

METHODISCHE KONSEQUENZEN DES 3 σ -KRITERIUMS: ERKENNEN UND ERWEITERN METHODISCHER GRENZEN IN DER ANGEWANDTEN SPEKTROSKOPIE

KLAUS DOERFFEL

*Technische Hochschule 'Carl Schorlemmer',
Leuna-Merseburg, Sektion VC, DDR 42 Merseburg*

ABSTRACT

The possibilities and the limits of analytical methods may be described by testing the significance of difference measurements. This is valid for quantitative and qualitative analysis as well as for other analytical problems; consider especially the time resolution. All these results are widely applicable.

Jedes Analysenverfahren hat seine Grenzen hinsichtlich Zufallsfehler, Selektivität oder Analysendauer. Für die richtige Auswahl eines Analysenverfahrens müssen diese Grenzen quantisierbar und bekannt sein. Oft ist es wünschenswert, diese Grenzen zu erweitern. Das Erkennen und Erweitern derartiger methodischer Grenzen bei der Konzentrationsbestimmung, bei Selektivitätsproblemen und bei der Analysendauer soll im Folgenden untersucht werden.

1. AUSGANGSPUNKT

Viele der in der Analytik durchgeführten Messungen lassen sich als Differenzmessung auffassen.

$$\Delta y = y_2 - y_1 \quad (1)$$

Diese Differenz muß signifikant vom Zufallsfehler verschieden sein, nach den üblichen Regeln ist das gegeben, wenn

$$\Delta y = y_2 - y_1 > 3|\sigma_y|/\sqrt{2} = 3V_y y\sqrt{2} \quad (\bar{P} = 0,998) \quad (2)$$

σ_y = Absolutfehler;
 V_y = Variationskoeffizient.

Falls eine der beiden Messungen als fehlerlos zu betrachten ist (z.B. $y_1^* = 0$ oder $y_1^* = 100,0$ Prozent), so gilt

$$\Delta y = y_2 - y_1^* > 3\sigma_y = 3V_y y \quad (2a)$$

Dieses Signifikanzprinzip — eine Wertedifferenz wird in Einheiten des Zufallsfehlers gemessen und beurteilt — erweist sich zur methodischen Charakterisierung als außerordentlich tragfähig, besonders dann, wenn man die meßtheoretische Aussage ($\Delta y > 3\sigma_y$) mit geeigneten stofflichen Parametern koppeln kann.

2. KONZENTRATIONSBESTIMMUNG

Metrologische Grenzen

Durch die Forderung nach Signifikanz einer Meßwertdifferenz ist die Konzentrationskala für ein Analysenverfahren nach unten hin eindeutig abgegrenzt. Dieses Signifikanzprinzip hat in der Spurenanalyse allgemeine Bedeutung erlangt^{1,2}. Es ist aber auch möglich, für Analysenverfahren prinzipielle Grenzen aus Diskussion dieses Signifikanzkriteriums abzuleiten.

Wenn man in Copolymeren AB — z.B. mittels Kernresonanz — die Sequenzlängenverteilung bestimmen will, wertet man die Intensität strukturempfindlicher Signale aus. Mit steigendem Gehalt an A verändert sich die Zahl der BB-Verknüpfungen x_{BB} , entsprechendes gilt für steigenden Gehalt von B. Mit wachsender Länge der Monomerketten verringert sich bei konstanter Zusammensetzung die Anzahl der AB-Verknüpfungen x_{AB} . Entsprechend vermindert sich die Intensität der zugehörigen Signale y_{AB} oder y_{BB} . Für die folgenden Betrachtungen werden die gemessenen Intensitäten auf das stärkste Signal normiert. Im Falle $y_{AA} > y_{AB}, y_{BB}$ gilt für den signifikanten Nachweis

$$x_{AB}/x_{AA} > 3V_y; x_{BB}/x_{AA} > 3V_y \quad (3)$$

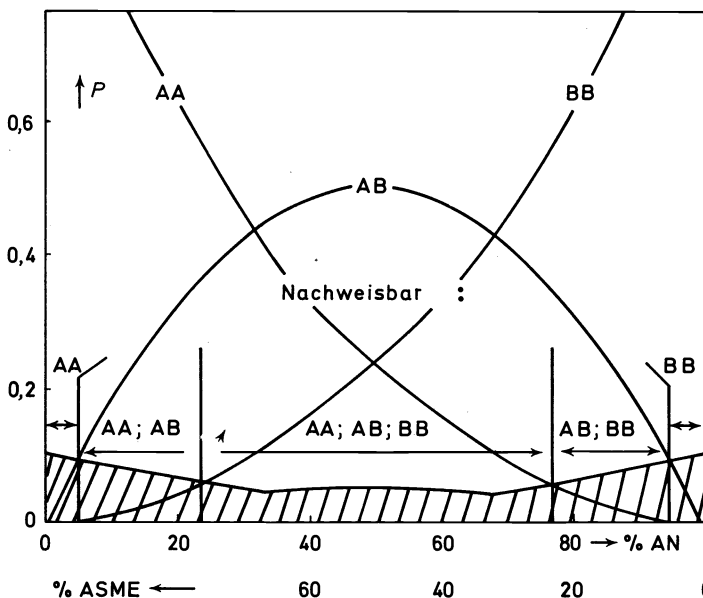


Abb. 1. Begrenzung der Sequenzlängenanalyse von Acrylsäuremethylester (ASME)–Acrylnitril (AN)–Copolymeren (für $V_y = 0.03$)

Bei der Darstellung der Diadenverteilung (*Abb. 1*) ergeben sich damit unterschiedliche Bereiche für die Nachweisbarkeit der Verknüpfungsstellen AA, AB und BB in Abhängigkeit vom Molenbruch.

Weniger Beachtung hat bisher die Abgrenzung der Konzentrationskala gegen 100 Prozent gefunden, die durch das gleiche Kriterium bedingt wird. Der von 100 Prozent noch signifikant ($P = 0,998$) unterscheidbare größte Gehalt \bar{x}_{ob} ist gegeben durch

$$\bar{x}_{ob} \leq 100 - 3\sigma_x/\sqrt{n_A} = 100 - 3V_x\bar{x}/\sqrt{n_A} \quad (4)$$

n_A = Zahl der Parallelbestimmungen.

Für die Bestimmung des Hauptbestandteils \bar{x}_H erhält man damit bei üblicher analytischer Präzision ($V_H = 0,01 \triangleq 1$ Prozent) und bei $n_A = 3$ Parallelbestimmungen als obere Grenze

$$\bar{x}_{ob} = 100 - 3V_H\bar{x}_H/\sqrt{3} \approx 98,3 \text{ Prozent.}$$

Oberhalb dieser Grenze muß die Reinheitsangabe indirekt aus dem Gehalt an Verunreinigungen $\Sigma \xi_i$ mit Variationskoeffizient V_ξ erfolgen. Wegen

$$\Sigma \xi_i V_\xi < \bar{x}_H V_H$$

lassen sich auf diesem indirekten Wege sehr viel höhere Reinheitsgrade ermitteln³.

Chemische Grenzen

Die meisten Analysenverfahren benötigen eine experimentell gewonnene Eichfunktion. Im einfachsten Falle (z.B. Photometrie) besteht zwischen Meßwert y (Extinktion) und Konzentration x Proportionalität, es ist

$$\begin{aligned} y &= bx \\ b &= dy/dx = \text{Empfindlichkeit} \end{aligned} \quad (5)$$

Man erhält als kleinsten signifikant nachweisbaren Wert

$$x_u = y_u/b = 3\sigma_y/b$$

In der Photometrie entspricht die Empfindlichkeit b dem Extinktionskoeffizienten ϵ . Er liegt bei intensiven Banden des Elektronenspektrums in der Größenordnung von 10^4 – 10^5 , im Infrarotspektrum um drei Größenordnungen tiefer. Bei einem Extinktionsmeßfehler von 0,02 Extinktionseinheiten folgt als prinzipiell nicht unterschreitbare Konzentrationsgrenze 10^{-5} – 10^{-6} mol/l in der UV-Spektroskopie und 10^{-2} – 10^{-3} mol/l in der IR-Spektroskopie. Diese Werte stimmen gut mit experimentellen Ergebnissen überein, z.B. bei der Monostyrolbestimmung mittels UV-Spektroskopie liegt die Grenze bei etwa 10^{-5} mol/l, bei der Analyse von Xylolgemischen (IR-Spektroskopie) um 10^{-2} mol/l. Analog läßt sich über die Empfindlichkeit voraussagen, ob sich für eine spezielle Aufgabe die Atomabsorption oder die Flammenemission besser eignet⁴. Generall kann man aus der Empfindlichkeit b prinzipielle Grenzen abschätzen, um das Nachweisvermögen von Analysenverfahren zu vergleichen.

Verbesserung von x_u

Der kleinste signifikant nachweisbare Konzentrationswert wird durch das

Zusammenwirken von Zufallsfehler σ_y und Empfindlichkeit b bedingt. Eine Verringerung von x_u ist möglich durch Beeinflussung beider Größen und zwar entweder durch Minimieren des Zufallsfehlers ($\sigma_y \rightarrow \text{Min}$) oder durch Maximieren der Empfindlichkeit ($b \rightarrow \text{Max}$).

Den Zufallsfehler σ_y kann man durch Einsatz fehlervermindernder Meßverfahren verringern. Ein solches Verfahren ist z.B. die Integration von Analysensignalen nach der Zeit oder nach einer zeitproportional registrierten Größe. Wenn die Integrationszeit erheblich größer ist als die Korrelationsdauer des Rauschens, erfolgt eine deutliche Verminderung der Rauschamplitude. Theoretisch läßt sich zeigen, daß die Integration über die Zeit am Signalmaximum besonders günstig ist⁵. Auf diese Weise konnte bei der spektrometrischen Lösungsanalyse mit dem stabilisierten Bogen⁶ die Nachweisgrenze bedeutend verbessert werden (Abb. 2).

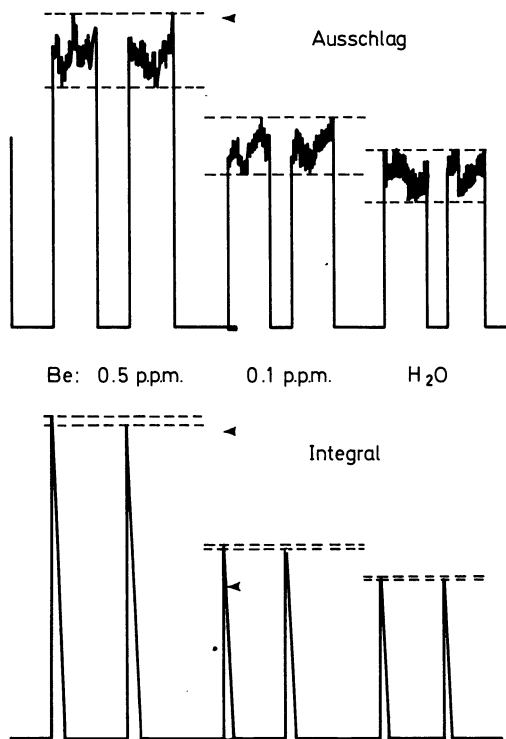


Abb. 2. Verbesserung des Zufallsfehlers bei Meßwertintegration

Ausgangspunkt zum Maximieren der Empfindlichkeit b sind die physikalisch-chemischen Grundlagen der angewandten Analysenmethode. Beispielsweise steigt die Absorptionsintensität A einer IR-Absorptionsbande wegen $A \sim (\partial\mu/\partial r)^2$ (μ = Bindungsdipol, r = Kernabstand) mit steigender Polarisierung der betrachteten Gruppe. Dieser für die quantitative Analyse

erwünschte Effekt läßt sich oft bereits durch passende Wahl des Lösungsmittels erreichen. Als besonders günstiger Fall darf es angesehen werden, wenn man die lösungsmittelabhängigen starken Intensitätserhöhungen bei Fermiresonanz ausnutzen kann⁷. Benutzt man von den aufgespalteten Banden weiterhin die Summe der Extinktionen, so läßt sich theoretisch die Nachweisgrenze um den Faktor $\frac{1}{2}\sqrt{2}$ verbessern, das Experiment bestätigt dies.

3. SELEKTIVITÄTSPROBLEME

Metrologische Grenzen

Zur qualitativen Analyse wertet man die Lage eines Signals aus. Zwei benachbarte Signale (z.B. IR-Banden) gelten dann als aufgelöst, wenn ihre Maxima deutlich unterscheidbar sind. Dieser Begriff des 'deutlichen Unterscheidens' wird meist zusätzlich erklärt, z.B. durch die Angabe '30 Prozent Tal' o.ä. Das Signifikanzprinzip erlaubt die Bedingung für die Signalauflösung eindeutig und ohne Zusatzannahmen zu erklären: Zwei benachbarte Signale dürfen als aufgelöst betrachtet werden, wenn die Intensitätsdifferenz zwischen dem Signalmaximum und dem anschließenden Tal die Signifikanzbedingung (Gl. 2) erfüllt. Falls sich zwei durch eine Lorentzfunktion beschreibbare Signale gleicher Höhe h und gleicher Halbwertsbreite $\Delta z_{\frac{1}{2}}$ gerade bis zur Halbwertsintensität überlagern (Abb. 3), erhält man für die verrauschte Summenkurve als Maximumintensität⁸

$$y_M = h + h/5 = 6/5 h \quad (7)$$

und als Talintensität y_T

$$y_T = \frac{1}{2}h + \frac{1}{2}h = h \quad (8)$$

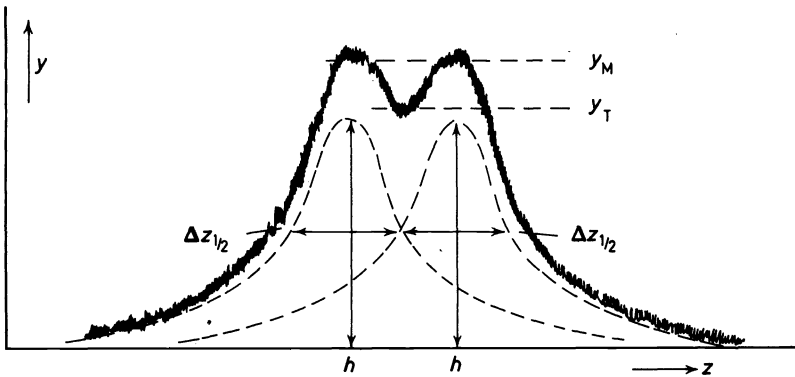


Abb. 3. Aufgelöste Signale

Zum signifikanten Nachweis der Intensitätsdifferenz $y_M - y_T$ muß gelten

$$y_M - y_T = h/5 > 3V_h h\sqrt{2} \quad (9)$$

Daraus folgt

$$V_h \leq 0,05 \quad (10)$$

Bei einem Relativfehler von fünf Prozent ist ein Tal von $h/5 \triangleq 20$ Prozent für die Signalauflösung erforderlich. Eine geringere Zufallsstreuung vermindert diese Größe—und damit den Abstand zweier auflösbarer Signale. Bei einem größeren Zufallsfehler als fünf Prozent (rel.) sind zwei Signale im Abstand $\Delta z_{\frac{1}{2}}$ nicht mehr aufzulösen.

Zu Zwecken der quantitativen Analyse wertet man die Intensität des Analysensignals aus. Um systematische Fehler zu vermeiden, dürfen Nachbarnsignale keinen Intensitätsbeitrag liefern. Diese Bedingung für das 'isolierte Analysensignal'⁹ ist dann erfüllt, wenn der Intensitätsbeitrag y_s eines benachbarten Störsignals kleiner ist als der Zufallsfehler σ_y , (Abb. 4), d.h.

$$y_s < 3\sigma_y \quad (11)$$

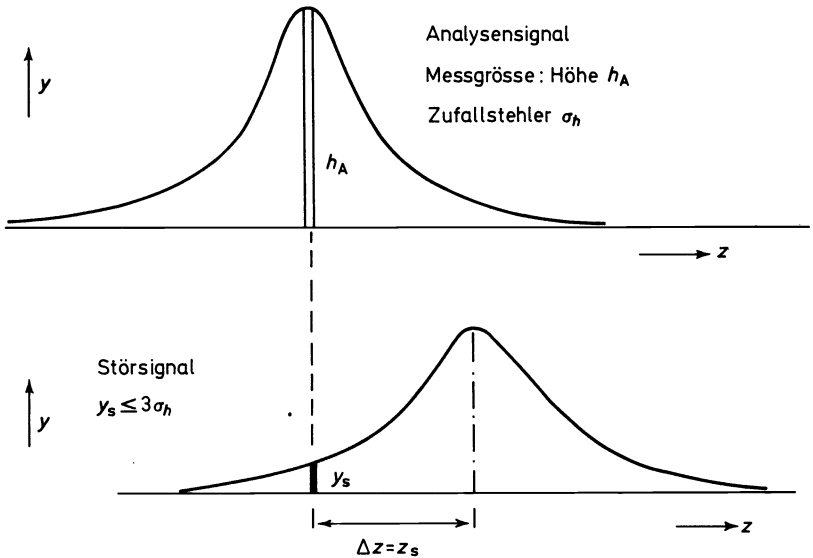


Abb. 4. Signalmindestabstand für isoliertes Signal bei Auswertung der Maximumintensität

Es soll wieder vorausgesetzt werden, daß Analysen- und Störsignal durch eine Lorentzfunktion beschreibbar sind und daß sie gleiche Halbwertsbreite und gleiche Maximumintensität besitzen. Der bei Auswerten der Maximumintensität zur Erfüllung von Gl. 11 erforderliche Abstand der Signalmaxima ergibt sich dann aus

$$z_A - z_s = \Delta z = \frac{1}{2} \Delta z_{\frac{1}{2}} \left((1 - 3V_h)/3V_h \right)^{\frac{1}{2}} \quad (12)$$

Je präziser die Messung erfolgt, desto größer muß der Abstand des Analysensignals zum Nachbarsignal sein. Außerdem dürfen zwei Signale bei Auswertung der Maximumintensität näher beieinander liegen als bei der Flächenauswertung.

Wird der durch Signifikanzbedingung und Signalfunktion geforderte Mindestabstand unterschritten, dann muß der Intensitätsbeitrag des Nach-

barsignals rechnerisch berücksichtigt werden d.h., man kommt zur indirekten Bestimmung. Aus der Diskussion von Signifikanz und Bandenfunktion wird damit der Bereich direkter und indirekter Analysenverfahren abgegrenzt.

Chemische Grenzen

Die Bedingungen für das isolierte Signal ließen sich meßtheoretisch exakt erfassen. Zu untersuchen ist, ob sich auch aus chemischen Stoffdaten voraussagen läßt, ob bei einem vorgegebenen System isolierte Signale zu erwarten sind.

In der Infrarotspektroskopie ist es üblich, Bandenlagen mit Reaktivitätsparametern, z.B. den Taftschen σ^* -Werten zu korrelieren. Man kann zeigen, daß eine solche straffe Korrelation auch für die strukturempfindlichen CH_2 -Deformationsschwingungen in Acryl-Homopolymeren und für die AA- bzw. BB-Verknüpfungen in Copolymeren erfüllt ist. Mit der üblichen IR-Bandenhalbwertsbreite von etwa 15 cm^{-1} kann man den Abstand angeben, den zwei isolierte Banden besitzen müssen. Daraus folgt durch Verdoppeln der notwendige Abstand der AA-BB-Banden im IR-Spektrum. Aus der Differenz der beiden für die Monomeren gültigen σ^* -Konstanten läßt sich angeben, ob bei dem betreffenden Copolymeren die strukturempfindlichen Banden als isolierte Signale auswertbar sind. Im Falle von

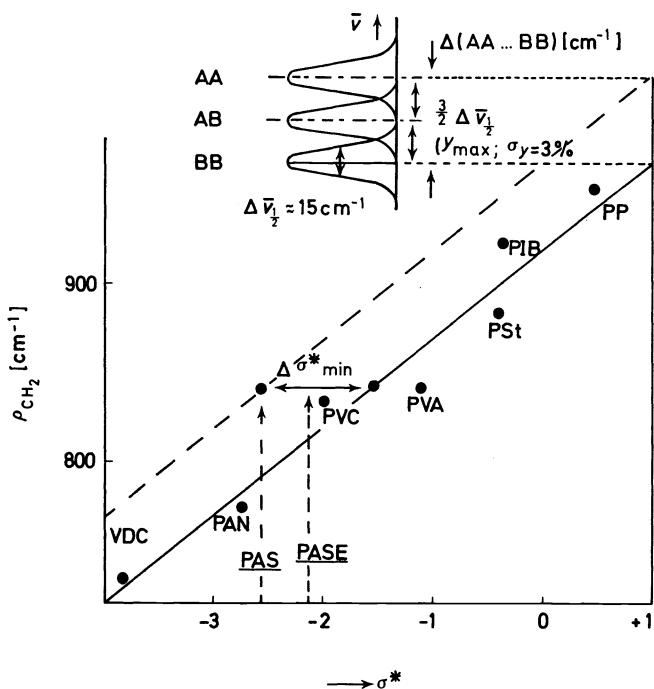


Abb. 5. Signalabstand aus linear-free-energy (LFE) Beziehung. (VDC, Vinylidenchlorid; PAN, Polyacrylnitril; PAS, Polyacrylsäure; PASE, Polyacrylsäureäthylester; PVC, Polyvinylchlorid; PVA, Polyvinylacetat; PSt, Polystyrol; PIB, Polyisobutylene; PP, Polypropylen)

Acrylsäure–Acrylsäureäthylester–Copolymeren (Abb. 5) ist dies sicherlich nicht möglich. Die Kombination von LFE-Beziehungen mit dem 3σ -Kriterium erlaubt somit Voraussagen auf die Bedingungen zur Analyse eines speziellen stofflichen Systems.

Verbesserungsmöglichkeiten

Bei allen Selektivitätsbetrachtungen spielte der Zufallsfehler eine bedeutende Rolle. Alle Maßnahmen, die den Zufallsfehler vermindern, erhöhen gleichzeitig die Selektivität des Verfahrens.

Weiterhin geht in alle Betrachtungen die Bandenhalbwertsbreite als entscheidende Größe ein. Durch zweimaliges Differenzieren läßt sich die Bandenhalbwertsbreite im Verhältnis 1:0,3 verringern, das führt—bei geeigneter Rauschunterdrückung—zu einem erheblichen Gewinn an Auflösung (Abb. 6)¹⁰.

Alle metrologischen Maßnahmen versagen, wenn zwei Signale unmittelbar aufeinander liegen. Es muß dann versucht werden, auf chemischem Wege die notwendige Unterscheidbarkeit herbeizuführen. Es ist beispielsweise mit allen spektroskopischen Methoden problematisch, in einem Olefin die

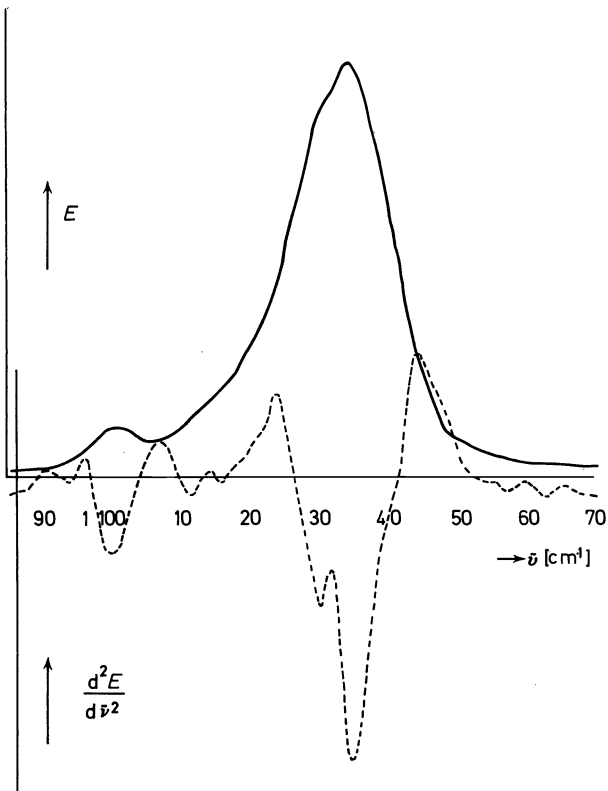


Abb. 6. IR-Absorptionsspektrum [$E = f(\bar{\nu})$] und Derivativspektrum ($d^2E/d\bar{\nu}^2$) der SO_2 -Valenzschwingung

METHODISCHE KONSEQUENZEN DES 3 σ -KRITERIUMS

Stellung der Doppelbindung anzugeben. Im UV-Spektrum unterscheiden sich solche Olefine überhaupt nicht. Führt man aber im passenden Lösungsmittel das Olefin in einen EDA-Komplex über, so unterscheiden sich die einzelnen Olefine nun auch im UV-Spektrum. Besonders augenfällige Unterschiede findet man bei Doppelbindungen in der Nähe des Moleküleendes (Abb. 7). EDA-Komplexe erscheinen somit als eine einfache Möglichkeit, im Olefin die Lage der Doppelbindung auf einfachem Wege anzugeben. EDA-Komplexe erlauben übrigens auch eine quantitative Aromatenbestimmung in sichtbarem Gebiet (Tab. 1). Die Prozeßkontrolle kann auf diese Weise mit sehr einfachen Geräten auskommen.

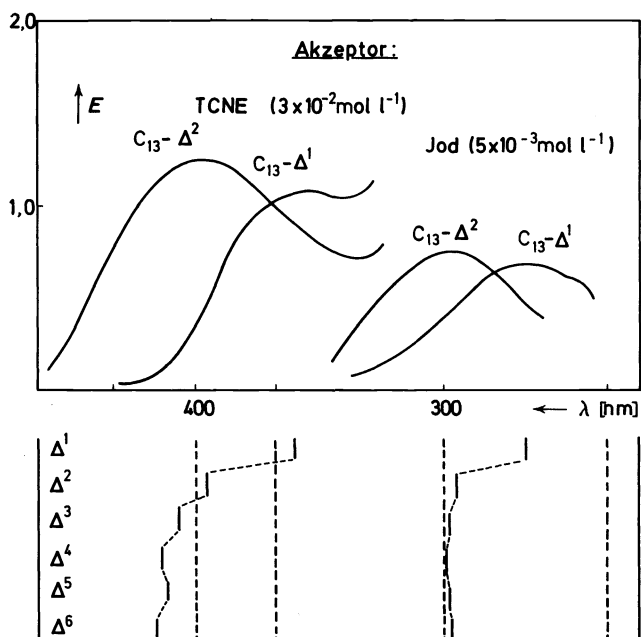


Abb. 7. Unterscheidung von Olefinen ($\Delta 1 \dots$) mittels EDA-Komplexbildung. (TCNE, Tetracyanoäthylen)

Tabelle 1. Absorptionsmaxima und analytisch nutzbarer Konzentrationsbereich von EDA-Komplexen mit Tetracyanoäthylen (Lösungsmittel 1,2-Dichloräthan)

Aromat	λ_{max} nm	Konz.-bereich, mol l^{-1}
Benzol	384	10^{-3} – 2×10^{-2}
Toluol	406	7×10^{-4} – 10^{-2}
Mesitylen	462	10^{-3} – 10^{-2}

4. ZEITPROBLEME

Zunehmend an Bedeutung gewinnen Untersuchungen von kurzdauernden oder zeitabhängigen Erscheinungen. Auch bei derartigen analytischen Problemen spielten Signifikanzbetrachtungen eine wichtige Rolle.

Metrologische Grenzen

Als einfachster Fall soll angenommen werden, daß ein Intensitäts-Zeit-signal registriert wird. Bei ausreichender langer Registrierdauer entsteht ein 'Rechtecksignal', dessen Flanken durch eine Exponentialfunktion mit der Zeitkonstante τ beschrieben werden (Abb. 8), es gilt für die Vorderflanke

$$y = y_{\max} [1 - \exp(-t/\tau)] \quad (13)$$

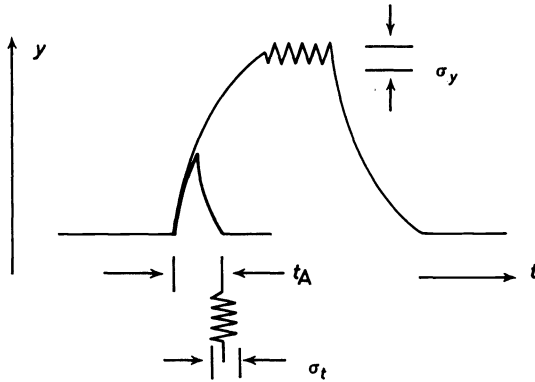


Abb. 8. Rechtecksignal und Signaltorso bei ungenügender Registrierdauer

Bei sehr kleiner Registrierdauer (z.B. infolge zu geringer Probenmenge) erhält man einen nicht voll ausgedehnten Peak. Seine Intensität hängt ab von y_{\max} und von der Dauer des beobachteten Vorganges t_A . Die Intensität des kleinsten, noch nachweisbaren Signaltorsos folgt wieder aus Gl. 2. Der Zufallsfehler von y setzt sich zusammen aus σ_y und zusätzlich einem durch Fluktuation des Zeitpunktes t bedingten Anteil (Abb. 8), es ist

$$\sigma_{\text{ges}}^2 = \sigma_y^2 + (dy/dt)^2 \sigma_t^2 \quad (14)$$

Besteht zwischen Signalintensität y und Konzentration x Proportionalität ($y = bx$), so erhält man als minimale Analysenzeit

$$t/\tau > -2,303 \log(x - 3\sigma_x/x) = -2,303 \log(1 - 3V_x) \quad (15)$$

Günstige Meßbedingungen sind gegeben bei einem flinken Anzeigesystem ($\tau \rightarrow \text{Min}$) und bei hoher Konzentration ($x \gg \sigma_x$). Bei Messungen in der Nähe der Nachweisgrenze ist es vorteilhafter, mit möglichst konzentrierten Lösungen zu arbeiten und dabei kurze Meßzeit in Kauf zu nehmen als umgekehrt zu verfahren.

METHODISCHE KONSEQUENZEN DES 3σ -KRITERIUMS

Komplizierter liegen die Verhältnisse, wenn die Abhängigkeit zweier Größen voneinander registriert werden soll (z.B. Prozent $D = f(\tilde{\nu})$ in IR-Spektrum) und es ist ein Zeitvorgang überlagert (Abb. 9). Die Signale werden nur dann richtig registriert, wenn die Registrierdauer klein ist gegenüber der Halbwertsdauer des Zeitvorganges. Andernfalls treten zunächst erhebliche Intensitätsverfälschungen auf, bei noch ungünstigeren Verhältnissen von Registrierdauer zu Halbwertszeit beobachtet man sogar scheinbare Lageverschiebungen. Da man dann nicht mehr am Signalmaximum mißt, vermindert sich das Nachweisvermögen für die ohnedies schwachen Signale zusätzlich.

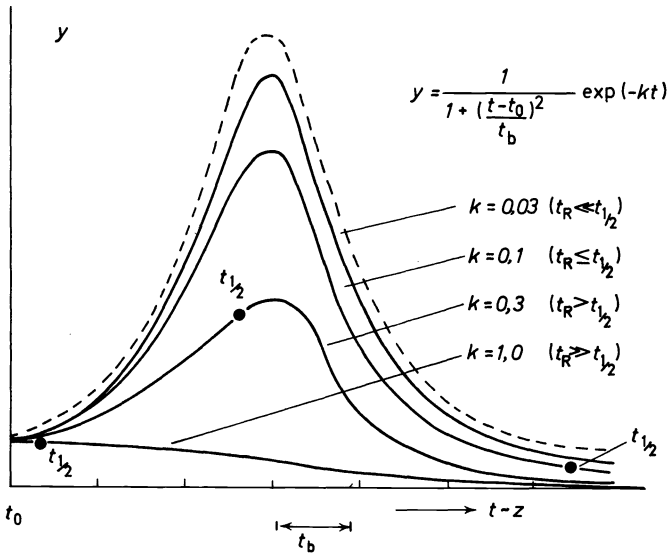


Abb. 9. Verfälschung eines Lorentzsignals in Abhängigkeit von Registrierdauer t_R und Halbwertszeit $t_{1/2}$

Aus Kenntnis der Halbwertszeit und der Registrierzeit kann man auch bei derartigen Problemen in allgemeiner Form abschätzen, ob eine Messung überhaupt sinnvoll ist.

Verbesserungsmöglichkeiten

Bei der Registrierung zeitabhängiger Vorgänge gilt allgemein, daß die Registrierdauer kurz sein muß gegenüber der Halbwertszeit. Nicht in allen Fällen steht aber eine genügend schnell ansprechende Registrierapparatur zur Verfügung. Es ist dann prinzipiell nicht möglich, die Intensität zweier nacheinander registrierter Signale zu vergleichen, wie dies bei Beobachtungen der CIDNP gefordert war. Das Auffinden einer gemeinsamen Zeitbasis ist aber möglich, wenn man das Zeitgesetz des Intensitätsabfalls kennt und die Zeitdifferenz zwischen den beiden Signalen rechnerisch berücksichtigt¹¹.

Auf chemischen Wege schließlich ist es möglich, die Abklingdauer des beobachteten Prozesses zu verzögern. Damit lassen sich auch mit relativ langsamen Apparaturen derartige Zeitabläufe verfolgen. Beispielsweise lassen sich Phenoxylradikale beträchtlich länger beobachten, wenn man sie in einem geeigneten Kobaltkomplex einbaut¹².

LITERATUR

- ¹ G. Ehrlich, *Wiss. Zs. TH, für Chemie Leuna-Merseburg*, **11**, 22 (1969).
- ² H. Kaiser und H. Specker, *Z. Anal. Chem.* **149**, 46 (1956).
- ³ Autorenkollektiv, *Analytikum*, S. 478. VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie: Leipzig (1971).
- ⁴ J. B. Dawson und B. D. Tucker, *Colloq. Spectr. Int. XVI, Preprints Bd. II*, S. 347.
- ⁵ W. Hildebrandt, *Diss., Merseburg* (1969).
- ⁶ H. P. T. Gehlsen-Lorenzen, K. Holland-Letz und K. P. Schumacher, *Diss., Merseburg* (1972).
- ⁷ M. Schulze, *Diplomarbeit, Merseburg* (1973).
- ⁸ K. Doerffel, *Chem. Techn.* **25**, 94 (1973).
- ⁹ K. Doerffel, *Chem. Analit.* **17**, 615 (1972).
- ¹⁰ K. Dathe, K. Doerffel und E. Müller, *Z. Chem.* **12**, 425 (1972).
- ¹¹ K. Doerffel, W. Höbold und R. Horn, *J. Prakt. Chem.* **313**, 991 (1971).
- ¹² A. Takács, L. Omelka und K. Vesely, *J. Phys. Chem.* **76**, 17, 2575 (1971).