

Errors in chromatography
Part IV: Random errors and systematic errors

R. Kaiser

BASF M 325, D-67 Ludwigshafen / Rhein, Germany

Die gleiche Arbeit können Sie in deutscher Sprache auf Seite 485 lesen

In the preceding parts of the Green Pages dealing with the simplest statistical arithmetic rules for judging the random error of the mean values obtained from a few repetitive measurements, some statistical tests were given. Experience has shown that a laboratory assistant will be able to readily apply statistical tests if he has access to suitably *programmed* desk top calculators reducing his own manual calculation work to almost zero. The necessary work can be even reduced by using some nomograms.

If no small desk computers are available, then the analyst tends to ignore to use statistical mathematics and the information produced in this way concerning the value of a result. The intention of the following two figures and the table is to urgently warn against discarding the statistical tests when passing on analytical results. The analyst producing and forwarding information has the scientific obligation to provide each important result with

data on its reliability, because he must to consider the possibility that otherwise a third person might incorrectly interpret his results. Particularly in those cases where scientific, economic, or politically relevant decisions are to be based on data supplied by an analyst, special attention has to be paid to the reliability of the results.

Fig. 1 shows the relationship between the precision of analytical data that can be achieved, and the expense in the necessary analytical technique and time.

The ordinate shows the necessary number n of repetitive measurements.

On the abscissa we have plotted the difference between an analytical mean value \bar{x} and a nominal value W which – with 99 % confidence level – just indicates an *ascertained difference* between the measured value and the nominal value. Naturally, the smaller, this difference the better the analytical procedure. The quality of the ana-

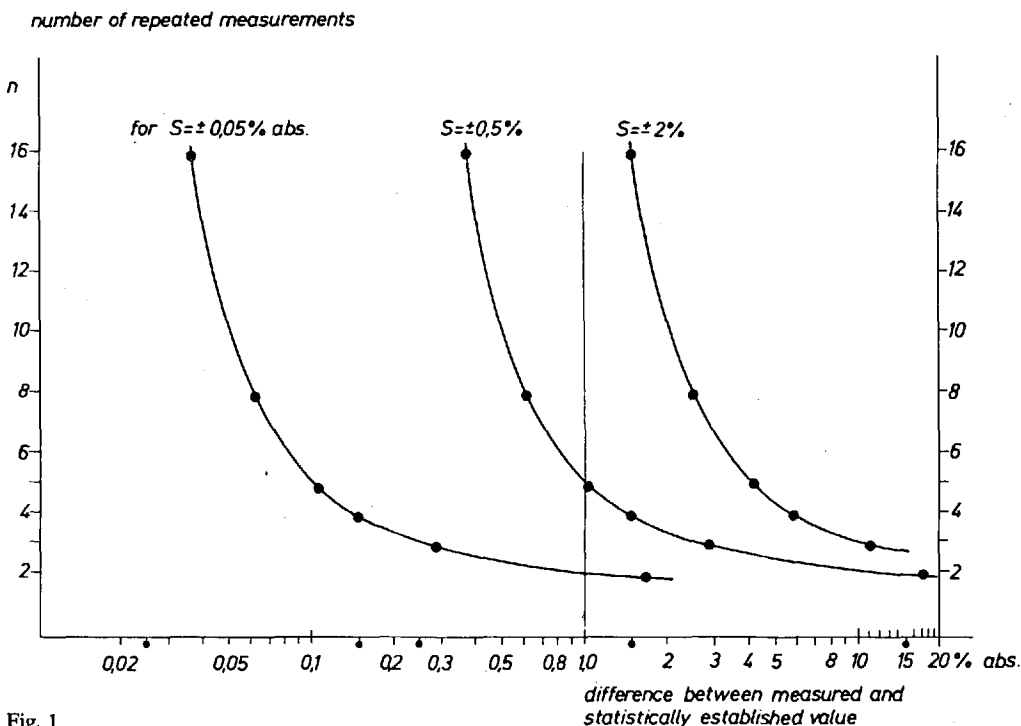


Fig. 1

- Relationship between the quality of the analytical procedure (expressed as abs. standard deviation), the expense to be spent (number of repetitive measurements), and the statistically ascertained precision of a mean value of measurements (expressed as the difference between a measured value and a statistically ascertained value or nominal value).

lytical procedure is given by the standard deviation s .

The following example demonstrates the application of Fig. 1:

We would like to know the conditions under which the result 30.0 % obtained in the measurement differs with certainty – i. e. with a 99 % confidence level – from the nominal value of 31.0 %.

The difference between 30.0 % and 31.0 % is 1.0 %. Trace a vertical line upwards to the value of 1.0 % on the abscissa. It intersects the line $s = 0.05$ % abs. at n between 2 and 3, the line $s = 0.5$ % abs. at $n = 5$, and it may be assumed that the line $s = 2$ % abs. will be intersected between $n = 25$ and $n = 30$. These findings can be interpreted in the following way:

When working with an analytical procedure having a standard deviation of $s = 0.05$ % abs., only 3 repetitive measurements are sufficient for being able to distinguish reliably an analytical result from a nominal value with a difference of 1 %. On the other hand, if the standard deviation of another analytical procedure is 2 % abs., then about 25 repetitive measurements are necessary in order that the mean value thus determined should permit a reliable distinction to be made from a nominal value with a difference of 1 % abs.

It is not always necessary to get the analytical results with a confidence level of 95 %. Sometimes a higher confidence level will be required, while at other times, a lower one will be sufficient. The quantitative relationship between the expense in the analytical technique and the confidence level that can be achieved is shown in Fig. 2 for those cases where the analytical procedure has a determined quality, e. g. a standard deviation of $s = 0.5$ %.

The following example illustrates the application of Fig. 2:

We would like to know the necessary expense (i. e. how many repetitive measurements have to be carried out) in order to ensure that, with the quality of the analytical procedure determined by a standard deviation of $s = 0.5$ % abs., a difference between the mean value \bar{x} of the data and a nominal value $W = 0.5$ % abs. can be determined with a confidence level of 95 %, 99 %, or 99.9 % respectively.

Trace a vertical line upwards from the value 0.5 % on the abscissa. It intersects the line corresponding to the 95 % confidence level at $n = 7$, the 99 % line at $n = 12$, and the 99.9 % line at $n = 17$. This means that if a 0.5 % difference between the measured value and the nominal value

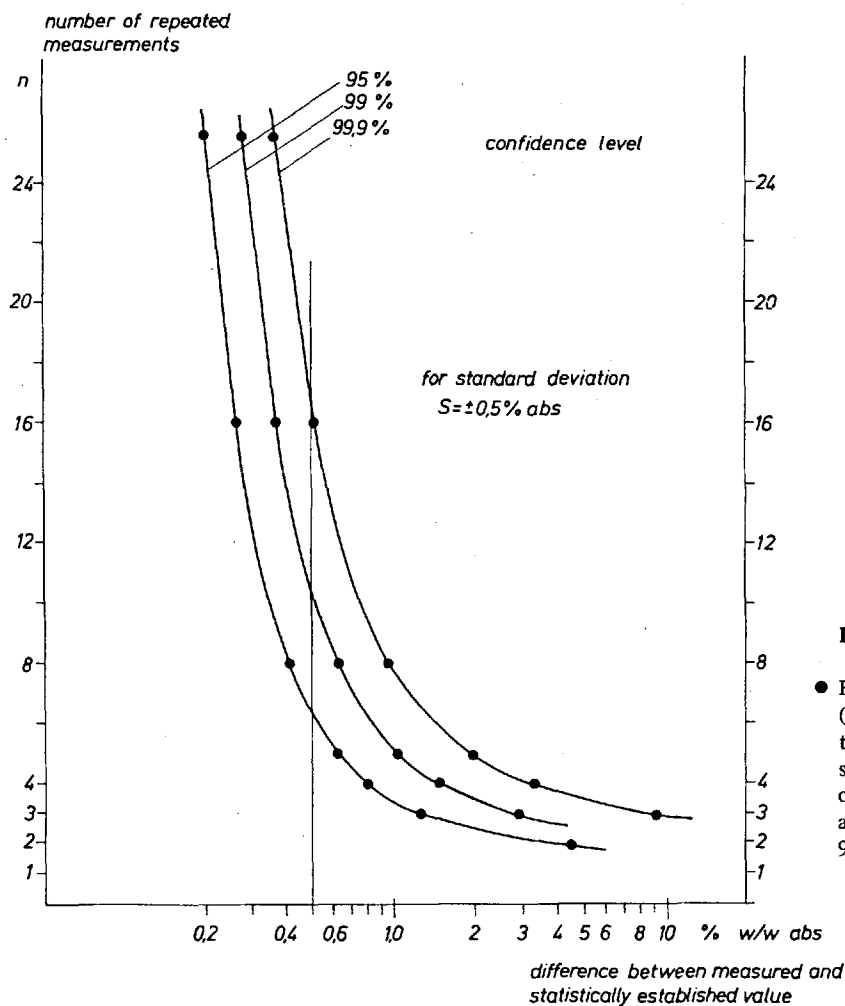


Fig. 2

● Relationship between the expense to be spent (number of repetitive measurements for the case that an analytical procedure with $s = \pm 0.5$ % absolute standard deviation is used) and the confidence level of a result (difference between the measured value and the true value at the related confidence level of 95, 99, and 99.9 %).

Table 1

Expense	Precision of results
The analytical mean value results from	
1 single measurement	Precision of the result is zero, i. e. no assertion is possible.
2 repetitive measurements	only a difference exceeding 22.5 % abs. is significant
3 repetitive measurements	only a difference exceeding 2.86 % abs. is significant
4 repetitive measurements	only a difference exceeding 1.46 % abs. is significant
5 repetitive measurements	a difference of 1.03 % abs. is significant
6 repetitive measurements	a difference of 0.82 % abs. is significant
7 repetitive measurements	a difference of 0.70 % abs. is significant
8 repetitive measurements	a difference of 0.62 % abs. is significant
9 repetitive measurements	a difference of 0.56 % abs. is significant
10 repetitive measurements	a difference of 0.51 % abs. is significant
11 repetitive measurements	a difference of 0.48 % abs. is significant
12 repetitive measurements	a difference of 0.45 % abs. is significant

is to be determined with a 95 %, 99 %, or 99.9 % confidence level, the measurement has to be repeated 7 times, 12 times, or 17 times, respectively, and summed up into a mean value free from runaway values.

You should establish in your laboratory the standard deviation of your GC analyses. Calculate this value from e. g. 8 repetitive measurements according to the rules (test for runaway values, standard deviation) given in Chromatographia 4, 123–135 (1971).

If for example, you find that it is $s = 0.5$ % absolute, then Table 1 is valid for the analytical precision of the results achieved by your method. Table 1 is valid for a 99 % confidence level; this means that a difference between the nominal value and the analytical mean value is significant if it exceeds the value given in Table 1.

Using the rules of the t test (see Chromatographia 4, 215 (1971)), a table of the type given above can be established for any other given condition.

It is clearly apparent that the non-systematic error of an analytical procedure quantitatively limits the possibility of recognizing systematic errors.

Systematic error

Limits of the possibility to recognize it

A systematic error (taking the form of wrong values) can be recognized only if it exceeds the admissible analytical precision of the method used, according to the t test. It can be determined only with that reliability on which the test had been based. Table 1 and Figures 1 and 2 of this installment of the Green Pages supply quantitative examples for this.

Systematic errors and their causes

There are systematic errors

1. caused by wrong decisions taken before the analysis,
2. caused by errors in the primary sampling technique,
3. caused by errors in sample handling,
4. caused by errors in sample dosage (including secondary dosage),

5. caused by wrong materials and operating conditions in the analytical instrument, in the injection system, the connecting lines, the separation system, and/or the detection system,
6. caused by errors in operation during the main working process,
7. caused by wrong evaluation,
8. caused by wrong interpretation of the result,
9. caused by environmental conditions,
10. caused by time-dependent and substance-dependent long-term influences which had not been taken into consideration.

We shall discuss later typical errors of these types with regard to their effects, their recognition, and steps for keeping away from them in the field of gas chromatography. As far as possible, we shall first treat all those systematic errors which are common to all or to several fields of chromatographic techniques. However, first we should discuss those errors which can be handled by mathematical means.

In order to recognize errors, it is important to determine a quantitative relationship between cause and effect. However, quantitative relationships are always subject to random fluctuations; therefore we have to use here, also statistical methods of mathematics.

The relationship between the values is determined by correlation calculation.

As an example, we shall study a calibration function. The group of calibration errors immediately follows the most important group of systematic errors in quantitative gas chromatography, i. e. the errors of sample taking, sample handling, and sample introduction errors. For the following example we assume that an ionization detector with linear operation has been studied. Its detector function is

$$i = q_a \cdot \frac{E_a}{t} \tag{1}$$

- i = ionic current, in ampères
- q_a = detector sensitivity for substance a
- E_a = amount of substance a, in grams, which had been introduced
- t = time during which signal i was caused by E grams of the sample.

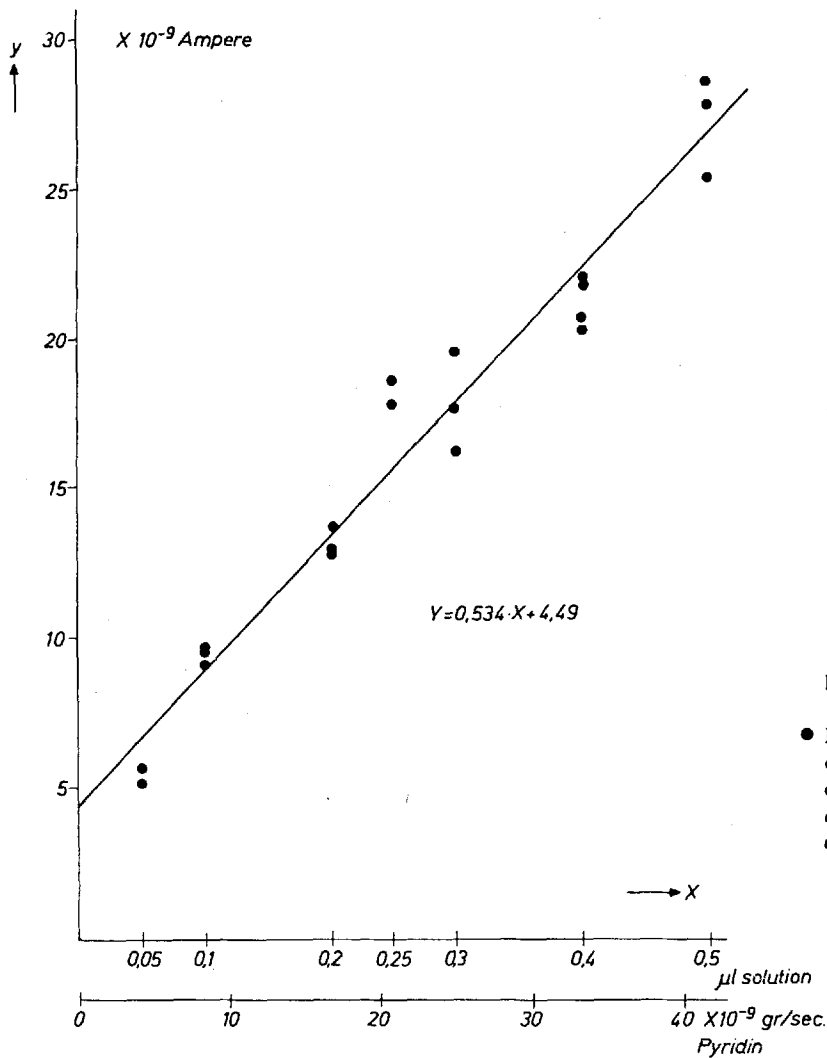


Fig. 3

- Result of a linear compensation calculation in the case of a non-ascertained quantitative detector calibration. Ascertained determination of the detector sensitivity and of a systematic sampling error.

It follows from equation (1) that

$$q_a = \frac{i \cdot t}{E_a} \frac{\text{Coulomb}}{\text{gram}} \quad (2)$$

For each detector, with the exception of mass sensitive detectors which determine the absolute amount of substance eluting from the separation system, different correction factors are valid for different substances.

If an ionization detector would have the same sensitivity for each substance, the following relationship would exist:

$$i = q_a \cdot \frac{E_a}{t}$$

$$i = q_b \cdot \frac{E_b}{t}$$

$$q_a = q_b$$

If the detector shows different sensitivities for different substances, this has to be taken into account in the quantitative evaluation of chromatograms by applying the so-

called correction factors. f_a is the substance-specific correction factor for substance a. It is a relative value: it refers to the value of a reference substance b, the correction factor f_b of which has been fixed at 1.000.

Thus, in order to be able to calculate a substance-specific correction factor, the analyst should first determine the absolute measured values for q_a and q_b , thus obtaining

$$f_a = \frac{q_b}{q_a} \quad (3)$$

Theoretically, the correction factor f_a should be constant, i. e. independent of the value of the measured signal i . This is valid only as long as q_a and q_b are constant, i. e. as long as the detector is strictly linear. However, one must realize that in every case, the linear range is limited.

Therefore for each detector there exists a limiting signal which can be expressed as

$$i_{lim} = q_a \cdot \frac{(E_a)_{lim}}{t} \quad (4)$$

The easiest way to determine this limit is to establish a calibration function

$$i = \phi \frac{E_a}{t}$$

according to Figure 3.

During this operation, several individual values are measured which naturally possess an inevitable non-systematic error.

Provided that the detector function is linear, this error can be reduced to a minimum using the linear regression calculation, and the optimum value of the detector function can be determined. This permits to determine the first systematic error in calibration, which is usually found to be a systematic sampling error.

It must be assumed that a linear detector function (according to equations (1) or (4), respectively) can be represented by the general equation of a straight line

$$y = q x + b,$$

b being equal to 0, since if $x = 0$ then $y = 0$.

In our example this means the following: if no sample is introduced, i. e. $\frac{E_a}{t} = x = 0$, then there will be no signal, i. e. $i = y = 0$.

Use the following linear regression calculation with your own data for establishing a calibration line. In the case of GC analysis of liquids and solids you will often find that the result is a function

$$y = q x + b$$

where $b \neq 0$. This means that the calibration curve does not pass through zero. In gas chromatography, this is caused by an additionally introduced sample volume when sampling syringes are used for calibration measurements. This is part of the needle volume which, due to heating in the injection port, additionally enters the sampling system. Thus a systematic error is caused, and the result is $i = q \frac{E_a}{t} + b$, b being the consequence of a systematic sampling error.

Linear regression calculation

The linear regression calculation supplies a reference value for the significance of a relationship; this is the regression coefficient r.

Moreover, it supplies the optimum values q and b calculated by the method of minimum squares of errors for the function of the straight line

$$y = q x + b$$

The quality of the result can be submitted to further statistical tests; for details see the next installment of the Green Pages.

A. We need the individual data y_1, y_2, \dots, y_n and x_1, x_2, \dots, x_n as well as the number of n of the individual data-pairs x and y.

B. Calculate the values of the sums

$$\Sigma x; \Sigma y; \Sigma x \cdot y; \Sigma x^2; (\Sigma x)^2; \Sigma y^2; (\Sigma y)^2$$

and also the composite values:

$$q = \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$b = \frac{\Sigma y - q \cdot \Sigma x}{n}$$

$$r = \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{(n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2) \cdot (n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2)}}$$

The use of composite value r will be discussed later.

The composite values q and b are basis for the formula of the best straight line through all values:

$$y = qx + b$$

i. e. this is the equation for the regression line. It is shown in Fig. 3.

Symbols:

b = systematic sampling error;

if b = 0, there is no systematic sampling error.

q = sensitivity of the detector.

When y is expressed in amperes and x in grams/second, q is expressed in coulomb/g.

Numerical example:

y = peak height in amperes

x = sample amount in grams, divided by peak width at half height, measured in seconds, giving substance flow in gram/second at the moment of maximum deflection (peak height).

Using the formulas given under B, we get from the values of Table 2:

$$q = \frac{20 \times 9246.0 - 458.1 \times 334.3}{20 \times 13469.5 - 209856} = \frac{31777.2}{59534} = 0.5338$$

$$b = \frac{334.3 - 0.5338 \times 458.1}{20} = 4.49$$

$$r = \frac{20 \times 9246.0 - 458.1 \times 334.3}{\sqrt{(20 \times 13469.5 - 209856)(20 \times 6474 - 111756)}} = 0.97$$

Discussion of this result:

The calibration function now is $y = 0.5338x + 4.49$.

From this equation we can draw a number of conclusions,

1. The detector sensitivity is $q = 0.534 \left[\frac{\text{A} \cdot \text{sec}}{\text{g}} \right]$

Thus the detector has a high sensitivity; it was a detector specific for nitrogen. The test substance was pyridine. Pyridine contains 17.7 % N. If the sensitivity, as usual with substance-specific detectors, is expressed in coulomb/gram of the specifically detected element, we obtain: $q_N = 3.01 \left[\frac{\text{A} \cdot \text{sec}}{\text{g}} \right]$.

Table 2

y [x 10 ⁻⁹ A]	x [x10 ⁻⁹ g/sec]	x · y	y ²	x ²
5.15	4.1	21.1	26.5	16.8
5.62	4.1	23.0	31.6	16.8
9.05	8.3	75.1	81.9	68.9
9.52	8.3	79.0	90.6	68.9
9.67	8.3	80.3	93.5	68.9
12.8	16.7	213.8	163.8	278.9
12.9	16.7	215.4	166.4	278.9
13.7	16.7	228.8	187.7	278.9
17.8	20.8	370.2	316.8	432.6
18.6	20.8	386.9	345.9	432.6
16.2	25.0	405.0	262.4	625
17.6	25.0	440.0	309.8	625
19.5	25.0	487.5	380.3	625
20.1	33.3	669.3	404.0	1108.9
20.7	33.3	689.3	428.5	1108.9
21.8	33.3	725.9	475.2	1108.9
22.0	33.3	732.6	484.0	1108.9
25.3	41.7	1055.0	640.1	1738.9
27.8	41.7	1159.3	772.8	1738.9
28.5	41.7	1188.5	812.3	1738.9
Σy = 334.3	Σx = 458.1	Σxy = 9246.0	Σ(y ²) = 6474	Σ(x ²) = 13469.5
(Σy) ² = 111756		(Σx) ² = 209856		
n = 20				

Now the error of this value should be given. It can also be obtained from the data used for the regression calculation. The methods for calculating this error will also be given in the next installment of the Green Pages.

- The compensation line did not pass through the zero point of the coordinate system, see Fig. 3. The value for b is 4.49, and its dimension is [10⁻⁹ A]. We have thus encountered a *systematic sampling error*. It has no influence on q but should be investigated.

4.49 x 10⁻⁹ A correspond to $\frac{4.49}{0.534} \cdot 10^{-9} = 8.4 \times 10^{-9}$ g/sec sample flow at the peak maximum. The (random) peak width at half height was 8.4 seconds; it follows that the systematic sampling error is 1 x 10⁻⁹ g pyridine. In order to be able at all to carry out such calibration tests with the usual syringes, the pyridine was dissolved in a pyridine-free solvent which does not affect the measurement. The pyridine concentration of the solution was 7 x 10⁻⁴ g/ml. 10⁻⁹ g pyridine thus corresponds to 1.4 x 10⁻² μl solution. Therefore the (mean) systematic sampling error was + 0.014 μl, representing no less than a relative error between 28 % and 3 % of those quantities which had been used for introducing the test substance.

Reason for this error: At the moment of sampling, some sample from the needle volume of the syringe evaporated additionally into the separation system. This is an error which should always be taken into account when gas chromatography is carried out at higher temperatures.

This influence, is also subject to fluctuations. The random fluctuations of this systematic sampling error have also contributed to the wide spreading of the values obtained in the determination.

Nevertheless, the compensation line describes quite well the linear relationship between the current [A] and the sample flow [gr/sec], because r = 0.978. If all the measured values were located strictly on a straight line, then r would be 1.00.

The further significance of the important regression coefficient r, which is also valuable for other purposes in the search for errors, will be discussed in the next installment.

Fehler in der Chromatographie
Teil IV: Zufallsfehler und systematische Fehler

R. Kaiser

BASF M 325, D-67 Ludwigshafen/Rhein, Germany

You can read this paper in English language on page 479.
 French translation in the next issue.

In den vorangegangenen Teilen der grünen Seiten, welche sich mit einfachsten statistischen Rechenregeln zur Beurteilung des Zufallsfehlers von Mittelwerten aus wenigen Wiederholmessungen beschäftigten, wurden statistische Tests angegeben. Die Erfahrung in der Praxis zeigt, daß der Laborant statistische Tests sofort anwendet, wenn er entsprechend programmierte Tischrechner zur Verfügung hat, welche die Rechenarbeit auf fast Null reduzieren. Aber auch schon mit Nomogrammen läßt sich der Arbeitsaufwand vermindern.

Stehen keine programmierten Tischrechner zur Verfügung, dann neigt der Analytiker dazu, die statistische Mathematik und ihre harten Aussagen zum Wert eines Ergebnisses zu ignorieren. Die folgenden beiden Bilder und die Tabelle sollen eindringlich davor warnen, bei der Weitergabe analytischer Ergebnisse auf die Anwendung statistischer Tests zu verzichten. Der Analytiker, welcher Informationen erzeugt und weitergibt, hat die naturwissenschaftliche Verpflichtung, jedes wichtige Ergebnis mit einer Zuverlässigkeitsangabe zu versehen, denn er muß damit rechnen, daß dritte Personen seine Informationen sonst

unter Umständen falsch anwenden. Besonders wenn wissenschaftliche, ökonomische oder politische gewichtige Entscheidungen auf Grund von Meßwerten des Analytikers gefällt werden, muß vor allem die Sicherheit der Ergebnisse berücksichtigt werden.

Fig. 1 zeigt den Zusammenhang zwischen der erreichbaren Schärfe einer analytischen Aussage und dem nötigen Aufwand an Meßtechnik und Zeit.

Auf der Ordinate ist die notwendige Anzahl n von Wiederholmessungen angegeben.

Auf der Abszisse ist die Differenz zwischen analytischem Mittelwert \bar{x} und einem Sollwert W aufgetragen, die – mit 99 % statistischer Sicherheit – gerade eben einen gesicherten Unterschied zwischen dem Meßwert und dem Sollwert anzeigt. Diese Differenz wird natürlich um so kleiner, je besser das Meßverfahren ist. Die Güte des Meßverfahrens gibt man in Form der Standardabweichung s an.

Fig. 1 wird daher wie folgt benutzt:

Beispiel: Man möchte wissen, unter welchen Bedingungen sich das Meßergebnis 30,0 % von dem Sollwert 31,0 % noch sicher – mit 99 % statistischer Sicherheit – unterscheidet.

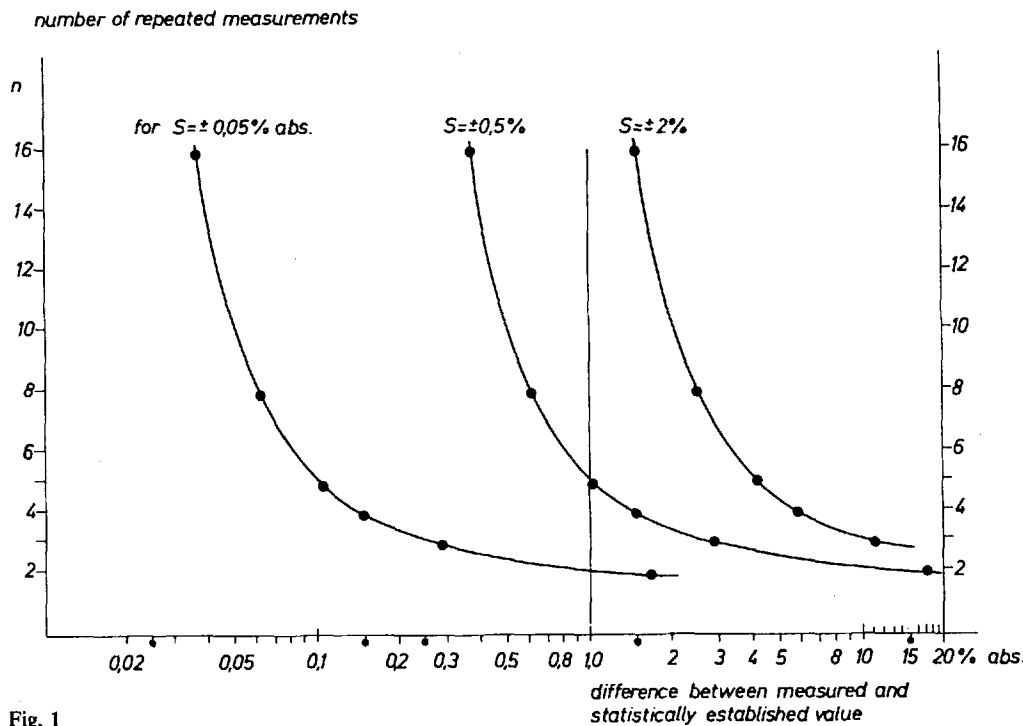


Fig. 1

- Zusammenhang zwischen der Qualität des Meßverfahrens (ausgedrückt als abs. Standardabweichung), dem Meßaufwand (Zahl der Wiederholmessungen) und der statistisch gesicherten Schärfe eines Meßmittelwertes (ausgedrückt als Differenz zwischen Meßwert und statistisch gesichertem Wert oder Sollwert).

Die Differenz zwischen 30,0 % und 31,0 % ist 1,0 %. Man zieht von dem Wert 1,0 % auf der Abszissenachse eine senkrechte Linie in die Höhe. Sie schneidet die Linie $s = 0,05$ % abs. bei n zwischen 2 und 3, die Linie $s = 0,5$ % abs. bei n gleich 5 und man kann abschätzen, daß die Linie $s = 2$ % absolut zwischen $n = 25$ bis 30 geschnitten wird.

Ergebnis: Wenn man mit einem Meßverfahren arbeitet, dessen Standardabweichung $s = 0,05$ % abs. beträgt, so genügen bereits 3 Wiederholmessungen, um ganz sicher ein Analysenergebnis von einem Sollwert bei 1 % Differenz unterscheiden zu können. Liegt die Standardabweichung eines anderen Meßverfahrens aber bei 2 % abs., dann muß man etwa 25 Wiederholmessungen machen, damit der gefundene Mittelwert eine sichere Unterscheidung von einem Sollwert bei einer Differenz von 1 % abs. erlaubt.

Nicht immer sind analytische Ergebnisse mit einer Sicherheit von 99 % erforderlich. Manchmal benötigt man eine höhere Sicherheit, manchmal kommt man mit einer niedrigeren Sicherheit aus. Den quantitativen Zusammenhang zwischen dem Meßaufwand und der erreichbaren Sicherheit gibt Fig. 2 an für den Fall, daß das Analysenverfahren eine bestimmte Güte hat: z.B. Standardabweichung $s = 0,5$ %.

Fig. 2 wird wie folgt benutzt:

Beispiel: Es wird gefragt: welcher Aufwand ist nötig (d.h. wie oft müssen Wiederholmessungen ausgeführt werden) damit bei einer Meßgüte des Verfahrens mit der Standardabweichung von $s = 0,5$ % absolut eine Differenz zwischen dem Meßmittelwert \bar{x} und einem Sollwert $W = 0,5$ % absolut eine statistische Sicherheit von 95 %, 99 % oder 99,9 % erreicht wird?

Man zieht von dem Wert 0,5 % auf der Abszissenachse eine senkrechte Linie in die Höhe. Sie schneidet die 95 %-Sicherheitslinie bei $n = 7$, die 99 %-Linie bei $n = 12$ und die 99,9 %-Linie bei $n = 17$.

Ergebnis: Möchte man eine 0,5 %-Differenz zwischen Istwert und Sollwert mit 95 %, 99 % oder 99,9 % Sicherheit feststellen, so muß die Messung 7 mal, 12 mal oder 17 mal wiederholt und zu einem ausreißerfreien Mittelwert zusammengefaßt werden.

Stellen Sie bitte in Ihrem Laboratorium fest, wie groß die Standardabweichung Ihrer GC-Analysen ist. Berechnen Sie diesen Wert aus z.B. 8 Wiederholmessungen nach den Rechenregeln (Ausreißertest, Standardabweichung) in Chromatographia 4, 123–135 (1971).

Wenn Sie z.B. feststellen, $s = 0,5$ % absolut, dann gilt für die analytische Aussageschärfe mit dieser Methode die

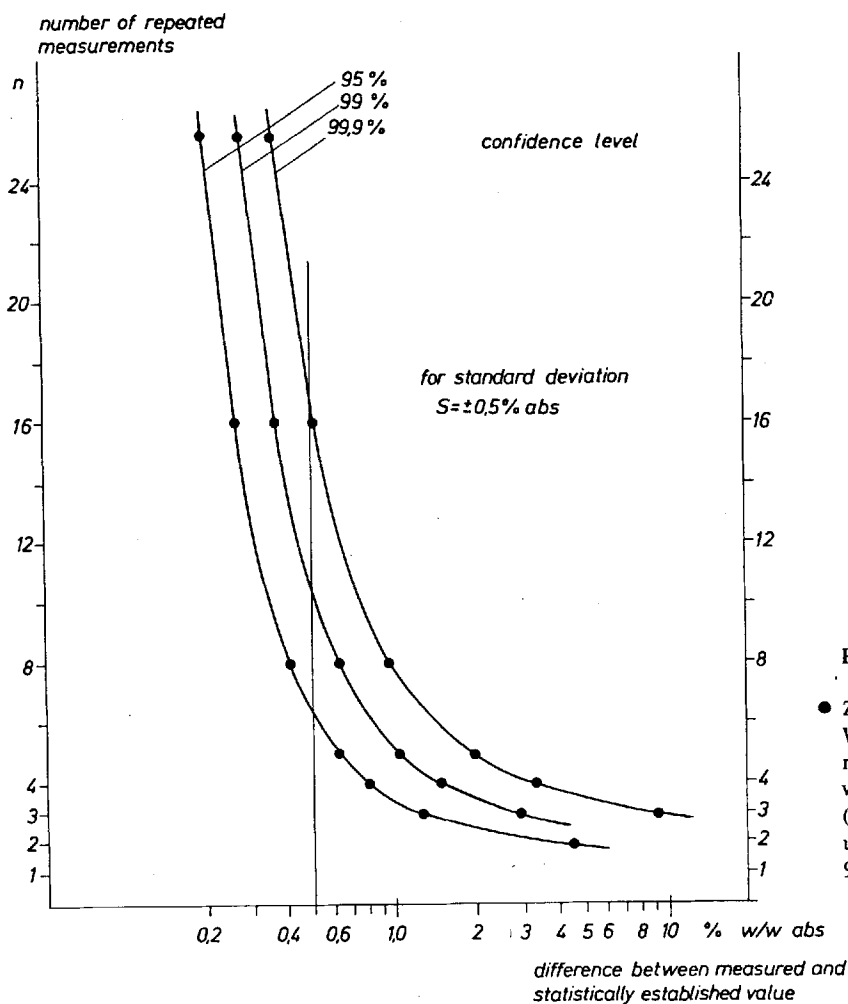


Fig. 2

● Zusammenhang zwischen Meßaufwand (Zahl der Wiederholmessungen für den Fall, daß eine Meßmethode mit $s = \pm 0,5$ % abs. Standardabweichung verwendet wird) und Sicherheit eines Ergebnisses (Differenz zwischen Meßwert und gesichertem Wert und der zugehörigen statistischen Sicherheit von 95 %, 99 % und 99,9 %).

Aufwand	Aussageschärfe
Analysenmittelwert stammt: aus einer Einzelmessung	Aussageschärfe ist Null, d.h.: keine Aussage möglich
aus 2 Wiederholmessungen	erst eine Differenz von 22,5 % abs. ist signifikant
aus 3 Wiederholmessungen	eine Differenz von 2,86 % abs. ist signifikant
aus 4 Wiederholmessungen	eine Differenz von 1,46 % abs. ist signifikant
aus 5 Wiederholmessungen	eine Differenz von 1,03 % abs. ist signifikant
aus 6 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,82 % abs. ist signifikant
aus 7 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,70 % abs. ist signifikant
aus 8 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,62 % abs. ist signifikant
aus 9 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,56 % abs. ist signifikant
aus 10 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,51 % abs. ist signifikant
aus 11 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,48 % abs. ist signifikant
aus 12 Wiederholmessungen	eine Differenz von 0,45 % abs. ist signifikant

Tabelle 1

Tabelle 1. Sie gilt für 99 % statistische Sicherheit; d.h. ein Unterschied zwischen Sollwert und Analysenmittelwert ist signifikant, wenn er größer ist, als in Tabelle 1 angegeben.

Man kann sich nach den Rechenformeln des t-Tests (siehe Chromatographia 4, 215 (1971)) für jede andere Bedingung eine entsprechende Tabelle der Art wie die hier angegebene berechnen.

Es zeigt sich klar, daß der unsystematische Fehler eines Meßverfahrens die Erkennbarkeit von systematischen Fehlern quantitativ begrenzt.

Systematischer Fehler

Grenzen seiner Feststellbarkeit

Einen systematischen Fehler (in Form eines falschen Meßwertes) kann man nur feststellen, wenn er größer als die nach dem t-Test zulässige Aussageschärfe der angewendeten Meßmethode ist.

Er kann nur mit jener Sicherheit festgestellt werden, die diesem Test zu Grunde gelegt wird. Tabelle 1 und die Abbildungen 1 und 2 dieser Folge der grünen Seiten geben dazu quantitative Beispiele.

Systematische Fehler und ihre Ursachen

Es gibt systematische Fehler,

1. verursacht durch Fehlentscheidungen vor der Analyse
2. verursacht durch Fehler in der primären Probenahme
3. verursacht durch Fehler in der Probenbehandlung
4. verursacht durch Fehler in der Probendosierung (einschließlich bei der sekundären Probenahme)
5. verursacht durch falsche Materialien und Arbeitsbedingungen im Analysengerät vom Injektionssystem über die Leitungs- und Trennsysteme bis zum Detektionssystem
6. verursacht durch Bedienungsfehler beim Hauptarbeitsgang
7. verursacht durch falsche Auswertung
8. verursacht durch falsche Interpretation des Ergebnisses

9. verursacht durch Umweltbedingungen
10. verursacht durch zeitabhängige und substanzabhängige Einflüsse langfristiger Art, deren Berücksichtigung übersehen wurde.

Später werden typische Fehler der oben genannten Arten systematisch auf ihre Auswirkung, ihre Erkennung und Maßnahmen zu ihrer Vermeidung für den Bereich der Gas-Chromatographie behandelt. So weit als möglich werden zunächst alle jenen systematischen Fehler behandelt, die in allen oder in mehreren Bereichen der chromatographischen Techniken gemeinsam wirken. Zuvor werden aber erst noch Fehler diskutiert, welche sich mit mathematischen Methoden behandeln lassen.

Bei der Fehlererkennung ist es wichtig, einen quantitativen Zusammenhang zwischen Ursache und Wirkung festzustellen.

Quantitative Zusammenhänge sind aber stets zufälligen Schwankungen unterworfen, daher müssen auch hier statistische Methoden der Mathematik angewendet werden.

Der Zusammenhang zwischen Größen wird durch Korrelationsrechnung ermittelt.

Im folgenden wird als Beispiel eine Eichfunktion untersucht. Gleich nach der bedeutendsten Gruppe systematischer Fehler in der quantitativen Chromatographie, den Probenahme-, Probenbehandlungs-, und Dosierfehlern kommt die Gruppe der Eichfehler. Wir nehmen für das folgende Beispiel an, daß ein linear arbeitender Ionisationsdetektor untersucht wurde. Seine Detektorfunktion lautet:

$$i = q_a \cdot \frac{E_a}{t} \quad (1)$$

i = Ionenstrom in Ampere

q_a = Detektorempfindlichkeit für den Stoff a

E_a = Gramm Stoff a, welche dosiert wurden

t = Zeit, während der das Meßsignal i durch E Gramm Probe erzeugt wurde.

Aus Beziehung (1) folgt:

$$q_a = \frac{i \cdot t}{E_a} \quad \left[\frac{\text{Coulomb}}{\text{Gramm}} \right] \quad (2)$$

Für jeden Detektor, mit Ausnahme des Massendetektors, welcher die absoluten Gramm Bestandteile hinter einem Trennsystem integral erfaßt, gelten von Stoff zu Stoff unterschiedliche Korrekturfaktoren f .

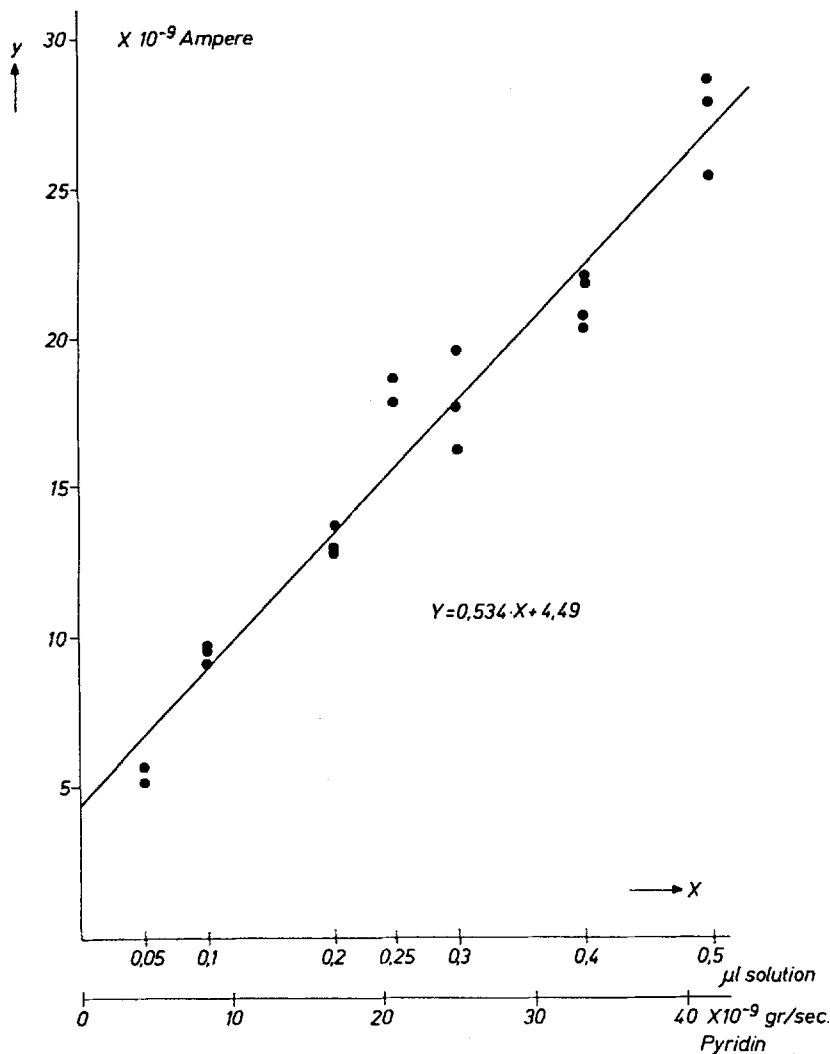


Fig. 3

- Ergebnis einer linearen Ausgleichsrechnung im Falle einer unsicheren quantitativen Detektor-eichung. Gesichertes Feststellen der Detektor-empfindlichkeit und eines systematischen Dosierfehlers.

Würde ein Ionisations-Detektor für jeden Stoff gleich empfindlich sein, müßte gelten:

$$i = q_a \cdot \frac{E_a}{t}$$

$$i = q_b \cdot \frac{E_b}{t}$$

$q_a = q_b$ Das gilt praktisch nie!

Zeigt der Detektor für unterschiedliche Stoffe unterschiedliche Empfindlichkeiten, so muß dies bei der quantitativen Auswertung von Chromatogrammen durch Anwendung sogenannter Korrekturfaktoren berücksichtigt werden. f_a ist der stoffspezifische Korrekturfaktor für den Stoff a. Er ist eine relative Größe. Er bezieht sich auf den Wert einer Bezugssubstanz b, deren Korrekturfaktor $f_b = 1,000$ gesetzt wird.

Um also einen stoffspezifischen Korrekturfaktor berechnen zu können, ermittelt man die absoluten Meßwerte für q_a und q_b und erhält:

$$f_a = \frac{q_b}{q_a} \quad (3)$$

An sich müßte der Korrekturfaktor f_a konstant, also unabhängig von der Größe des Meßsignales i sein. Dies gilt nur, solange q_a und q_b konstant sind, also der Detektor tatsächlich ein streng lineares Verhalten zeigt. In jedem Falle ist aber der lineare Meßbereich begrenzt.

Für jeden Detektor gibt es demnach ein

$$i_{\text{lim}} = q_a \cdot \frac{E_a \text{ lim}}{t} \quad (\text{lim} = \text{Grenzwert}) \quad (4)$$

Diese Grenze stellt man am einfachsten fest, indem nach Fig. 3 eine Eichfunktion

$$i = \phi \left(\frac{E_a}{t} \right)$$

ermittelt wird.

Dabei fallen mehrere Einzelmesswerte an. Sie besitzen einen unvermeidbaren unsystematischen Meßfehler. Lineare Detektorfunktion vorausgesetzt, läßt sich durch Anwendung der linearen Regressionsrechnung der Meßfehler auf ein Minimum bringen und der bestmögliche Wert der Detektorfunktion berechnen. Dabei wird der erste systematische Fehler bei der Eichung ermittelt,

welcher sich in der Regel als ein systematischer Dosierfehler herausstellt.

Man muß voraussetzen, daß eine lineare Detektorfunktion (nach Formel (1) bzw. (4)) dargestellt werden kann durch die allgemeine Formel der Geraden

$$y = q x + b$$

mit $b = 0$, denn $y = 0$, wenn $x = 0$.

Das heißt in unserem Beispiel: wenn nichts dosiert wird, also $\frac{E}{t} = x = 0$, entsteht auch kein Signal, also $i = y = 0$.

Wenden Sie die folgende lineare Regressionsrechnung auf eigene Meßwerte zu einer Eichlinie an. Sie werden im Falle der GC-Analyse von Flüssigkeiten und festen Stoffen häufig feststellen, daß als Ergebnis eine Funktion

$$y = q x + b$$

erhalten wird, bei welcher $b \neq 0$. Das heißt, die Eichkurve geht nicht durch den Nullpunkt. In der Gas-Chromatographie wird dies bei Anwendung von Dosierspritzen zur Eichmessung durch ein zusätzlich dosiertes Probenvolumen verursacht. Es ist dies der Teil des Nadelvolumens, der durch Erhitzen im Injektionsblock in den Probengeber zusätzlich eindringt. Damit entsteht ein systematischer Fehler und man erhält $i = q \cdot \frac{E}{t} + b$, wobei b die Folge eines systematischen Dosierfehlers ist.

Lineare Regressionsrechnung

Die lineare Regressionsrechnung liefert eine Kenngröße über die Signifikanz eines Zusammenhanges, es ist dies der Regressionskoeffizient r .

Sie liefert ferner die nach der Methode der kleinsten Fehlerquadrate berechneten besten Werte q und b für die Funktion der Geraden

$$y = q \cdot x + b$$

Man kann die Güte des Ergebnisses weiteren statistischen Tests unterwerfen, siehe dazu die nächste Folge der grünen Seiten.

A. Man benötigt die einzelnen Meßwerte y_1, y_2, \dots, y_n und x_1, x_2, \dots, x_n sowie die Zahl n der einzelnen Wertepaare x und y .

B. Man berechnet die Summengrößen:

$$\Sigma x; \Sigma y; \Sigma x \cdot y; \Sigma x^2; (\Sigma x)^2; \Sigma y^2; (\Sigma y)^2$$

ferner die zusammengesetzten Größen:

$$q = \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2}$$

$$b = \frac{\Sigma y - q \cdot \Sigma x}{n}$$

$$r = \frac{n \cdot \Sigma xy - \Sigma x \cdot \Sigma y}{\sqrt{(n \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2) \cdot (n \Sigma y^2 - (\Sigma y)^2)}}$$

Es folgt:

$$y = qx + b$$

als die Gleichung der Regressionsgeraden. Sie ist in Fig. 3 eingezeichnet.

Es bedeutet: b = systematischer Dosierfehler; wenn $b = 0$, liegt kein systematischer Dosierfehler vor.

Es bedeutet: q = Empfindlichkeit des Detektors in $\left[\frac{\text{Coul}}{\text{g}} \right]$ sofern y in Ampere und x in Gramm/sec angegeben wurde. Vorsicht: Die Maßgrößen müssen sorgfältig beachtet werden.

Zahlenbeispiel:

y = Peakhöhe in Ampere

x = Probenmenge in Gramm, dividiert durch Peakbreite in halber Höhe, gemessen in Sekunden, ergibt Gramm/Sekunde Substanzfluß im Augenblick des Maximalausschlages in Ampere. Multipliziert man diesen Wert mit dem Korrekturfaktor 1,064, dann wird die Gesamtpeakfläche in Ampere x Sekunden richtig erfaßt, siehe R. Kaiser, Chromatographie in der Gasphase, Band IV, Quantitative Auswertung, Teil 1, S. 124 (Bibliographisches Institut AG, Mannheim (1969)).

Aus den Werten der Tabelle 2 folgt nach den Formeln unter B.:

$$q = \frac{20 \times 9246,0 - 458,1 \times 334,3}{20 \times 13469,5 - 209856} = \frac{31777,2}{59534} = 0,5338$$

$$b = \frac{334,3 - 0,5338 \times 458,1}{20} = 4,49$$

$$r = \frac{20 \times 9246,0 - 458,1 \times 334,3}{\sqrt{(20 \times 13469,5 - 209856) (20 \times 6474 - 111756)}} = 0,978$$

Diskussion dieses Ergebnisses:

Die Eichfunktion lautet nun $y = 0,5337x + 4,49$.

Daraus folgt:

1. Die Detektorempfindlichkeit beträgt $q = 0,534 \left[\frac{\text{A} \cdot \text{s}}{\text{g}} \right]$

Der Detektor ist somit hochempfindlich; es handelte sich um einen stickstoffspezifischen Detektor. Prüfsubstanz war Pyridin. Pyridin enthält 17,7 % N. Drückt man, wie bei spezifischen Detektoren zweckmäßig, die Empfindlichkeit in Coulomb pro Gramm spezifisch erfaßtes Element aus, so folgt: $q_N = 3,01 \left[\frac{\text{A} \cdot \text{s}}{\text{g}} \right]$.

Nun müßte der Fehler dieses Wertes mit angegeben werden. Er folgt ebenfalls aus den zur Regressionsrechnung verwendeten Daten.

Die Rechenmethoden dazu werden in der nächsten Folge der grünen Seiten angegeben.

2. Die Ausgleichsgerade ging nicht durch den Koordinaten-Nullpunkt, siehe Fig. 3. Der Wert für b beträgt 4,49, Maßgröße: $[10^{-9} \text{A}]$. Also liegt ein systematischer Dosierfehler vor. Er beeinflusst nicht q , aber sollte geprüft werden.

Tabelle 2

y [$\times 10^{-9}$ A]	x [$\times 10^{-9}$ gr/sec]	x · y	y ²	x ²
5,15	4,1	21,1	26,5	16,8
5,62	4,1	23,0	31,6	16,8
9,05	8,3	75,1	81,9	68,9
9,52	8,3	79,0	90,6	68,9
9,67	8,3	80,3	93,5	68,9
12,8	16,7	213,8	163,8	278,9
12,9	16,7	215,4	166,4	278,9
13,7	16,7	228,8	187,7	278,9
17,8	20,8	370,2	316,8	432,6
18,6	20,8	386,9	345,9	432,6
16,2	25,0	405,0	262,4	625
17,6	25,0	440,0	309,8	625
19,5	25,0	487,5	380,3	625
20,1	33,3	669,3	404,0	1108,9
20,7	33,3	689,3	428,5	1108,9
21,8	33,3	725,9	475,2	1108,9
22,0	33,3	732,6	484,0	1108,9
25,3	41,7	1055,0	640,1	1738,9
27,8	41,7	1159,3	772,8	1738,9
28,5	41,7	1188,5	812,3	1738,9
$\Sigma y = 334,3$	$\Sigma x = 458,1$	$\Sigma xy = 9246,0$	$\Sigma (y^2) = 6474$	$\Sigma (x^2) = 13469,5$

$$(\Sigma y)^2 = 111756$$

$$(\Sigma x)^2 = 209856$$

$$n = 20$$

$4,49 \times 10^{-9}$ A entsprechen $\frac{4,49}{0,534} \cdot 10^{-9} = 8,4 \times 10^{-9}$ gr/sec Probenfluß im Peakmaximum. Die Peakbreite in halber Höhe betrug (zufällig) 8,4 Sekunden, daraus folgt, daß der systematische Dosierfehler 1×10^{-9} gr Pyridin beträgt. Um überhaupt mit normalen Spritzen eine solche Eichmessung verwirklichen zu können, wurden Lösungen von Pyridin in einem pyridinfreien, die Messung nicht störenden Lösemittel vorgenommen. Die Konzentration betrug 7×10^{-4} g Pyridin pro 1 ml Lösung. 10^{-9} gr Pyridin entsprechen somit $1,4 \times 10^{-2}$ Mikroliter. Der (mittlere) systematische Dosierfehler betrug also + 0,014 Mikroliter, das sind aber immerhin relativ 28 % bis 3 % systematischer Fehler jener Mengen, die zur Dosierung der Testsubstanz verwendet wurden.

Grund für diesen Fehler: Probe aus dem Nadelvolumen der Spritze dampfte teilweise zusätzlich mit in das Trennsystem im Augenblick der Dosierung. Ein Fehler,

der in der Gas-Chromatographie bei höheren Arbeitstemperaturen stets zu berücksichtigen ist.

Auch dieser Einfluß ist Schwankungen unterworfen. Die zufälligen Schwankungen dieses systematischen Dosierfehlers haben die Streuungen der Meßwerte mitverursacht.

Trotzdem beschreibt die Ausgleichsgerade den linearen Zusammenhang zwischen den Stromwerten [A] und den Probenflüssen [gr/sec] gut, denn $r = 0,978$. Lügen alle Meßwerte streng auf einer Geraden, dann wäre $r = 1,00$.

Die weitere Bedeutung dieses wichtigen Regressionskoeffizienten r , der auch für ganz andere Zwecke bei der Suche nach Fehlern Bedeutung hat, wird in der nächsten Folge behandelt.