لجان الدفعات

PHARMACEUTICAL ANALYSIS

MORPHINE ACADEMY

Ruba Mohammad

المادة بشكل عام + لكلام الدكتور 😊

INTRODUCTION TO INSTRUMENTAL ANALYSIS

1

من خلال المادة نتعرف على كيف نستخدم الأجهزة لتحليل الأدوية والتأكد من جودتها .

2

نعرف كيف نتأكد من أن الدواء يحوي على المادة الفعالة الصحيحة وبالكمية الصحيحة .

3

نتعرف على مجموعة من الأجهزة

4

ما يكفي الحفظ ، ما تعتمد على الحفظ وحده !

5

- لازم نفهم مبدأ عمل كل جهاز
- واستخدامات كل جهاز
- تفسير النتائج
- حل مسائل حسابية

6

المادة فيها رياضيات :

- على قانون Beer-lambert
$A = \varepsilon bc$
- وحسابات على Dilution
- إيجاد تراكيز معينة
- رسم منحنى Curve وهكذا..

OUTLINE:

- تصنيف طرق التحليل

Classification of Analytical Methods

- انواع طرق التحليل الآلي

Types of Instrumental Methods

- الأجهزة المستخدمة.

Instruments for Analysis

- اختيار طريقة التحليل

Selecting an Analytical Method

- معايرة طرق التحليل

"Calibration" of an Instrumental Methods

2

Definitions

الكيمياء التحليلية :

هو علم القياسات الكيميائية

Analytical Chemistry: The Science of Chemical Measurements.

فصله
فياسه
دراسته
← العادة أو المركب الذي يتم

Analyte: The compound or chemical species to be measured, separated or studied.

(1) (2) (3)

• التحليل الآلي النوعي

• يقيس خاصية تدل على وجود الـ analyte في الـ matrix.

Qualitative instrumental analysis is that measured property that indicates *presence* of analyte in matrix

• التحليل الآلي الكمي

• هنا يقيس مقدار* خاصية مرتبطة بتركيز الـ analyte في الـ matrix

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

→ Qualitative : يحدد وجود الـ analyte

→ Quantitative : يحدد تركيز الـ analyte

3

CLASSICAL AND INSTRUMENTAL METHODS

الطرق الكلاسيكية

CLASSICAL: يتم التعرف عليها من خلال:

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

نوعي

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

كمي

التحليل الوزني . التحليل الحجمي

الطرق الآلية

INSTRUMENTAL:

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

تحديد النوع مثلاً حسب نوع الطول الموجي الذي يمتصه.

* مثال : البارا سيتامول يمتص طول موجي معين.

التحليل الطيفي . الجهد القطبي

• يتم استخدام كل من الكروماتوغرافيا والفصل الكهربائي . التعرف على الخاصية الفيزيائية (مثل التحليل الطيفي, الجهد القطبي) في التحليل النوعي

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

حساب التركيز

القياس الطيفي الضوئي

طيفانية الكتلة.

في التحليل النوعي والكمي غالبًا يتم استخدام نفس الطريقة الآلية.

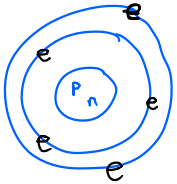
Types of Instrumental Methods

Example methods

التقنية الرئيسية	الخاصية المقاسة	طرق قياسية
Spectroscopy Technique تقنيات طيفية	Radiation emission الانبعاث الاشعاعي	Emission spectroscopy, طيفية الانبعاث fluorescence, الفلورة phosphorescence, luminescence الفسفورة الوميض الضوئي
	Radiation absorption الامتصاص الاشعاعي	Absorption spectroscopy طيفية الامتصاص spectrophotometry, photometry, القياس الضوئي nuclear magnetic resonance NMR الرنين المغناطيسي النووي
Electrical Technique تقنيات كهربائية * معتمدة على الشحنة	Electrical potential جهد كهربائي	Potentiometry قياس الجهد
	Electrical charge الشحنة الكهربائية	Coulometry قياس كمية كهربائية
	Electrical current التيار الكهربائي	Voltammetry - amperometry, قياس الفولتية polarography التحليل البولاروغرافي التحليل الأمبيري
	Electrical resistance مقاومة الكهربائية	Conductometry قياس الموصلية الكهربائية
Thermal Technique تقنيات حرارية	Thermal الحرارية	Thermal gravimetry, calorimetry التحليل الوزني الحراري قياس التغيرات الحرارية

تقنية قديمة.

Types of Instrumental Methods



Spectroscopy technique:

يكون عندي مصدر ضوئي (Energy/Light source) (طاقة) يسقط على عينة (Sample)، العينة (إذا العامل النوعي ثابت) يجعل تهيج للإلكترونيات (Excitation of electrons) يشع طاقة فـَ بـِتعرف من خلال (Detector / كاشف) عشان أقدر أحدد نوع العنصر.

Radiation absorption:

الاستهلاك : يخص الـ organic compounds

الفرق بين كمية الطاقة الداخلة والخارجة هي كمية الطاقة التي امتصت (Absorbed energy).

Radiation emissio

التوهج عند فقد الـ e

ويعطي اطوال موجية

مهم * مش كل الطاقة التي سقطت حيصير لها انبعاث (Emission)، ولا حتى بنفس العنصر عادةً، بنحددها من خلال (Detector / كاشف) تحولها لـِ رقم (Digit).

Electrical technique:

لازم يكون عندي تغير بالـ pH، والمحفز بهاد الجهاز هوه كهرباء (Electricity) لكن اختلاف الأشياء إلي بقيسها.

Thermal technique

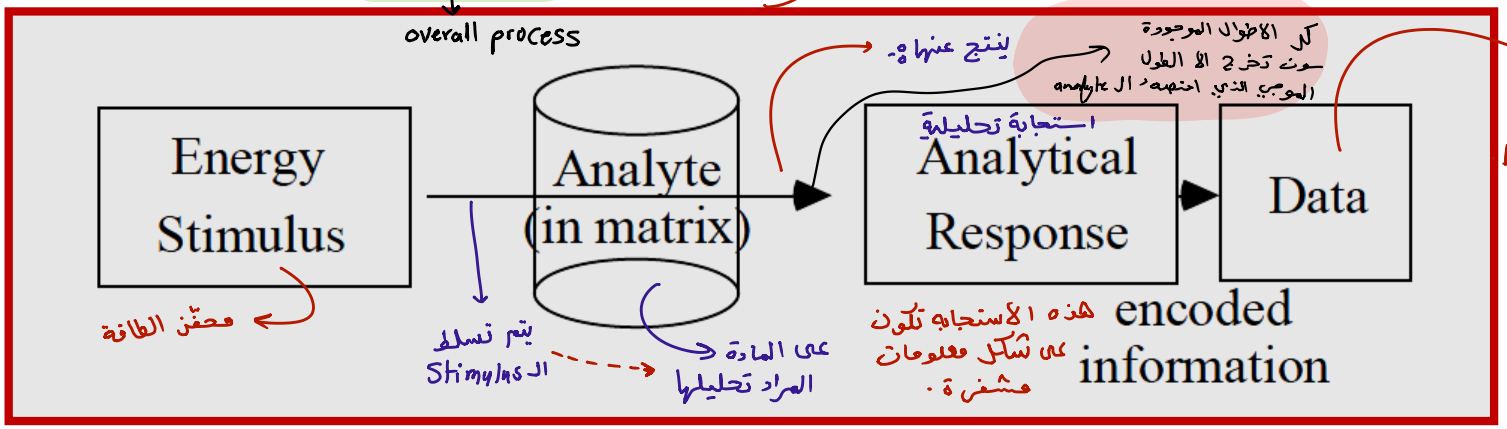
المحفز هو الطاقة الحرارية (Thermal energy).

Instrumental Methods

* كل ما قل الطول الموجي زادت الطاقة.
* كل ما زاد الطول الموجي قلت الطاقة.

هذه هي العملية الإجمالية للقياس الآلي

overall process



Block diagram for the overall process of instrumental measurement.

Example:		**spectrophotometry** القياس الطيفي الضوئي
Instrument:	الجهاز	**spectrophotometer** المطياف الضوئي
Stimulus:	المحفز	**monochromatic light energy** طاقة ضوئية أحادية اللون.
Analytical response:	الاستجابة	**light absorption** الاستجابة: امتصاص الضوء.
Transducer:	المحوّل	**photocell** خلية الضوء
Data:		**electrical current** التيار الكهربائي
Data processor:	المعالج	**current meter** المعالج هو مقياس التيار.
Readout:	وحدة القراءة.	**meter scale** مقياس مدرج

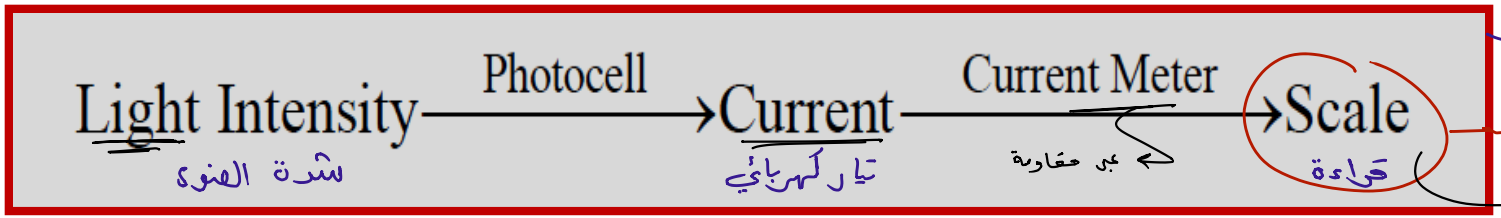
مجالات البيانات: طريقة تشفير الاستجابة التحليلية في إشارات كهربائية أو غير كهربائية.

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

Interdomain conversions: transform information from one domain to another.

يتم تحويل (شدة الضوء) الى (تيار كهربائي) عن طريق Photocell التي تعمل كـ (Transducer) وعن طريق مقياس التيار الكهربائي يتم تحويل التيار الى قراءة

من الآخر



رقم

ليتم معرفة quantity ال

Detector الكاشف

device that indicates change in environment

يكتشف التغيرات في البيئة.

من الآخر:

- كل من الجهازين يقومون بالتحويل الى electrical data
لكن الـ Transducer يحول البيانات غير الكهربائية
بينما الـ Sensor يحول الخصائص.

Transducer

device that converts non-electrical to electrical data

يقوم على تحول البيانات غير الكهربائية الى كهربائية.

مثل UV

Sensor

device that converts physical, chemical or biological properties to electrical data

- الخصائص الى بيانات كهربائية

مثل PH Meter و thermometer

Block diagram of a fluorometer

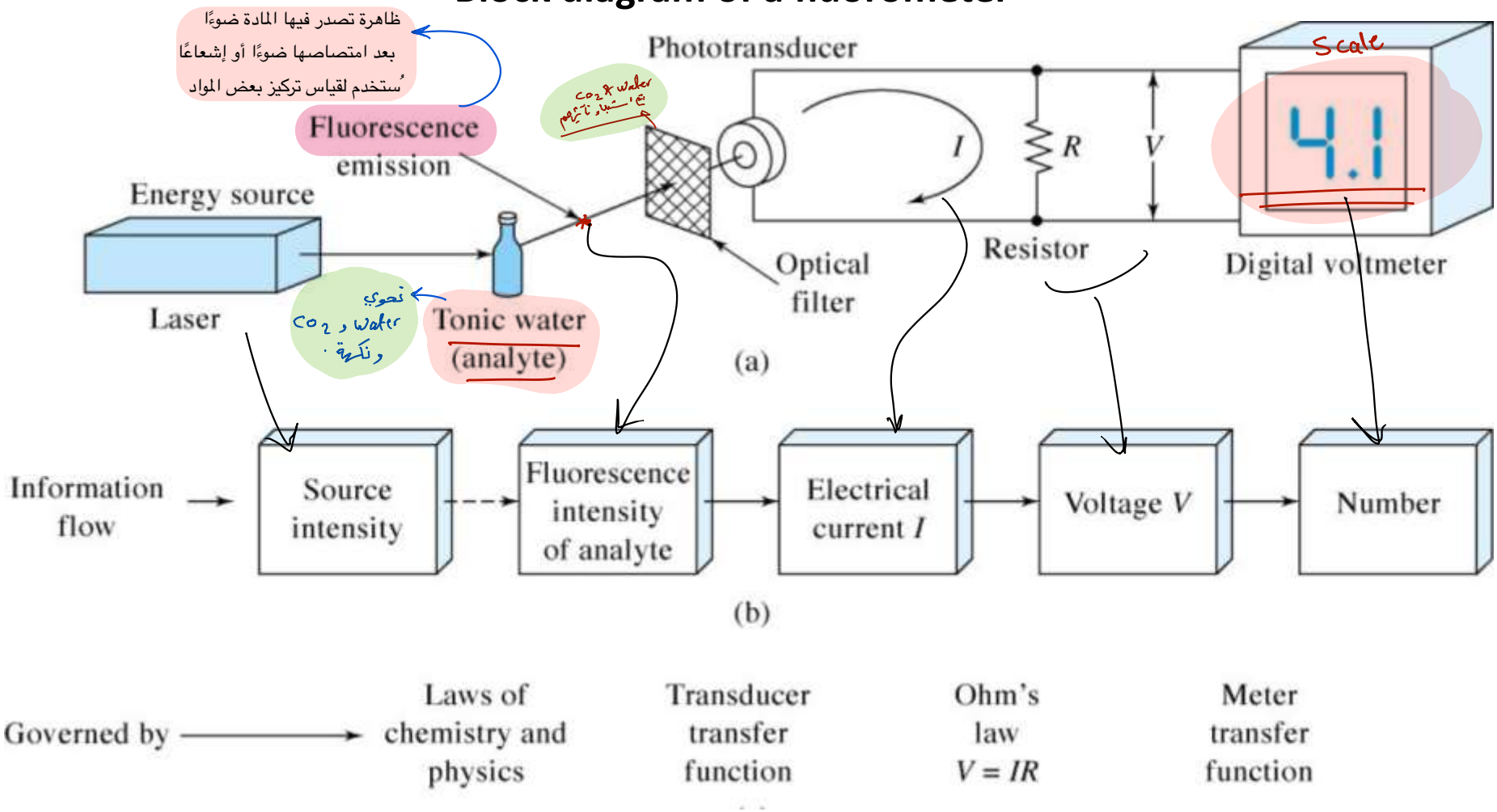


FIGURE 1-3 A block diagram of a fluorometer showing (a) a general diagram of the instrument, (b) a diagrammatic representation of the flow of information through various data domains in the instrument, and (c) the rules governing the data domain transformations during the measurement process.

Figures of Merit

Performance Characteristics: Figures of Merit

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

الخطية

إلى أي مدى يتبع منحنى المعايرة خطًا مستقيمًا؟

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

العلاقة بين الاستجابة والتركيز معادلة خطية.
• Conc inc↑ , the response inc↑

كل الآتي مفاهيم بشكل عام

الدقة

ما مدى قابلية النتائج للتكرار؟

How reproducible? – **Precision**

الصحة / الانحياز

ما مدى قرب النتيجة من القيمة الحقيقية؟

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

الحساسية

ما أصغر فرق يمكن قياسه؟

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

المدى الديناميكي

ما مدى نطاق الكميات التي يمكن قياسها؟

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

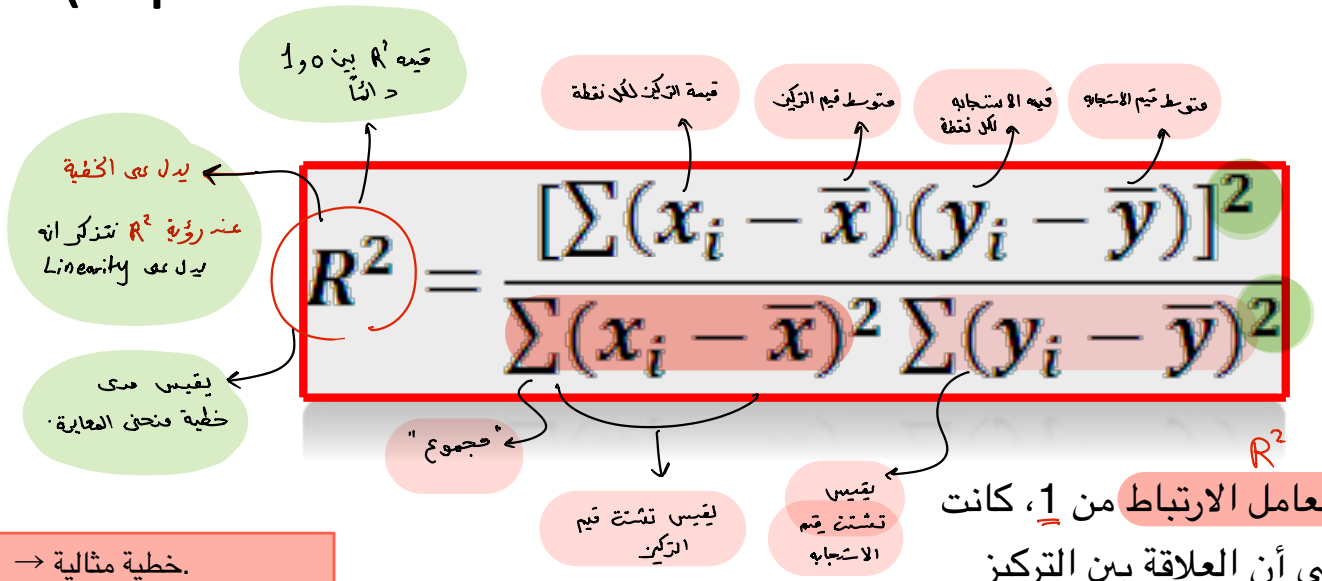
الانتقائية

ما مقدار التداخل الموجود؟

How much interference? - **Selectivity**

FIGURES OF MERIT: Linearity

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

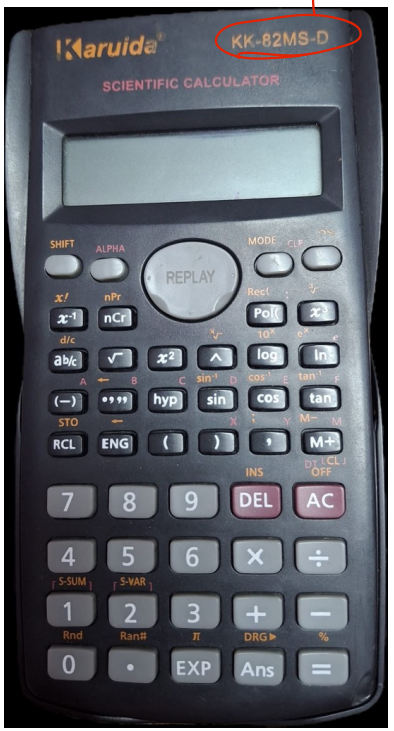


كلما اقتربت قيمة مربع معامل الارتباط R^2 من 1، كانت الخطية أفضل، وهذا يعني أن العلاقة بين التركيز والاستجابة تكون أقرب إلى الخط المستقيم

* $R^2 = 1$ → خطية مثالية.
* R^2 → خطية ممتازة قريب جدًا من 1.
* R^2 → خطية ضعيفة أقل بكثير من 1

https://youtu.be/GG3sJYuwAKc?si=uBxL0MoL6U2S6fyS ← فيديو الطريقة

FIGURES OF MERIT: Linearity



نوع يلي عندي

بإستخدام آله الحاسبه لحساب R^2 -

1. اضغط MODE.

2. اختر REG (رقم 3).

3. اختر Lin (1).

4. اضغط SHIFT ثم MODE ثم اختر Scl (1).

5. اضغط AC

مثال :

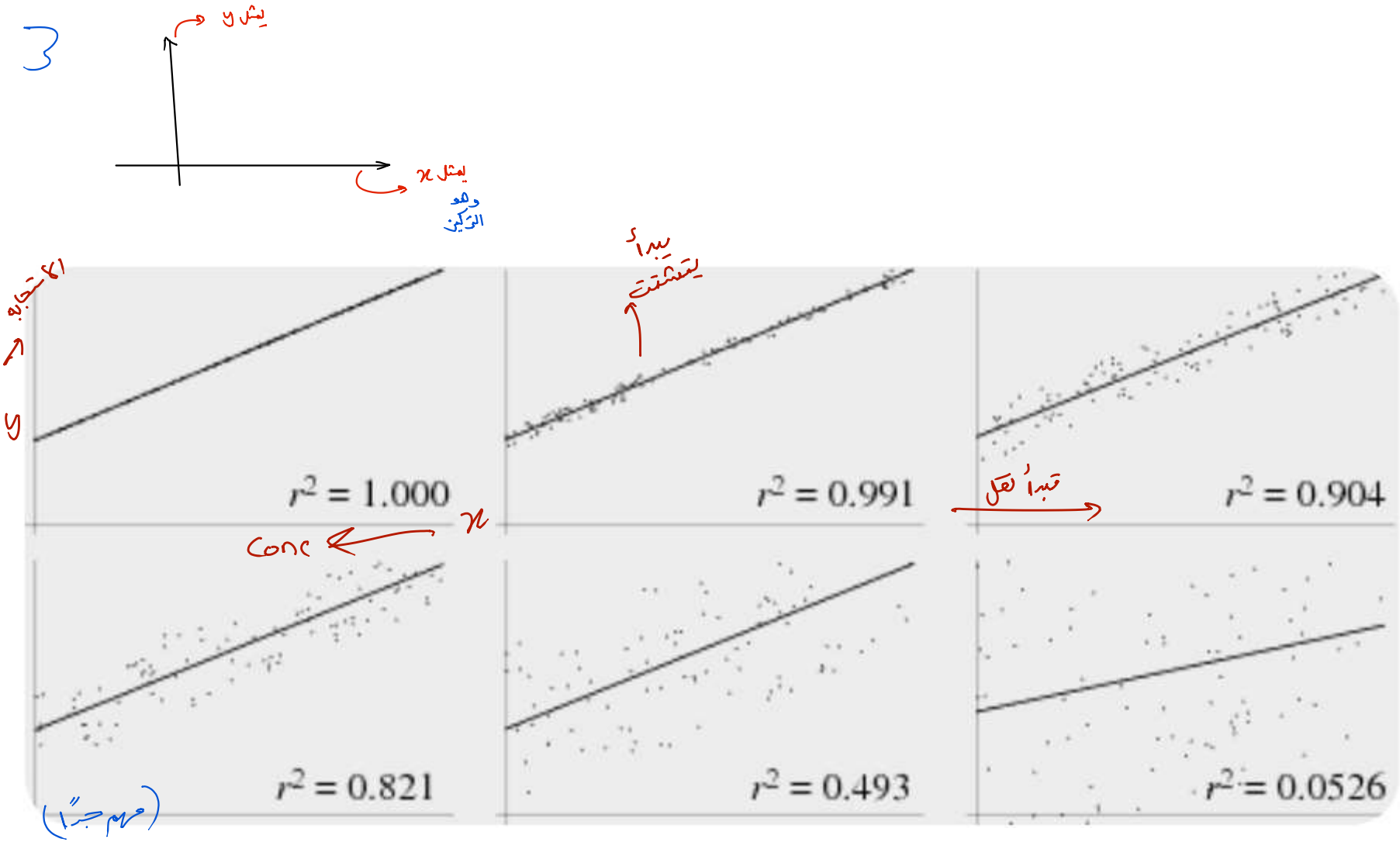
6. أدخل قيم x و y، وافصل بينهم بـ (فاصلة)

ثم اضغط M+ بعد كل زوج من القيم حتى يظهر n = 1 ثم n = 2 وهكذا

7. بعد الانتهاء، اضغط SHIFT + 2 (ثم ①)، تحرك لليمين ب

ثم اختر r (الخيار رقم 3)، = لعرض قيمة r. ← احنا نريد r للحصول على R^2

8. للحصول على R^2، اضغط زر x^2 بعد ظهور قيمة r



* $R^2 = 1$ → خطية مثالية.
* R^2 خطية ممتازة → 1 قريب جدًا من.
* R^2 خطية ضعيفة → 1 أقل بكثير من

FIGURES OF MERIT: PRECISION الدقة

تعني تقارب النتائج من بعضها عند تكرار القياس، وليس قربها من القيمة الحقيقيه

INDETERMINATE OR RANDOM ERRORS

الأخطاء غير المحددة أو العشوائية

الانحراف المعياري

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

استجابه لكل قياس — متوسط الاستجابات — عدد مرات التكرار

إذا كانت قيمة s عالية فهذا يعني أن النتائج ليست دقيقة (يوجد تشتت كبير بين القياسات)

التباين

Variance: s^2 ← مربع الانحراف المعياري

الانحراف المعياري النسبي

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

تناسب طردي — تناسب عكسي

يستخدم للمقارنة بين دقة النتائج، وكلما كانت قيمة RSD أصغر كانت الدقة أفضل

الانحراف المعياري للمتوسط

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

كلما زاد عدد مرات التكرار (N) قلّ الانحراف المعياري للمتوسط، وأصبح المتوسط أكثر موثوقية

FIGURES OF MERIT: ACCURACY

يكون مثلاً من الشركة عيادة معينة اعتبرها x_{true} مرجع

DETERMINATE ERRORS (operator, method, instrumental)

قيمه مرجعية

$$\text{Bias:} \quad \text{bias} = \bar{x} - x_{true}$$

متوسط النتائج المقاسة $\bar{x}$

* الصحة تعني مدى قرب النتيجة من القيمة الحقيقية.
* إذا كان الفرق بين متوسط النتائج والقيمة الحقيقية كبيرًا، فهذا يعني أن الصحة منخفضة.
* إذا كان الفرق صغيرًا أو يساوي صفرًا، فهذا يعني أن الصحة عالية

واذا كان كبير يكون الجهاز مش تمام !

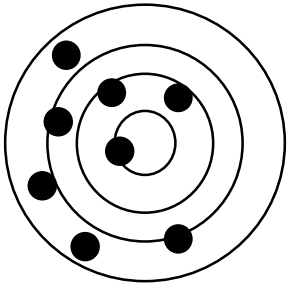
قرب النتائج من القيمة الحقيقية / المرجعية .

تقارب النتائج من بعض

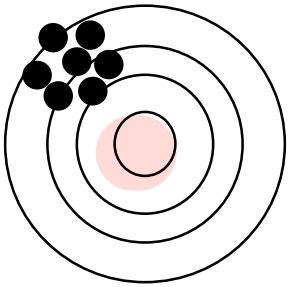
Accuracy و precision الفرق بين

* الدقة ← مقارنة بين القياسات مع بعضها.
* الصحة ← مقارنة بين متوسط القياسات والقيمة الحقيقيه

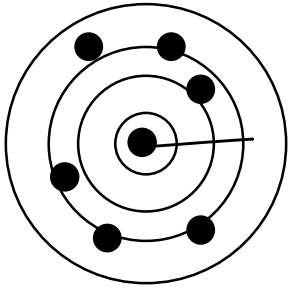
Illustrating the difference between "accuracy" and "precision"



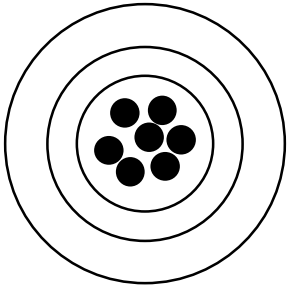
Low accuracy, low precision



Low accuracy, high precision

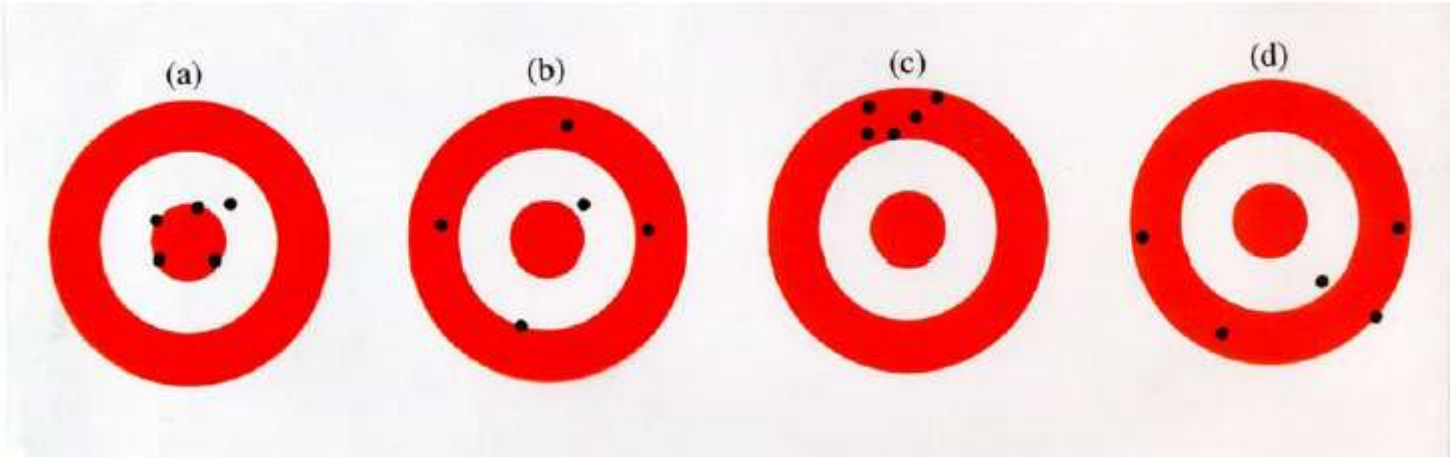


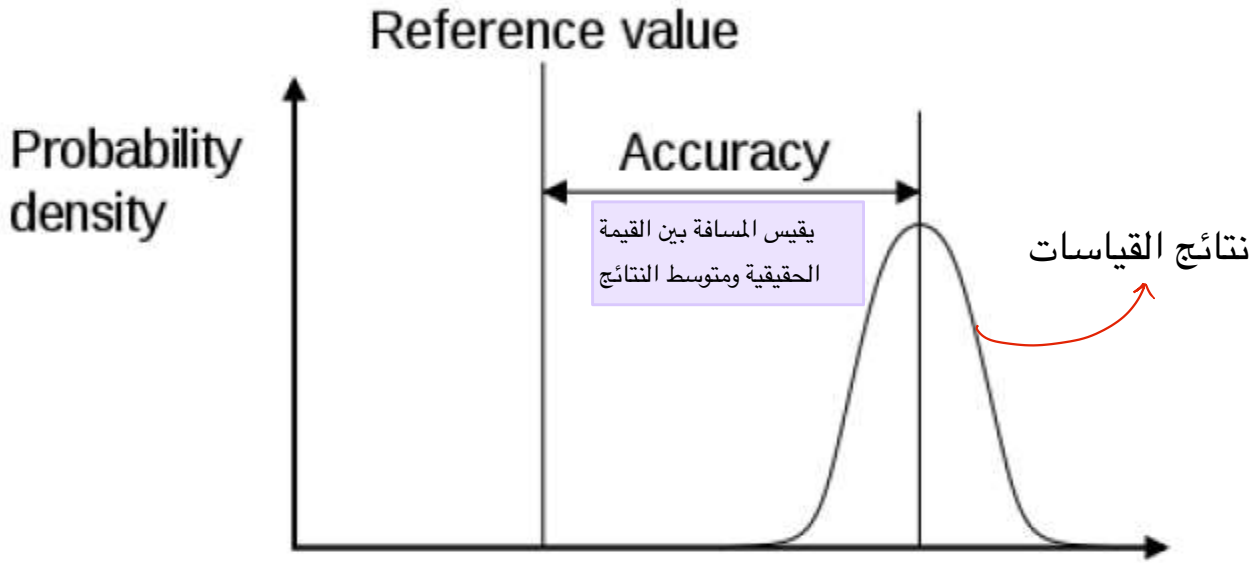
High accuracy, low precision



High accuracy, high precision

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.

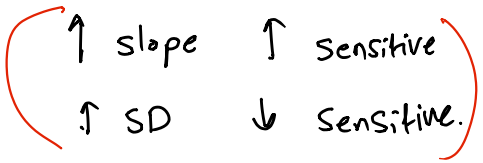
تتأثر بميل منحنى المعايرة

Sensitivity = γ= m/Ss

m = slope;

Ss is the standard deviation of measurement

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



(كلما كان ميل منحنى المعايرة أكبر، كانت الحساسية أعلى.)

الحساسية تعني قدرة الجهاز على ملاحظة حتى التغيرات الصغيرة جدًا في التركيز

FIGURES OF MERIT: LIMIT of DETECTION (LOD)

Signal must be bigger than random noise of blank

يعني بدون analyte.

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)

عادة ما تكون الإشارات أكبر بـ 3 مرات.

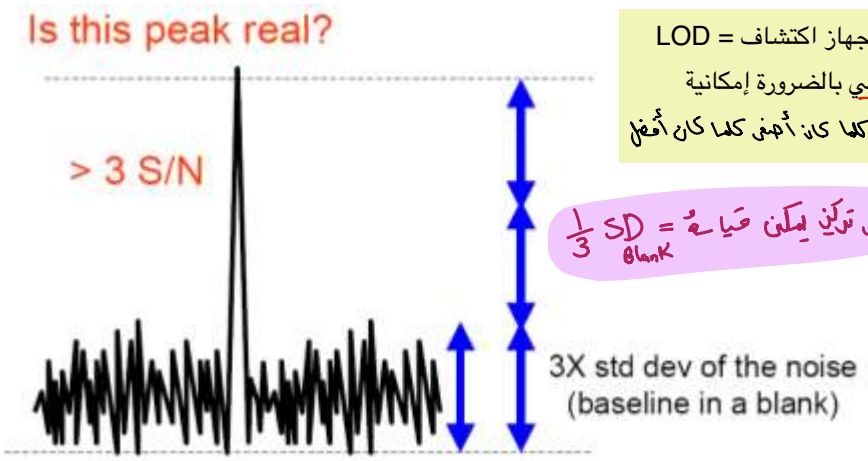
or

LOD =3 x Standard deviation of blank/ Slope

$LOD = 3 x S_b / m$

$LOD = \frac{3 \times S_b}{m}$

اعتمادًا على S للضوضاء.



* أقل تركيز يمكن للجهاز اكتشاف = LOD وجوده، لكنه لا يعني بالضرورة إمكانية قياسه بدقة. + كلما كان أدنى كلما كان أفضل

$\frac{1}{3} SD_{Blank}$ = أقل تركيز يمكن قياسه

طردي

$LOD = \frac{3 * S_b}{m}$

عكسي

* العينة الفارغة (Blank) لا تحتوي على المادة المراد تحليلها، لكن الجهاز قد يعطي إشارة صغيرة بسبب الضوضاء (Noise) ← لذلك يجب أن تكون الإشارة أكبر بعوامل عدة من الضوضاء.

* إذا زاد الميل (m) ⟶ تقل قيمة LOD ⟶ يصبح الجهاز قادرًا على كشف تراكيز أصغر (أفضل).

* إذا زاد الانحراف المعياري للعينة الفارغة (Sb) ⟶ تزداد قيمة LOD ⟶ تقل قدرة الجهاز على الكشف عن التراكيز الصغيرة.

FIGURES OF MERIT: DYNAMIC RANGE

At limit of detection we can say confidently analyte is present but cannot perform reliable quantitation لا يمكن إجراء قياس كمي موثوق

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

بصورة موثوقة
بدقة عن الـ LOD

LOQ =10 x Standard deviation of blank/ Slope

LOQ=10 xSb/m

LOD → 3 أمثال
LOQ → ١٠ أمثال

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

النقطة التي تصبح عندها الإشارة غير متناسبة مع التركيز

Dynamic range: the maximum range over which an accurate measurement can be made أكبر مدى يمكن إجراء قياس دقيق ضمنه

يمتد من حد التقدير الكمي (LOQ) إلى حد الخطية (LOL)

LOQ

From limit of quantitation to limit of linearity LOL

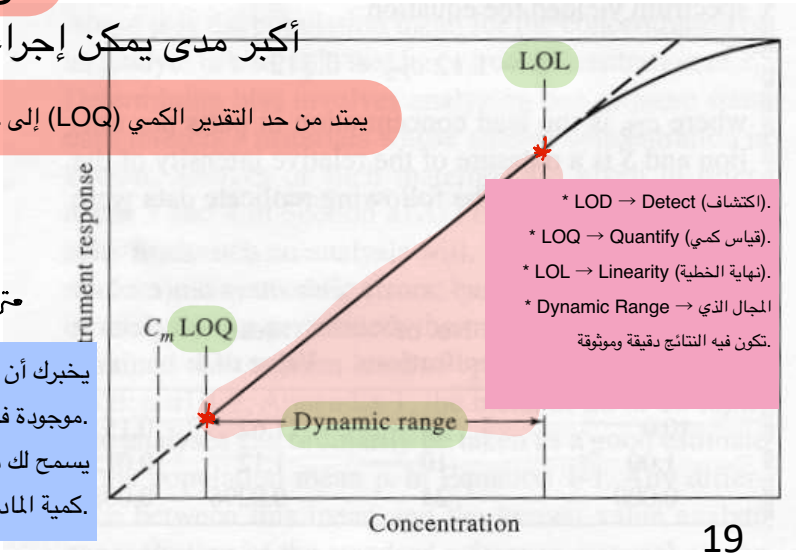
LOQ: 10 s of blank

LOL: 5% deviation from linear → متى يحدث ؟

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

الفرق

* LOD: يخبرك أن المادة موجودة فقط.
* LOQ: يسمح لك بقياس كمية المادة بدقة وموثوقية.



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:

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

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)

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

CALIBRATION METHODS

Basis of *quantitative* analysis is magnitude of *measured property* is proportional to *concentration* of analyte

قيمة الخاصية المقاسة تتناسب طرديًا مع تركيز المادة المراد تحليلها

بمعنى أنه كلما زاد تركيز المادة، زادت الإشارة التي يقيسها الجهاز (مثل الامتصاص أو شدة الانبعاث)، لذلك يمكن استخدام الإشارة لتحديد تركيز المادة

$$\text{Signal} \propto [x] \quad \text{or} \quad \text{Signal} = m[x] + \text{Signal}_{\text{blank}}$$

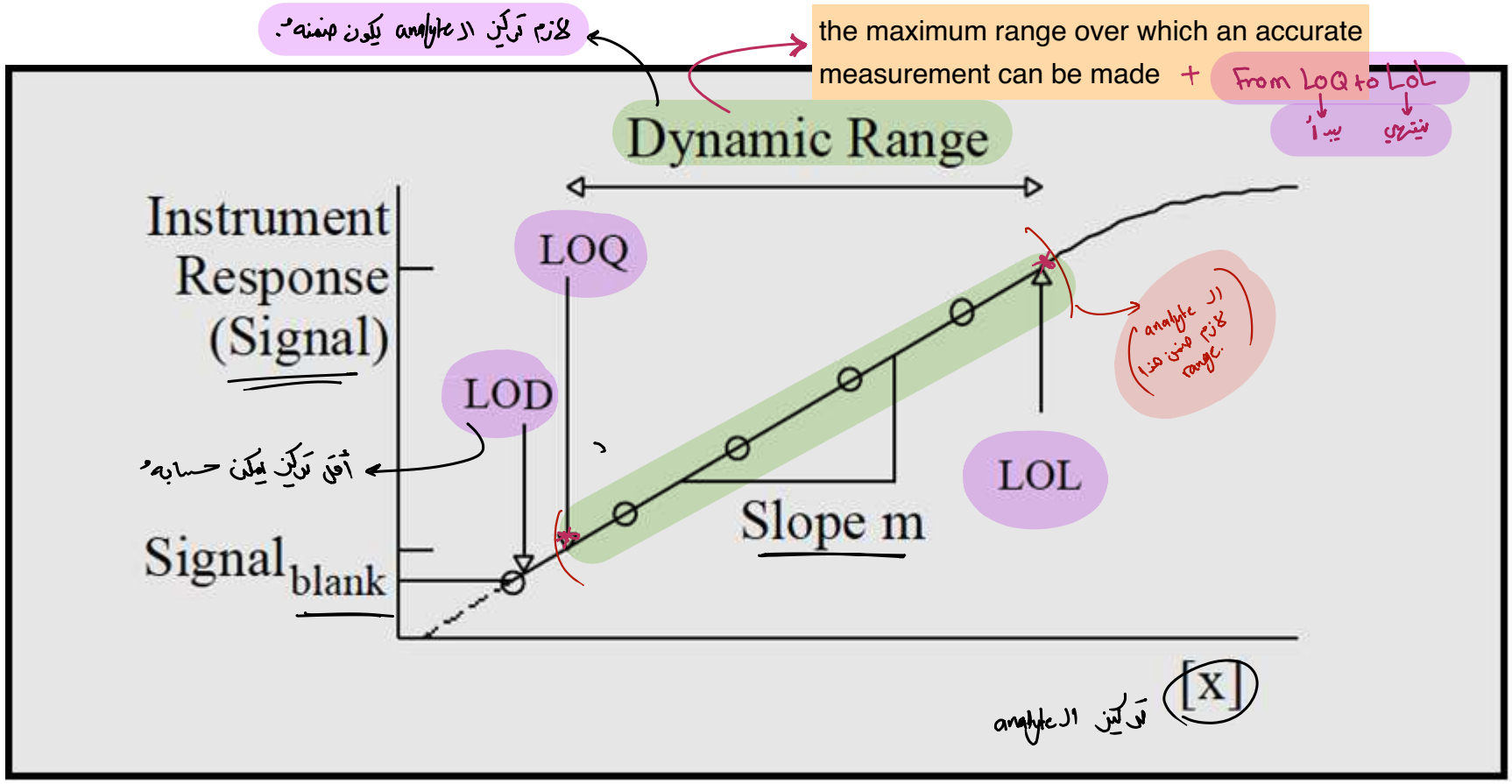
$$[x] = \frac{\text{Signal} - \text{Signal}_{\text{blank}}}{m}$$

تناسب عكسي الميل و تركيز الـ analyte

* كلما زاد الـ Slope يقل تركيز الـ analyte .
* وكلما قل الـ Slope يزداد تركيز الـ analyte .

Intercept الـ هنا هو عبارة عن Signal blank. الـ

CALIBRATION CURVES (WORKING or ANALYTICAL)



SAMPLE PROBLEM:

Analyte Concentration (ppm*)	Absorbance
0.0 (blank) (no analyte.)	0.05 y_1
0.9	0.15 y_2
2.0	0.24 y_3
3.1	0.33 y_4
4.1	0.42 y_5

$y = \text{slope} \cdot x \pm \text{intercept}$

analyte conc. (x)

Define Variance and Covariance:

$$S_{xx} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{N-1} \qquad S_{xy} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{N-1}$$

$$\bar{x} = 2.02 \quad \bar{y} = 0.238$$

$$S_{xx} = \frac{\left(2.02^2 + 1.12^2 + 0.02^2 + 1.08^2 + 2.08^2\right)}{4} = \frac{10.828}{4} = 2.707$$

$$S_{xy} = \frac{(-2.02 \times -0.188) + (-1.12 \times -0.088) + (-0.02 \times 0.002) + \ldots}{4}$$

$$= \frac{0.9562}{4} = 0.23905$$

$$\text{Slope: } m = \frac{S_{xy}}{Sx} = \frac{0.23905}{2.707} = 0.0883$$

$$b = \bar{y} - m\bar{x}$$

$$\text{Intercept: } = 0.238 - (0.0883 \times 2.02)$$

$$= 0.0596$$

Calibration expression is

Absorbance=0.0883[Analyte (ppm)]+0.0596

المعطيات في السؤال (قيم x و y)
ولكن منزم حساب $\bar{y}$, $\bar{x}$
+ حساب S_{xy} و S_{xx} التي لكن منزم
حساب الميل وعند حساب الميل لكن
حساب الـ Intercept
والمطلوب هنا إيجاد معادلة منحنى المعايرة.

$y = m x + \text{Intercept}$

$y = 0.0883x + 0.0596$

x ← Conc. for analyte (ppm)

Calibration Techniques

Calibration Techniques

- 1. External Calibration Curve Method
- 2. Standard Additions Method
- 3. Internal Standard Method

كيف تُستخدم كل طريقة ومتى نختارها

External Calibration Curve Method

لماذا (الكثير) استخدمت

عدد كبير من العينات المتشابهة

1. Most convenient when a large number of similar samples are to be analyzed.

2. Most common technique.

معايير تقييم الأداء

3. Facilitates calculation of Figures of Merit.

في هذه الطريقة نُحضّر مجموعة من المحاليل القياسية ذات تراكيز معروفة*، ثم نقيس إشارتها ونرسم منحنى معايرة. بعد ذلك نقيس إشارة العينة المجهولة* ونستخدم المنحنى لمعرفة تركيزها

تراكيز معروفة ← قياس إشارة ← منحنى معايرة
← قياس إشارة لـ unknown ← حساب تركيزه

External Calibration Curve Procedure

المحاليل القياسية

1. Prepare a series of standard solutions (analyte solutions with known concentrations).

رسم تركيز المادة المراد تحليلها مقابل الإشارة التحليلية

2. Plot [analyte] vs. Analytical Signal.

3. Use signal for unknown to find [analyte].

والعلاقة : $S = mC + SD_{blank}$

* المحور الأفقي x = التركيز.
* المحور العمودي y = الإشارة التحليلية

Example: Pb in Blood by GFAAS

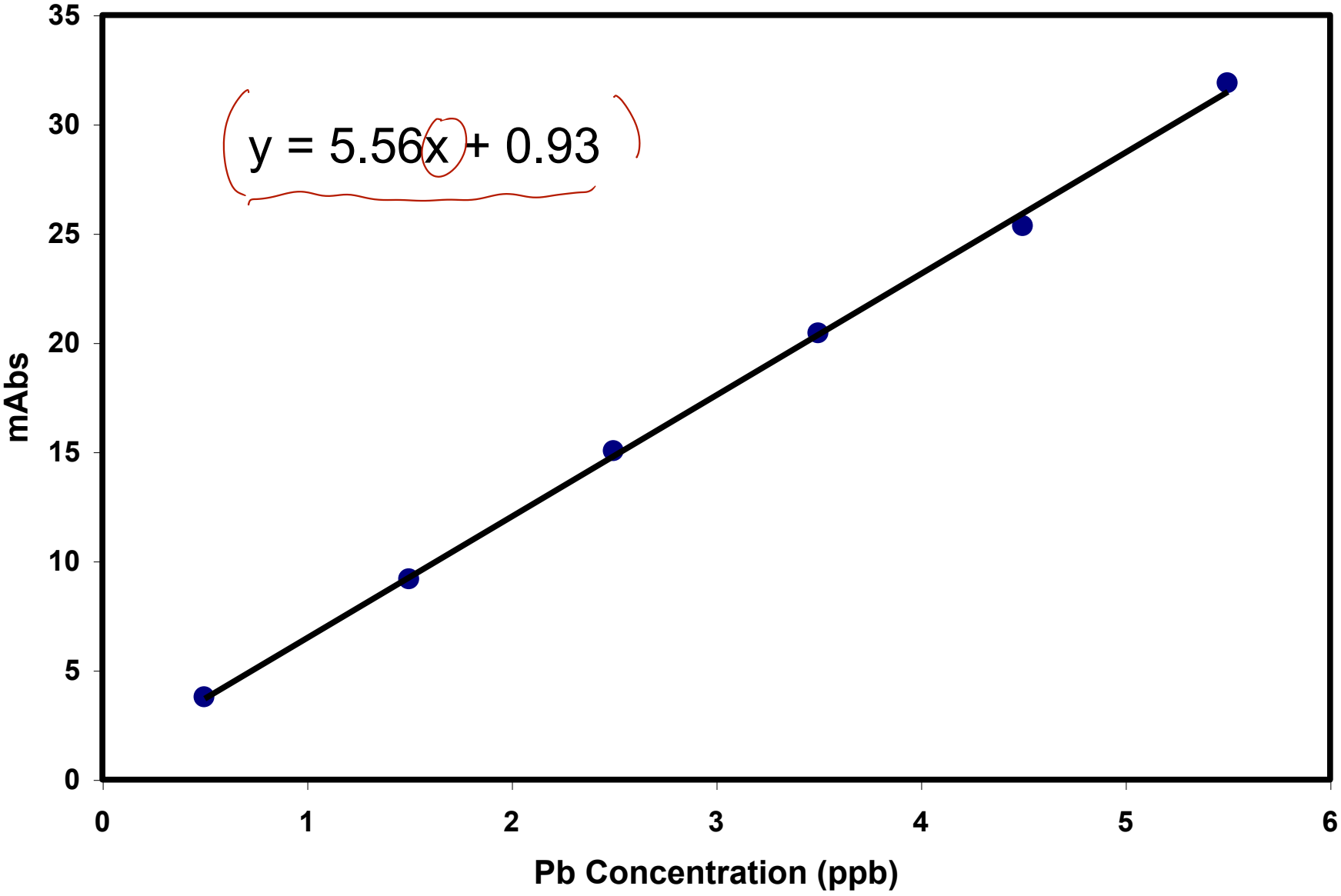
[Pb] (ppb)	Signal (mAbs)
0.50	3.76
1.50	9.16
2.50	15.03
3.50	20.42
4.50	25.33
5.50	31.87

Results of linear regression:

$$S = mC \pm b$$

$$m = 5.56 \text{ mAbs/ppb}$$

$$b = 0.93 \text{ mAbs}$$


y = 5.56x + 0.93
mAbs
Pb Concentration (ppb)
0
5
10
15
20
25
30
35
0
1
2
3
4
5
6

Calculate the LOD for Pb

20 blank measurements gives an average signal

0.92 mAbs

with a standard deviation (Sb) of

$$\sigma_{bl} = 0.36 \text{ mAbs}$$

LOD = 3 Sb/m = 3 x 0.36 mAbs / 5.56 mAbs/ppb

LOD = 0.2 ppb

Find the LOL for Pb

Lower end = LOD = 0.2 ppb

(include this point on the calibration curve)

$$S_{LOD} = 5.56 \times 0.2 + 0.93 = 2.0 \text{ mAbs}$$

* تعويض LOD مكان c في $S = mc + b$

(0.2 ppb (X) , 2.0 mAbs (Y))

Find the LOL for Pb

نحن نزيد تركيز الرصاص إلى قيم عالية جدًا ، ونراقب متى يبدأ المنحنى بالانحراف عن الخط المستقيم

ثم نبحث عن النقطة التي عندها تكون الإشارة الحقيقية قد انحرفت بنسبة 5% عن الإشارة التي كان يجب أن تكون عليها حسب الخط المستقيم.

Upper end = collect points beyond the linear region and estimate the 95% point.

مثال

Suppose a standard containing 18.5 ppb gives rise to s signal of (Y practical= 98.52 mAbs)

لتعويض مكان c

عمليًا

This is approximately 5% below the expected value of (Y theoretical=103.71 mAbs)

الإشارة المتوقعة

(18.50 ppb , 98.52 mAbs)

تركيز جواب التعويض.

ومنهم نحسب مقدار و نسبه الانحراف -ve

*مقدار الانحراف هو الفرق بين Practical & theoretical

*والنسبه قسمه الفرق على theoretical وضرب ب 100 في المقام.

نسبة الانحراف = $\frac{\text{theoretical} - \text{practical}}{\text{theoretical}} \times 100\%$

Standard Addition Method

Reduce matrix effect

جميع مكونات العينة الموجودة مع المادة التي نريد قياسها ← ما هي

1. Most convenient when a small number of samples are to be analyzed.

2. Useful when the analyte is present in a complicated matrix (معقدة) and no ideal blank is available. (ولا يتوفر محلول فارغ مثالي)

Standard Addition Procedure

1. Add one or more increments of a standard solution to sample aliquots of the same size. Each mixture is then diluted to the same volume.

خفف كل خليط إلى الحجم النهائي نفسه

2. Prepare a plot of Analytical Signal versus:

حجم المحلول القياسي المضاف

a) volume of standard solution added, or

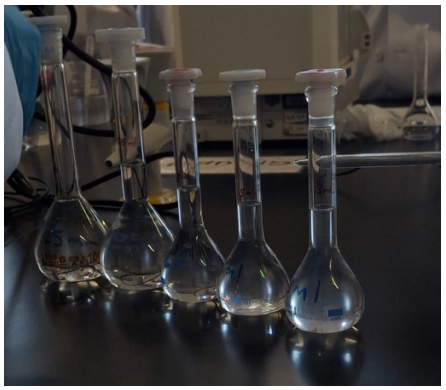
تركيز المادة المراد تحليلها المضافة.

b) concentration of analyte added.

لماذا نخفف إلى نفس الحجم؟

حتى يكون الاختلاف في الإشارة ناتجًا عن **كمية المادة القياسية المضافة**، وليس بسبب اختلاف حجم المحاليل

نفسها تجربة (3) بـ كاب التحليل :-



Standard Addition Procedure

3. The x-intercept of the standard addition plot corresponds to the amount of analyte that must have been present in the sample (after accounting for dilution).

بعد أخذ التخفيف بعين الاعتبار

4. The standard addition method assumes:

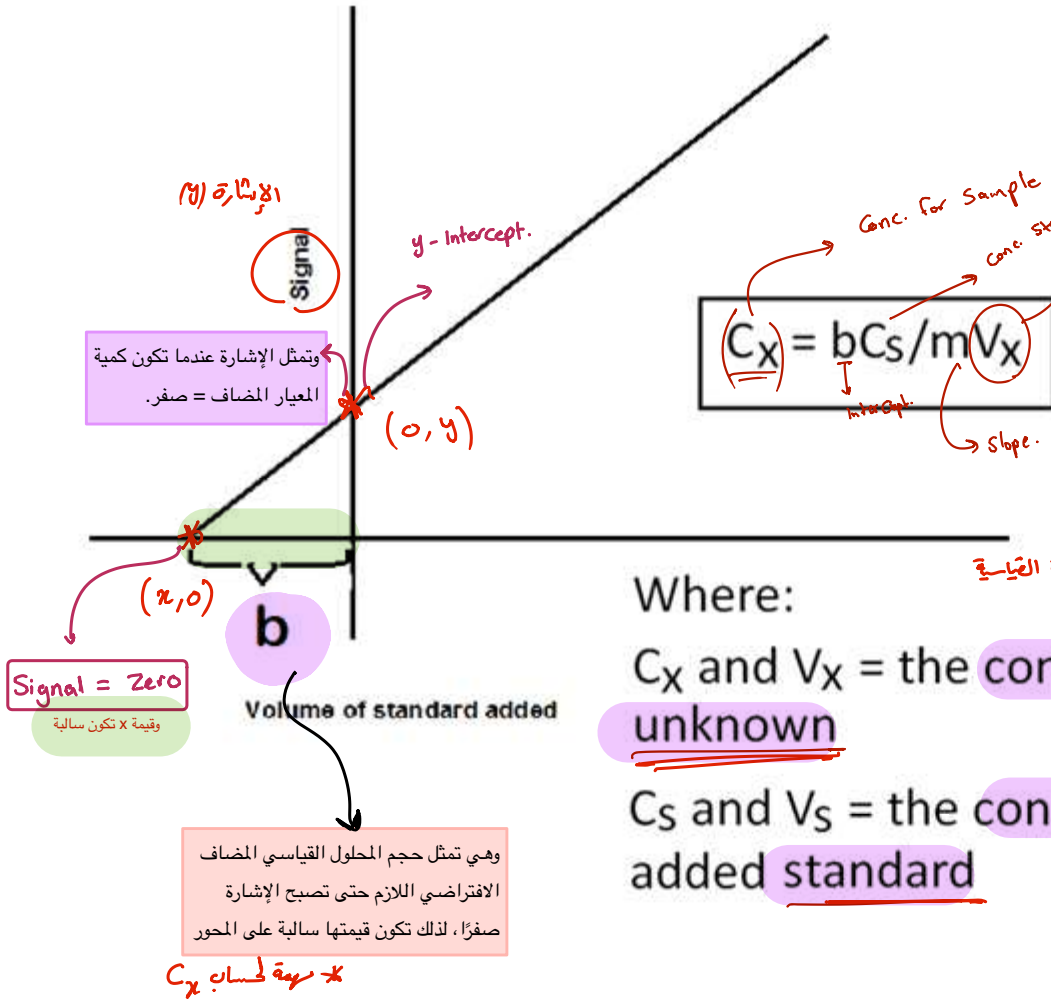
أن يكون المنحنى خطيًا ضمن مدى التراكيز المستخدم

a) the curve is linear over the concentration range

أن يكون المقطع الصادي لمنحنى المعايرة مساويًا للصفر.

b) the y-intercept of a calibration curve would be 0

Calculation of standard addition



$$C_x = \frac{b\,C_s\,V_s}{m\,V_x}$$

* Cx = تركيز المادة المجهولة.
* Vx = حجم العينة المجهولة.
* Cs = تركيز المحلول القياسي.
* Vs = حجم المحلول القياسي المضاف.
* m = ميل الخط.
* b = قيمة التقاطع مع محور x

$$C_x = bCs/mV_x$$

Conc. for Sample
Conc. Standard Sol.
عادة الـ Sample بالمثال 10 ml.
Intercept.
Slope.

وقيمة x تكون مرتبطة بكمية المادة الموجودة أصلًا في العينة

Where:

C_x and V_x = the concentration and the volume of unknown

C_s and V_s = the concentration and the volume of added standard

Example: Fe in Drinking Water

Sample Volume (mL)	Standard Volume (mL)	Signal (V)
10	0	0.215
10	5	0.424
10	10	0.685
10	15	0.826
10	20	0.967

ثابت

يتغير

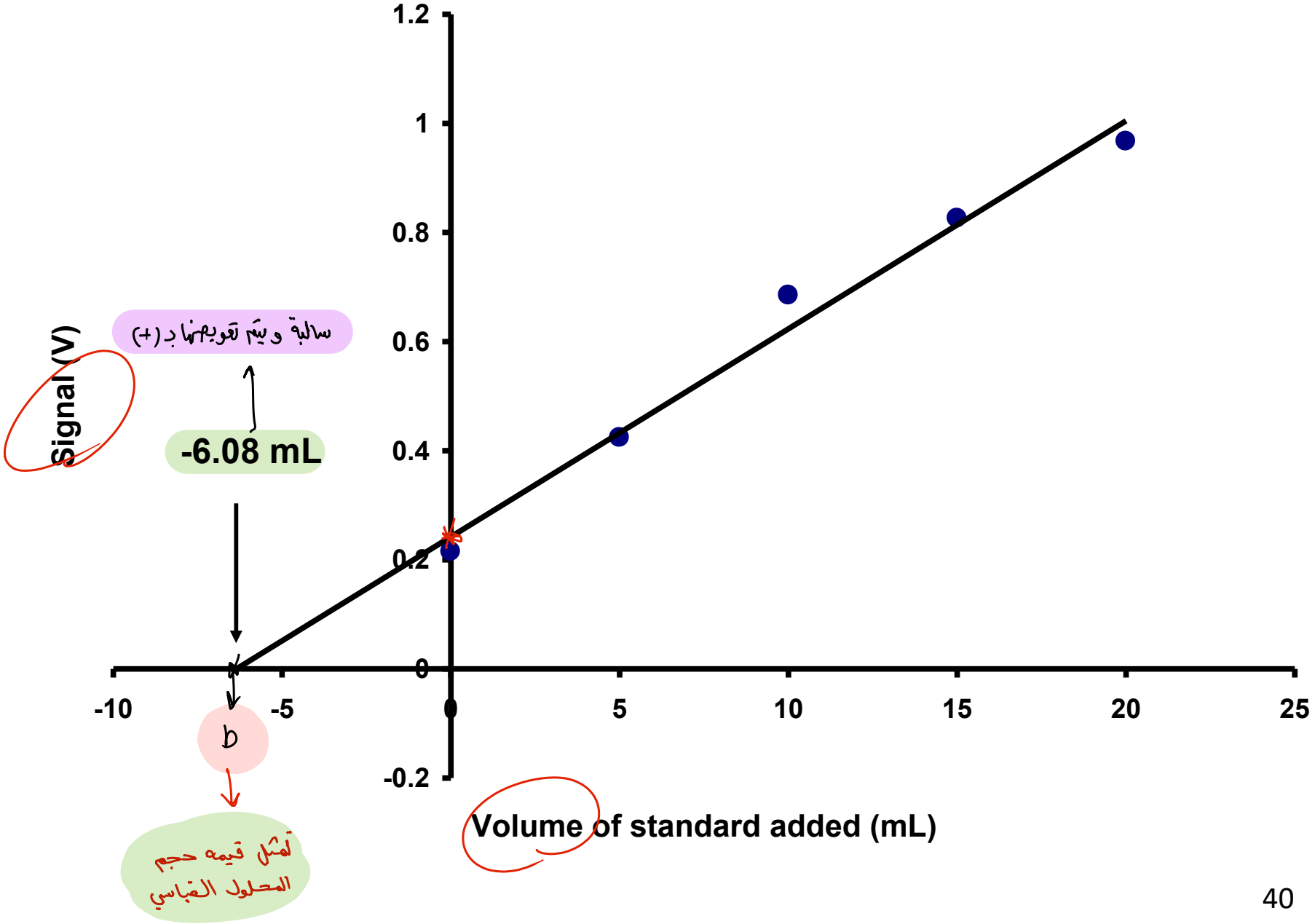
هو نفسه تركيز المادة المجهولة

C_s

The concentration of the Fe standard solution is 11.1 ppm

All solutions are diluted to a final volume of 50 mL

الحجم النهائي


1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
-0.2
-10
-5
0
5
10
15
20
25
Signal (V)
Volume of standard added (mL)
سالبة و يتم تعويضها بـ (+)
-6.08 mL
b
تمثل قيمه حجم المحلول القياسي

[Fe] = ?

كمية الحديد الموجودة أصلًا في 10 mL من العينة المجهولة تعادل كمية الحديد الموجودة

x-intercept = -6.08 mL → b

لكن نأخذها بـ (+).

Therefore, 10 mL of sample diluted to 50 mL would give a signal equivalent to 6.08 mL of standard diluted to 50 mL.

حجم الـ Sample نفسه — x-intercept

$V_{unknown} \times C_{unknown} = V_s \times C_s$

$$V_{sam} \times [Fe]_{sam} = V_{std} \times [Fe]_{std}$$

طيب لماذا لم نستخدم 50 mL؟
لأن العينة الأصلية التي نريد معرفة تركيزها حجمها 10 mL.
أما الـ 50 mL فهي فقط الحجم النهائي بعد التخفيف، وهي نفسها في كل الأنابيب

$$10.0\ mL \times [Fe] = 6.08\ mL \times 11.1\ ppm$$

فكرة الـ 6.08 باختصار: كمية الحديد الموجودة في العينة المجهولة تعادل كمية الحديد الموجودة في 6.08 من المحلول القياسي

$$[Fe] = 6.75\ ppm$$

Internal Standard Method

Reduce matrix and instrument effects

تقلل من تأثير المصفوفة وتأثيرات الجهاز

1. Most convenient when variations (تؤثر الاختلافات) in analytical sample size, position, or matrix limit the precision of a technique (على دقة الطريقة).
2. May correct for certain types of noise. (يمكن أن تُصحح بعض أنواع الضوضاء)

Internal Standard Procedure

نحضّر مجموعة من المحاليل القياسية للمادة المراد تحليلها (A)، كما نفعل في طريقة منحنى المعايرة

1. Prepare a set of standard solutions for analyte (A) as with the calibration curve method, but add a constant amount of a second species (B) to each solution.

لكن نضيف إلى كل محلول كمية ثابتة من مادة ثانية (B)، وتسمى المعيار الداخلي

2. Prepare a plot of (S_A/S_B) versus [A].

(رسم منحنى حيث y هو $\frac{S_A}{S_B}$ و $[A] = x$)

* كمية B ثابتة.
* كمية A متغيرة.

3. External calibration equation

$$(S_A/S_B) = mC + b$$

(y تحت S_A/S_B، $x = [A]$ فوق C)

لشبه معادلة الخط المستقيم

فقط $y = \frac{S_A}{S_B}$

ما هي $\frac{S_A}{S_B}$ ؟

* S_A هي إشارة المادة A
* S_B هي إشارة المعيار الداخلي B

الفكرة ببساطة: بدل أن نعتمد على إشارة A وحدها، نقسم إشارة A على إشارة B. لأن B موجود بكمية ثابتة، فإن هذه النسبة تساعدنا على تقليل تأثير تغيرات الجهاز أو ظروف القياس

Notes

1. The resulting measurement will be independent of sample size and position.
مستقلاً عن حجم العينة وموضعها

يجب ألا تنتج المادتان A وB إشارات تتداخل مع بعضها البعض

2. Species A & B must not produce signals that interfere with each other. Usually they are separated by wavelength or time.

حسب الطول الموجي: كل مادة تعطي إشارة عند طول موجي مختلف.

حسب الزمن: كل مادة تعطي إشارتها في وقت مختلف

Example: Pb by ICP Emission

A = Pb رصاص * analyte.

B = Cu النحاس * المعيار الداخلي.

Each Pb solution contains 100 ppm Cu.

كميه النحاس التي يتم إضافتها كميه ثابته لذلك هو المعيار الداخلي

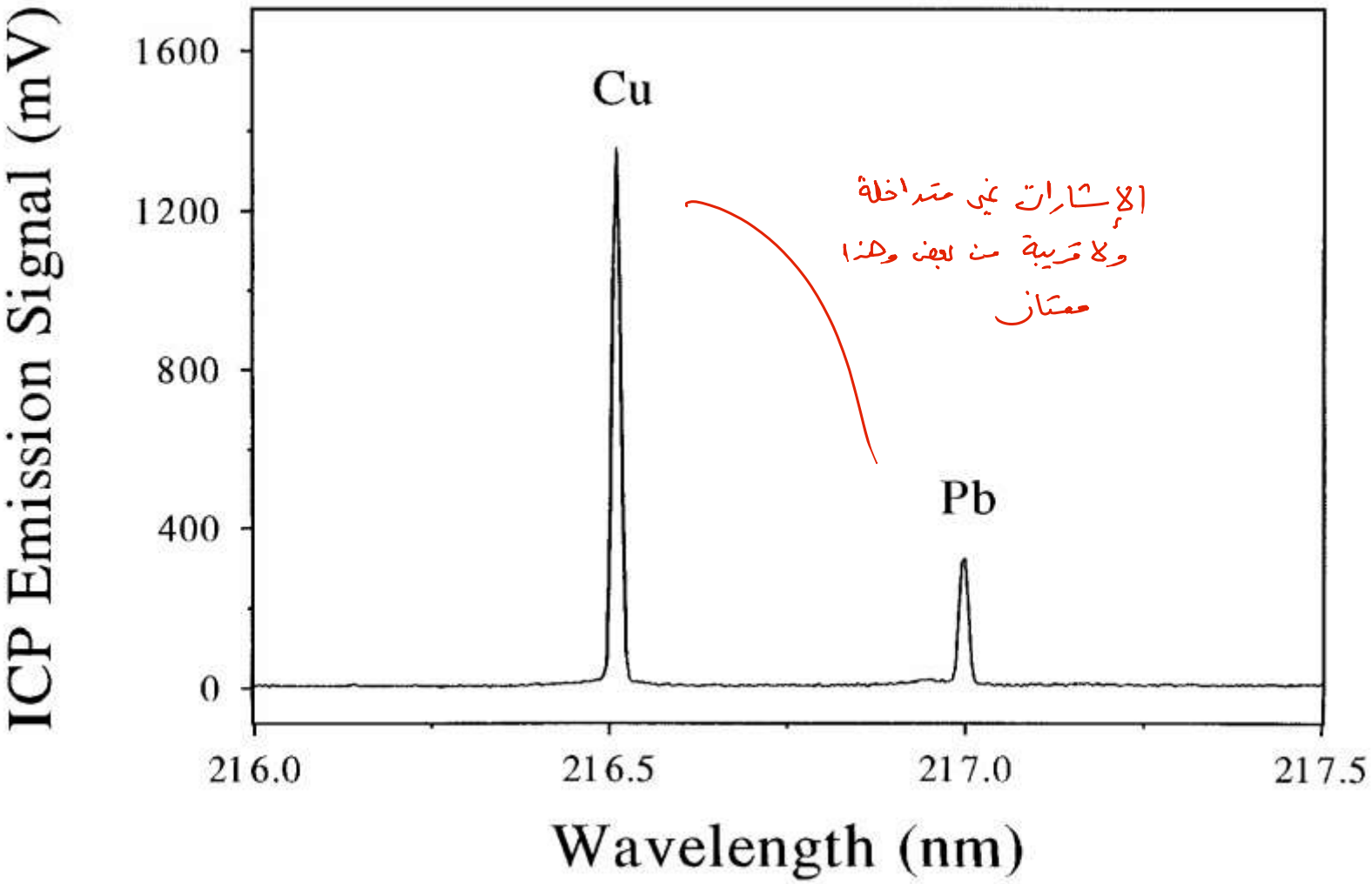
	Signal		
[Pb] (ppm) (x) متزايد	Pb	100 ppm Cu	Pb/Cu
20	112	1347	0.083
40	243	1527	0.159
60	326	1383	0.236
80	355	1135	0.313
100	558	1440	0.388

معادلة $y = mx \pm b$

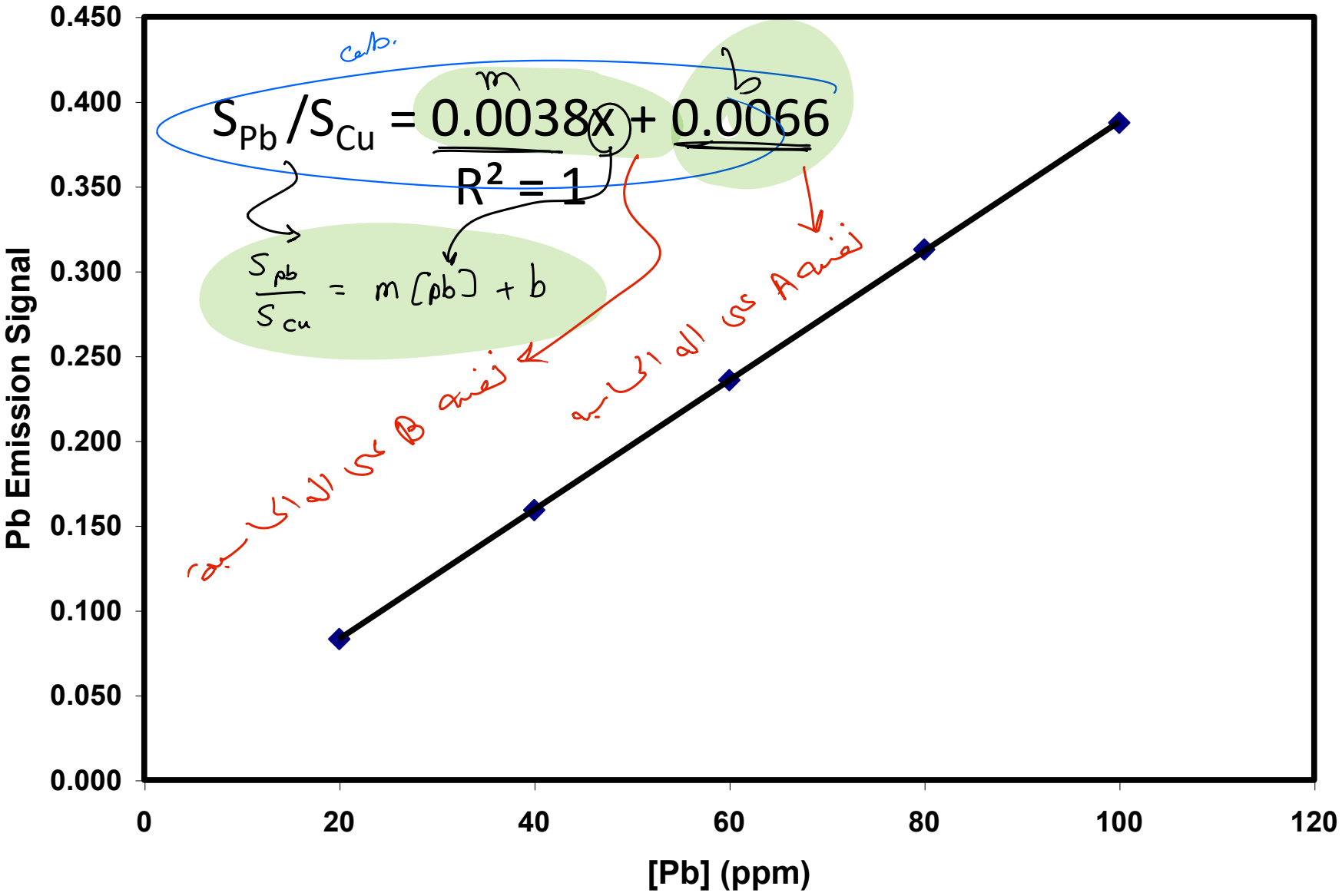
نتيجه قسمه إشاره الرصاص على إشاره النحاس

$\frac{112}{1347} = 0.083$

متوسط $S_{Pb} = 325$ متوسط $S_{Cu} = 1350$


ICP Emission Signal (mV)
1600
1200
800
400
0
Cu
Pb
216.0
216.5
217.0
217.5
Wavelength (nm)
الإشارات في متداخلة
ولا قريبة من بعض وهذا
معتاد

Internal Standard Correction



Results for an unknown sample after adding 100 ppm Cu

	Signal		
Run	Pb	Cu	Pb/Cu
1	346	1426	0.243
2	297	1229	0.242
3	328	1366	0.240
4	331	1371	0.241
5	324	1356	0.239
mean	325	1350	0.241

متوسطة

$\left(\frac{S_{pb}}{S_{cu}}\right)$ ناتج قسمة

$$0.241 = 0.0038\,X + 0.0066$$

$$X = 61.684 \text{ ppm of Pb}$$

$\frac{S_{pb}}{S_{cu}}$ =

Another way for Internal Standard method calculation

أسلوب آخر لحساب طريقة المعيار الداخلي، لكنه أسهل من طريقة رسم منحنى المعايرة؛ لأنه يستخدم محلولًا قياسيًا واحدًا فقط

- In a single-point internal standardization, we prepare a single standard containing the analyte and the internal standard and use it to determine the value of *K*.

ثابت

تركيز المعيار الداخلي

إشارة للمادة A

$$K = \left(\frac{C_{IS}}{C_A}\right)_{std} \times \left(\frac{S_A}{S_{IS}}\right)_{std}$$

تركيز الـ analyte في المحلول القياسي

إشارة المعيار الداخلي

- Where, CA is the standard concentration of the analyte, SA instrument response of analyte, CIS, and SIS the are the concentration and the response of internal added compound , respectively.

الفكرة هنا هي أننا نستخدم محلولًا قياسيًا واحدًا لحساب K، ثم نستخدم قيمة K هذه لإيجاد تركيز المادة المراد تحليلها في العينة المجهولة

A sixth spectrophotometric method for the quantitative analysis of Pb^{2+} in blood uses Cu^{2+} as an internal standard. A standard containing 1.75 ppb Pb^{2+} and 2.25 ppb Cu^{2+} yields a ratio of $(S_A/S_{IS})_{std}$ of 2.37. A sample of blood is spiked with the same concentration of Cu^{2+}, giving a signal ratio, $(S_A/S_{IS})_{samp}$, of 1.80. Determine the concentration of Pb^{2+} in the sample of blood.

SOLUTION allows us to calculate the value of K using the data for the standard

$$K = \left(\frac{C_{IS}}{C_A}\right)_{std} \times \left(\frac{S_A}{S_{IS}}\right)_{std} = \frac{2.25 \text{ ppb Cu}}{1.75 \text{ ppb Pb}^{2+}} \times 2.37 = 3.05 \frac{\text{ppb Cu}^{2+}}{\text{ppb Pb}^{2+}}$$

The concentration of Pb^{2+}, therefore, is

$$C_A = \frac{C_{IS}}{K} \times \left(\frac{S_A}{S_{IS}}\right)_{samp} = \frac{2.25 \text{ ppb Cu}^{2+}}{3.05 \frac{\text{ppb Cu}^{2+}}{\text{ppb Pb}^{2+}}} \times 1.80 = 1.33 \text{ ppb Cu}^{2+}$$