5$$

$$S = 0,36$$

$$N = 6$$


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

$$t_{\text{πειρ.}} = \frac{|399-405|}{0,38} \sqrt{\frac{5 \cdot 6}{5+6}} = 2,61$$

Για στάθμη εμπιστοσύνης 99% $t_{\text{πειρ}} = 2,61 < t_{\text{θεωρ}} = 3,250$ για 9 (5+6-2) βαθμούς ελευθερίας. Άρα δεν υπάρχει καθορισμένο σφάλμα.

Για στάθμη εμπιστοσύνης 95% $t_{\text{πειρ}} = 2,61 > t_{\text{θεωρ}} = 2,262$ για 9 (5+6-2) βαθμούς ελευθερίας. Άρα υπάρχει καθορισμένο σφάλμα.

Απόρριψη λανθασμένης τιμής (Q-test)

- Όταν μία μέτρηση φαίνεται να μην συμφωνεί με τις υπόλοιπες πρέπει να αποφανθούμε αν θα τη δεχθούμε ή θα την απορρίψουμε.
- Κατατάσσουμε τις τιμές με αύξουσα διάταξη και εφαρμόζουμε το Q-test:

$$Q = \frac{X_{\text{ύποπτο}} - X_{\text{πλησιέστερο}}}{X_{\text{μεγαλύτερο}} - X_{\text{μικρότερο}}}$$

- Συγκρίνουμε την $Q_{\text{πειρ}}$ με τις τιμές $Q_{\text{θεωρ}}$ για διαφορετικό αριθμό παρατηρήσεων και για διαφορετική στάθμη εμπιστοσύνης. Εάν $Q_{\text{πειρ}} > Q_{\text{θεωρ}}$ η μέτρηση απορρίπτεται.

Όρια τιμών Q για την απόρριψη παρατηρήσεων



Αριθμός παρατηρήσεων	Στάθμη εμπιστοσύνης	
	90%	95%
4	0,76	0,85
5	0,64	0,73
6	0,56	0,64
7	0,51	0,59
8	0,47	0,54
9	0,44	0,51
10	0,41	0,48

Παράδειγμα 5

Η περιεκτικότητα σιροπιού σε γλυκόζη μετρείται επτά φορές και τα αποτελέσματα που λαμβάνονται σε g/100 mL είναι:

$$5,3 - 5,8 - 5,5 - 5,7 - 6,9 - 5,9 - 5,4 \quad (N = 7)$$

Η πέμπτη τιμή αποκλίνει και ίσως πρέπει να απορριφθεί. Οπότε εφαρμόζεται το κριτήριο Q:

$$Q_{\text{πειρ}} = |6,9 - 5,9| / (6,9 - 5,3) = 0,625$$

Για στάθμη εμπιστοσύνης 90% και 95% ($Q_{\text{θεωρ}} = 0.51, 0.59$)

$Q_{\text{πειρ}} > Q_{\text{θεωρ}}$ οπότε η αμφίβολη μέτρηση απορρίπτεται