Saja Zghoul.

اللهم لا سهلَ إلّا ما جعلتهُ سهلاً
وأنتَ تجعلُ الحزنَ إذا شئتَ سهلاً.

INTRODUCTION TO INSTRUMENTAL ANALYSIS

هو علم مشتق من الـ analytical che. ولكن نستخدم الأجهزة على عكس الـ analytical che. كنا نستخدم طرق قديمة وبدائية ولا نستخدم في المعمل.

OUTLINE:

Classification of Analytical Methods

Types of Instrumental Methods

Instruments for Analysis

Selecting an Analytical Method

Calibration of an Instrumental Methods

Definitions

Analytical Chemistry: The Science of Chemical Measurements.

Analyte: The compound or chemical species to be measured, separated or studied. Sample / target drugs ممكن تكون بال standard دواء عادي tablet و ممكن نعملها بال biological liquids مثلاً بال urine أو ال plasma أو الدم عامة.

Qualitative instrumental analysis is that measured property that indicates *presence* of analyte in matrix ماذا يوجد في العينة؟؟

Quantitative instrumental analysis is that magnitude of measured property that is proportional to *concentration* of analyte in matrix كم كمية العينة؟؟

CLASSICAL AND INSTRUMENTAL METHODS

CLASSICAL:

Qualitative - identification by color, indicators, boiling points, odors

Quantitative - mass or volume (e.g. gravimetric, volumetric)

INSTRUMENTAL: → ما يتصمد على خصائص فيزيائية

Qualitative- chromatography, electrophoresis and identification by measuring physical property (e.g. spectroscopy, electrode potential)

Quantitative- measuring property and determining relationship to concentration (e.g. spectrophotometry, mass spectrometry). Often, same instrumental method used for qualitative and quantitative analysis.

Types of Instrumental Methods

* ممكن الجهاز يعطيني quality يعطيني quantity أيضاً.

Example methods

Spectroscopy Technique	Radiation emission	Emission spectroscopy, fluorescence, phosphorescence, luminescence
	Radiation absorption	Absorption spectroscopy spectrophotometry, photometry, nuclear magnetic resonance NMR
Electrical Technique	Electrical potential	Potentiometry
	Electrical charge	Coulometry
	Electrical current	Voltammetry - amperometry, polarography
	Electrical resistance	Conductometry
Thermal Technique	Thermal	Thermal gravimetry, calorimetry

في جهاز بيقدر واحد منهم يعدل الرطوبة للأدوية أو حتى للأغذية ومهم لأنه الرطوبة بتقلل من فترة الـ expiration للدواء.

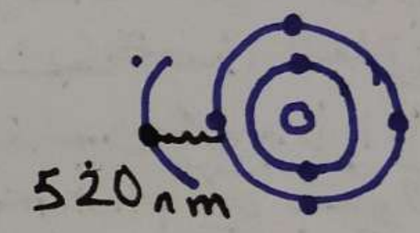
Thermal بيستخدم الحرارة

مثلاً "أخذ وزنك ونصرفها وتبقى الـ heavy metals ومنها بنعرف السبب ممكن يكون من toxisity مثلاً".

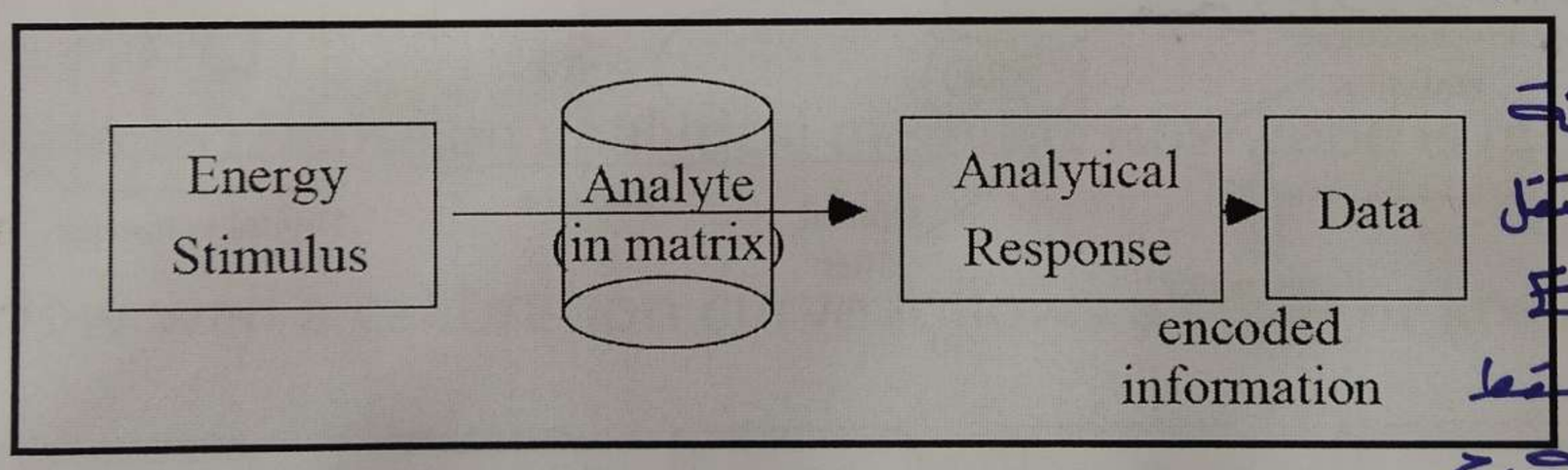
most pharmaceutical compounds.

C - H

atoms + covalent bond



Instrumental Methods



Block diagram for the overall process of instrumental measurement.

* لما سيقط مصدر للطاقة وأصبح إلكترونات تنتقل للـ exiting وتصعد للـ next level يعني لما أسقط عليها حزمة من الطاقة رح تسعى حزمة واحدة يمكن إنها تصعدها للـ exiting ولكن بأغلب الحزم تخرج. منقدر أوخذ الفرق بين اللي خرج وبين اللي أسقطته من الأساس مثلاً "أنه سعيتعم بالمادة 520nm لأنه سعيتعم missing لكن بعد ما تنتقل إلكترونات وتصعد للغلاف التالي رح ترجع بعدين لوضعها الطبيعي فترجع بتبعتلي الـ 520nm، أو يكون في sensor بكتشف الحزمة المسعوبة بعد ما ترجع وهذه الحزمة تتبع لمادة واحدة ولما أرجع للـ pharmacopia بحليل أنه المادة الفلانية أو الدواء الفلاني بالتركيز الفلاني بعطيه طول موجي معين وصيلي بعرف الـ qualitative يعني أنه عندي الدواء أو المركب الفلاني.

Example:	spectrophotometry
Instrument:	spectrophotometer
Stimulus:	monochromatic light energy
Analytical response:	light absorption
Transducer:	photocell
Data:	electrical current
Data processor:	current meter
Readout:	meter scale

DATA DOMAINS: way of encoding analytical response in electrical or non-electrical signals.

Interdomain conversions: transform information from one domain to another.

طبعًا إحنا صوت عارفين الـ quality بس بدنا نعرف الـ quantity.

Light Intensity —Photocell→ Current —Current Meter→ Scale

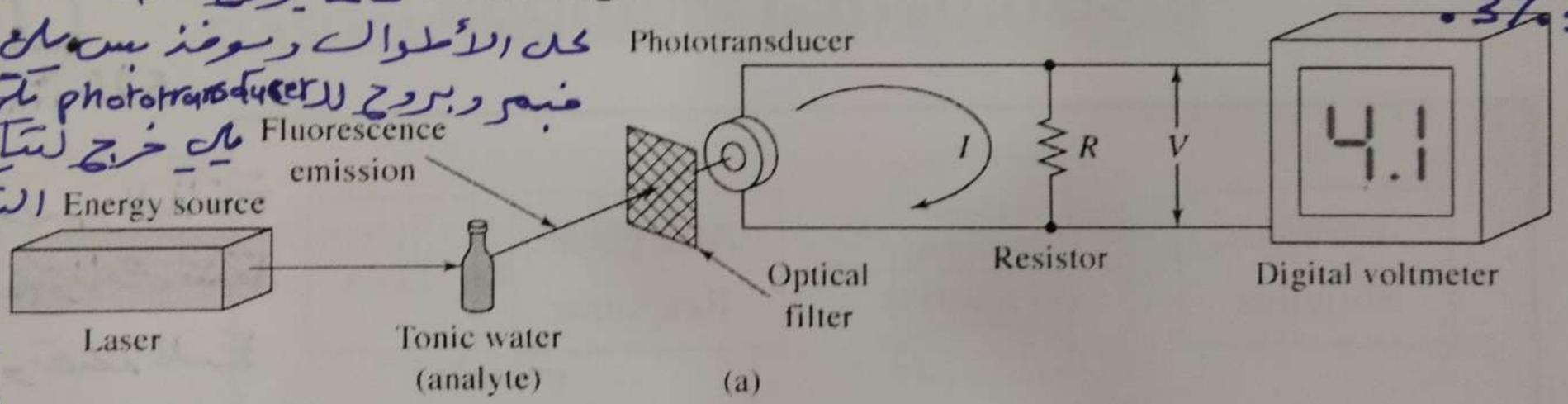
Detector
device that indicates change in environment

Transducer
device that converts non-electrical to electrical data

Sensor
device that detects physical, chemical or biological properties to electrical data صوت، حرارة، pH

بنه خل عليها المزمة وبعوللي الضوء المعرج لشرح مصوس صح أشعة أشعة مثلاً "tonic water" (صودا) مرات بكون مضاف إلها flavors ومرات بتكون pure مبدئياً أشد المادة يلي بيطلوها فلما يسقط الضوء على الـ bottele في مواد أخرى رح تمتص الضوء عن يلي بدي إياها الكن أثناء المادة وحدة لطول موجي معين فلما يروح لشبكة هذا الفلتر يستبعد كل الأطوال وسوفذ بس يلي بدنا إياه الـ 520 يلي خرج لتيار وتمر رضا resistor التيار بصيرة بقدر كم شدة هذا التيار والشدة تعود لعدد موجات الـ 520 وكما أعرف الضوء عبارة عن molcul أمتعة بال solution.

مثل جهاز الحرارة thermometer بقيس تغير بال physical properties، كما يخل لجسم المريض بسبب الحرارة منروح الـ mercury contained atoms عن بعض بسبب زيادة الحرارة وإكتساب طاقة حركية فبي تتمدد الـ range من 25 إلى 37.5



Block diagram of a fluorometer

FIGURE 1-3 A block diagram of a fluorometer showing (a) a general diagram of the instrument, (b) a diagrammatic representation of the flow of information through various data domains in the instrument, and (c) the rules governing the data domain transformations during the measurement process.

Figures of Merit

* شروط رياضية تدل الباحث على أن هذا الجهاز يمكن إستخدامه في التحليل .

Performance Characteristics: Figures of Merit

How to choose an analytical method? How good is measurement?

How well a calibration curve follows a straight line?- **Linearity**.

How reproducible? – **Precision**

How close to true value? - **Accuracy/Bias**

How small a difference can be measured? – **Sensitivity**

What range of amounts? - **Dynamic Range**

How much interference? - **Selectivity**

FIGURES OF MERIT: Linearity

كل ما بتزيد الـ X بتزيد الـ Y .

- How well a calibration curve follows a straight line.
- R^2 (Square of the correlation coefficient)

$$R^2 = \frac{[\sum(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]^2}{\sum(x_i - \bar{x})^2 \sum(y_i - \bar{y})^2}$$

prepare ≥ standard sol. at least

X Conc. ppm → y

Y responce

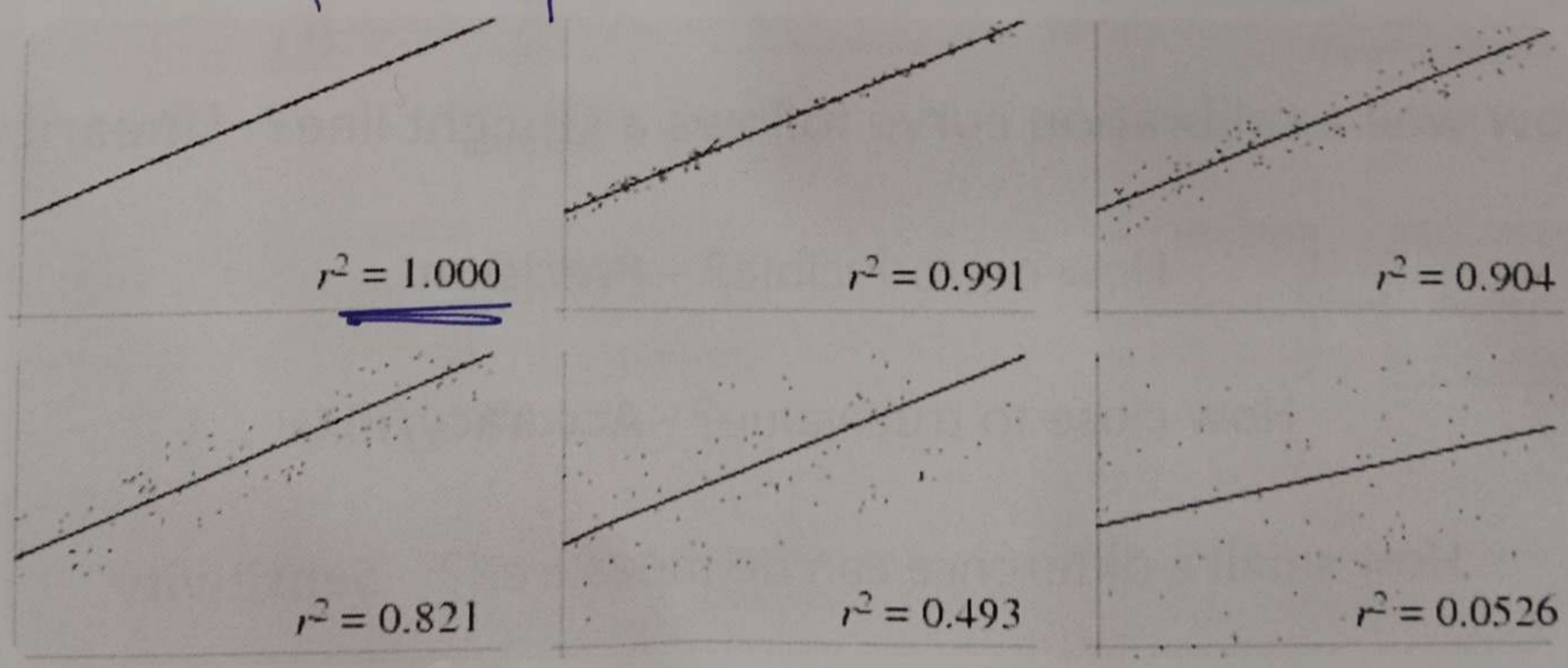
1ppm = mg/L

* كل ما أرفع الـ X (تزداد) إستجابة الـ Y تزداد وتزداد خطياً linearity .

11

* كل ما بتبعد عن الخط بتقل الـ R^2 .

* كلهم جايين على نفس الخط .



* أقل من 0.88 تعتبر not accepted يعني بستبعده وما بستخدم الجهاز لأنه العلاقة مش خطية بين الـ X والـ Y بزيادة التركيز .

12

* RSD للقيم صندول يعني الفرق بينه وبعضهم الحسابي تم اعادتهم كيف.

FIGURES OF MERIT: PRECISION (للعينة الواحدة)

يعني المادة ثابتة صون.

INDETERMINATE OR RANDOM ERRORS

X صون هي مرادات الجهاز مش التركيز زي قبل.

Standard deviation: $s = \sqrt{\frac{\sum_{i=0}^{i=N} (x_i - \bar{x})^2}{N-1}}$

* كل ما كانت القيمة كبيرة relative standard deviation البعد بين deviation Xprime وبين صندوق القيم (بين الـ 1% يا قبل) كل ما كانت كبيرة كل ما دقة الجهاز مقلة فكل ما يزيد الرقم بتقل precision وكل ما يقل الرقم معناه صندوق القيم كانت بتعطيني نفس القيمة ما الجهاز بكون stable وأمرك للعقيق acceptable و يعني الفرق بين الـ mean وبين كل تركيز رح يطلعلي وهذا الـ RSD وهذا الـ RSD كل ما كانت قيمة عالية معناها الفرق كبير بين الجهاز مرات unstable

عدد صم

Variance: s^2

Relative standard deviation: $RSD = \frac{s}{\bar{x}}$

Standard deviation of mean: $s_m = \frac{s}{\sqrt{N}}$

1ppm

* آخذ تركيز واحد وبعمله كل يوم ساعة في الجهاز، فرح يطلعلي كذا استعادة لنفس التركيز بنفس اليوم أو أيام مختلفة لنفس الـ Solution 13 مثلا لهذا الـ X_1 بطلعلي 10 X لنفس التركيز فباخذ الـ mean تاعه بجمعهم وبقسمهم على العدد بطلع الـ mean، منعدهم صندوق الـ 10 عن الـ mean تاعهم هو precision.

FIGURES OF MERIT: ACCURACY

DETERMINATE ERRORS (operator, method, instrumental)

Bias: $bias = \bar{x} - x_{true}$ → يعني مصدر الدقة references

* إذا بنوخذ 1ppm من المادة وبنحللها بالـ UV على الطول الموجي الفلاني خالص هاي reference من الشركة (هذا بالـ pharmcopia).
* منروح بآخذ الـ 1ppm ونعمره باللاب ونقيسه ونشوف قرمتهم عن reference الشركة مش عن الـ mean تاعهم وهذا بسميه accuracy.

precision ⇐ mean ⇐ يعني باختصار مجمع القراءات عن الـ

accuracy ⇐ reference ⇐ بعد القراءات عن الـ (true)

mean أو الـ

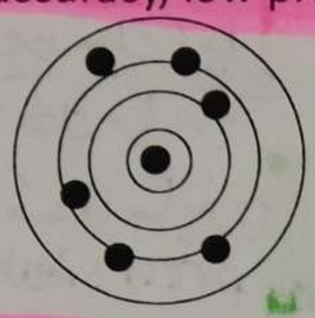
Center ⇒ accuracy

Illustrating the difference between "accuracy" and "precision"

قريبين من بعض وبعيدين عن المركز. بعيدين عن بعض وبعيدين عن المركز.

Low accuracy, low precision

Low accuracy, high precision



High accuracy, low precision

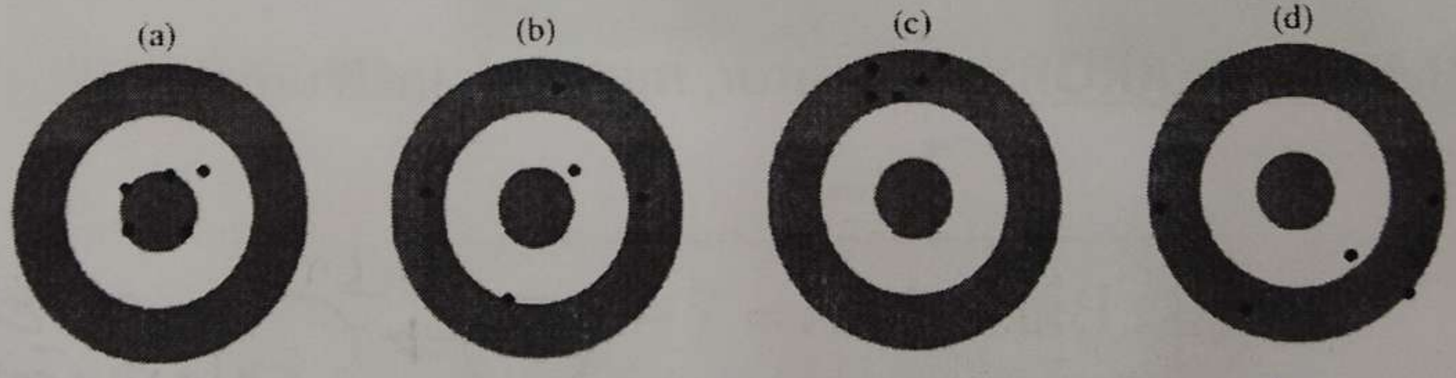
High accuracy, high precision

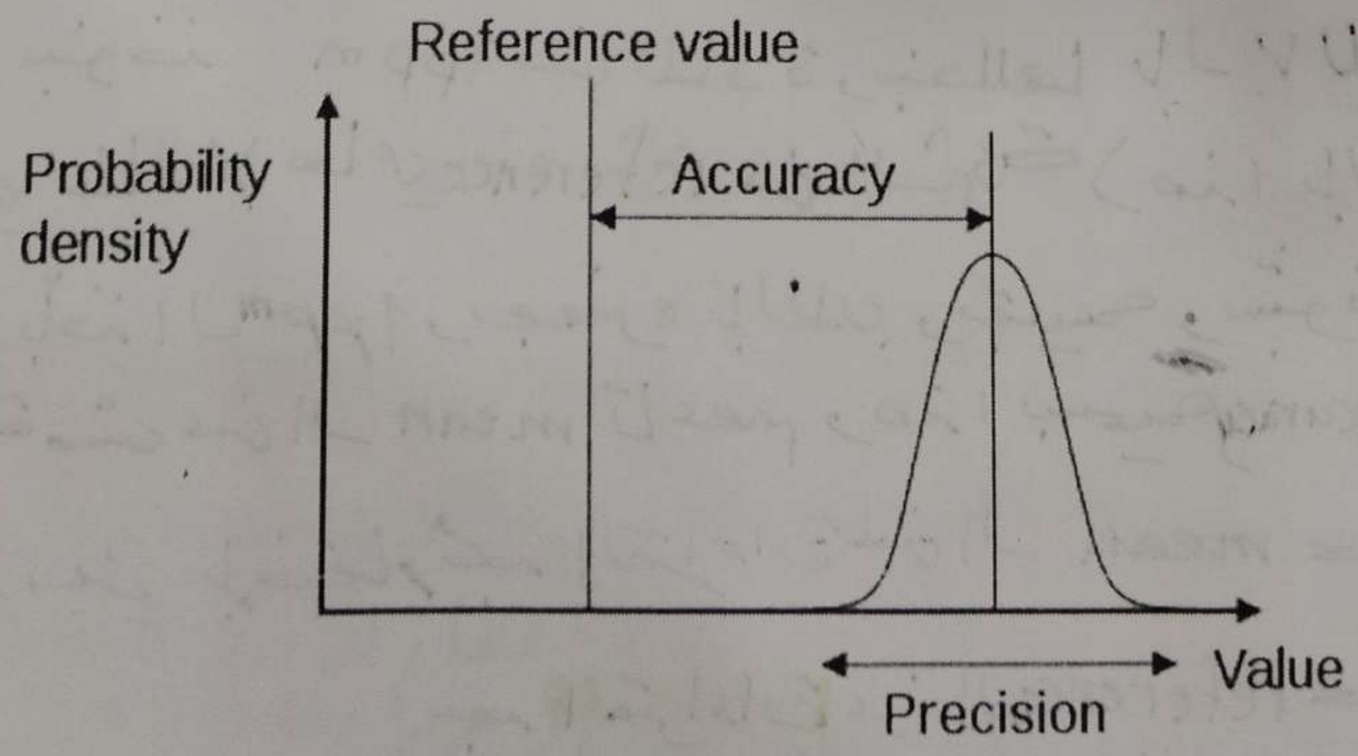
قريبين من بعض وقريبين من المركز بعيدين عن بعض وقريبين من المركز

* يمكن بملاحظة الأشكال اللي فوق أنه بالـ precision بنحكم مدى قرب القيم من بعض (بشكل أدق مدى قربهم من المتوسط بينهم)، لكن بالـ accuracy اللي بنحكم عليه قد قربهم من الـ center (من مصدر معين وهو الـ reference اللي بيجي من الشركة).

15

Accuracy vs Precision





FIGURES OF MERIT: SENSITIVITY

Indicates the response of the instrument to changes in analyte concentration or a measure of a method's ability to distinguish between small differences in concentration in different samples.
Effected by slope of calibration curve.

* لما يطلب الـ sensitivity بالسؤال مصي إلها مصطلحين إما لـ method بشكل عام والتي تساوي الـ slope بأي method at limit conc. والتي تساوي الـ slope مضروم على الـ SD لل method عند هذا التركيز.

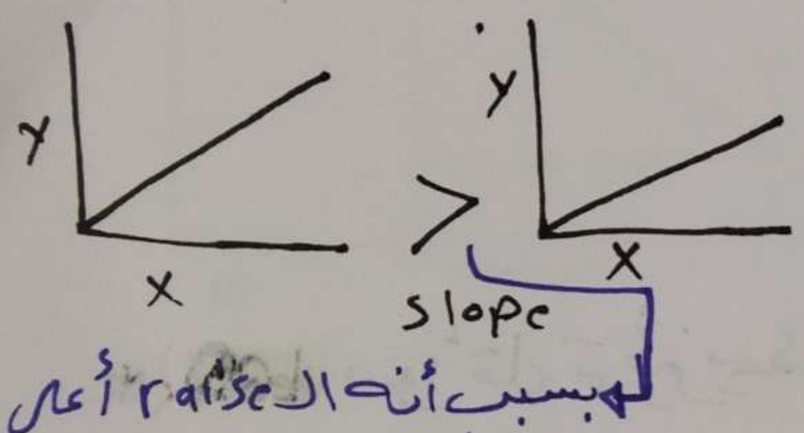
Sensitivity = $\gamma = m/Ss$

m = slope;

Ss is the standard deviation of measurement

(larger slope of calibration curve m, more sensitive measurement)

* الـ sensitivity يقاس بال slope وتعريف الـ slope هو straight و raise.



بسبب أنه الـ raise أعلى

* كل ما يزداد الـ slope الـ sensitivity تزداد يعني بفطيلي تراكيز كتيرة منيتكون الـ method more sensitive.

FIGURES OF MERIT: LIMIT of DETECTION (LOD)

Signal must be bigger than random noise of blank

Minimum signal: $\text{Signal}_{min} = \text{Av. Signal}_{blank} + k s_{blank}$

From statistics k=3 or more (at 95% confidence level)

Typically 3 times the signal-to-noise (based on standard deviation of the noise)

or

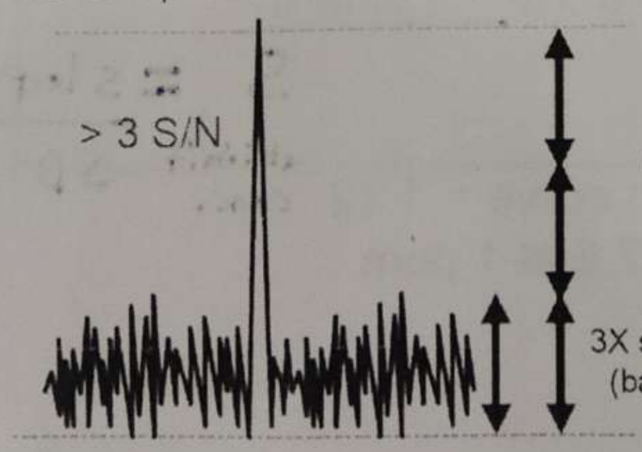
LOD = 3 x Standard deviation of blank/ Slope

$LOD = 3 \times S_b/m$

* LOD هو أقل تركيز يمكن لل method تحسسه.

* مصطلح blank يعني عينة ما منيها analyte. يعني مثلاً منقطا ماء أو تما نعكر يعني blank urine يعني ما منيه دوا ي ما منيه الـ analyte يلي بدي أحللها.

Is this peak real?



FIGURES OF MERIT: DYNAMIC RANGE

At limit of detection we can say confidently analyte is present but cannot perform reliable quantitation

LOQ (limit of quantification): [lowest] at which quantitative measurements can reliably be made. Equal to 10 x Average Signal for blank *i.e.* 10Sbl. or

LOQ= 10 x Standard deviation of blank/ Slope

LOQ=10 xSb/m

بكون أقل من 0.98 = R^2

Limit of linearity (LOL): when signal is no longer proportional to concentration

أعلى تركيز نقدر نقيسه فيه linearity الـ method سابقة أستخدمه والتركيز اللي دونه نسميه LOL.

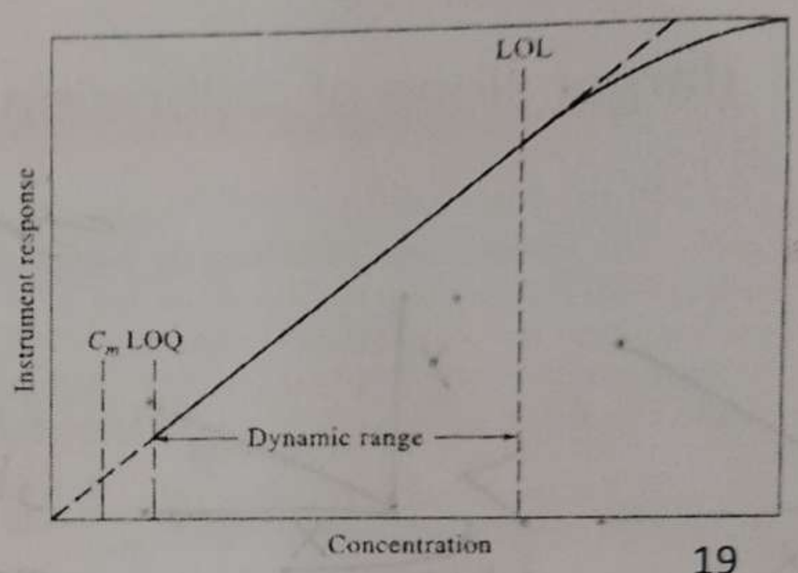
Dynamic range: the maximum range over which an accurate measurement can be made

From limit of quantitation to limit of linearity

LOQ: 10 s of blank

LOL: 5% deviation from linear

Dynamic range:	$\frac{LOL}{LOQ}$	10^2 to $> 10^6$



* LOQ هو أقل تركيز يمكن تقسيسه وبدقة عالية.
* الفرق بين الـ LOD والـ LOQ هو الدقة عشان صيغ بالـ LOQ بضرب بـ 10 بدل 3 لأنه أدق من الـ LOD وعشان صيغ كتركيز هو أعلى كمان.

Example:

An analysis of the calibration data for the determination of lead based upon its flame emission spectrum yielded an equation: $S = 1.12C + 0.312$ where C is the Pb concn in ppm and S is a measure of the relative emission intensity. The following replicate data were obtained:

* LOL أعلى تركيز يمكن قياسه وبدقة عالية.

كم مرة عادها

Concn (C), ppm	No. of replicate s	Mean value of S	Std. dev. SD
10.0	10	11.62	0.15
1.00	10	1.12	0.025
0.000	24	0.0296	0.0082

0 ← blank

response = slope conc. intercept

$Y = m * X + \text{intercept}$

$S = 1.12\,C + 0.312$

= slope

Calculate (a) the calibration sensitivity, (b) the analytical sensitivity at 1 and 10 ppm of Pb, (c) the limit of detection limit (LOD), and ,(d) the limit of quantification limit (LOQ)

$S = \text{slope}$ at limit conc. $= \frac{\text{slope}}{SD}$

Example Solution:

a) calibration sensitivity is the slope of the calibration curve = 1.12

b) Using $\gamma = m/S_s$: at 10 ppm $\gamma = 1.12 / 0.15 = 7.5$ at 1 ppm

$\gamma = 1.12 / 0.025 = 45$

c) LOD= 3 x Sb/ slope= 3 x 0.0082/1.12 = 0.0219

d) LOQ= 10 x Sb/ slope= 10 x 0.0082/1.12 = 0.0732