Εθνικόν και Καποδιστριακόν Πανεπιστήμιον Αθηνών
ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ
Τομέας Φαρμακευτικής Χημείας

Στατιστική - Χημειομετρία

Μεταπτυχιακό Φαρμ. Ανάλυσης & Αναλ. Χημείας

Ιωάννης Ντότσικας

Λέκτορας

Πειραματικός Σχεδιασμός (Experimental Design, DOE)

- Ως πειραματικός σχεδιασμός ορίζεται η **συστηματική στατιστική μελέτη** πειραματικών αποκρίσεων

- Στόχος: Η **βελτιστοποίηση** των παραμέτρων (ελεγχόμενων μεταβλητών) που τις επηρεάζουν, μέσω συγκεκριμένων πειραμάτων που δίδουν το **μέγιστο αριθμό πληροφοριών** από τα δεδομένα, με το **μικρότερο αριθμό** πειραματικών διαδικασιών.

- Βελιστοποίηση: βελτίωση της απόδοσης μίας διαδικασίας, προκειμένου να επιτευχθεί το μέγιστο όφελος, π.χ. Αναλυτικό σήμα, απόδοση αντίδρασης, διαχωρισμός…..

- Χρήση μαθηματικών μοντέλων για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Ορολογία στον πειραματικό σχεδιασμό

Παράγοντας (factor): μία ελεγχόμενη ανεξάρτητη μεταβλητή, ποσοτική ή ποιοτική

Επίπεδα του παράγοντα (levels): διακριτές τιμές στις οποίες κυμαίνεται ο παράγοντας

Απόκριση (response): το αποτέλεσμα της μετρούμενης παραμέτρου για τις διάφορες τιμές των παραγόντων

Κύρια επίδραση (main effect): η μέση επίδραση ενός παράγοντα επί όλων των παραμέτρων και των επιμέρους τιμών τους (πρώτης τάξης)

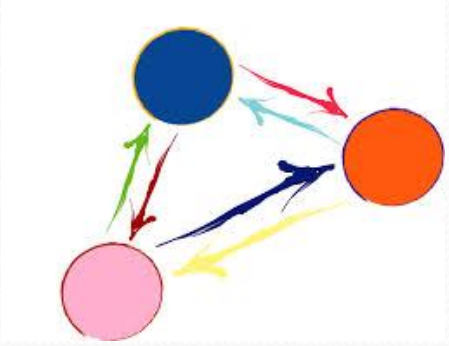
Αλληλεπίδραση (interaction): η επίδραση ενός παράγοντα α από την τιμή ενός παράγοντα β ή/και μεγαλύτερης τάξης επί του ίδιου παράγοντα (α^2)

Μία παράμετρος τη φορά (one-factor-a-time, OFAT)

Πρόκειται για την τροποποίηση μίας παραμέτρου τη φορά με διατήρηση **όλων των υπολοίπων σταθερών**.

Βρίσκεται κάθε φορά η βέλτιστη τιμή κάθε παραμέτρου

ΟΜΩΣ: Με τον τρόπο αυτό δεν μπορούν να παρατηρηθούν **πιθανές αλληλεπιδράσεις**!



Απαιτείται μία πιο αξιόπιστη μέθοδος βελτιστοποίησης που να λαμβάνει υπ' όψιν και τις αλληλεπιδράσεις και να τις υπολογίζει!!

Οικοδόμηση σχεδιασμού

Προσεκτική επιλογή ενός μικρού αριθμού πειραμάτων

1. **Καθορισμός του στόχου της έρευνας**. Καλύτερη κατανόηση, οργάνωση των σημαντικών μεταβλητών, εύρεση των βέλτιστων όρων.

2. **Καθορισμός των μεταβλητών που θα ελεγχθούν** κατά τη διάρκεια του πειράματος (σχεδιασμένες μεταβλητές- design variables), καθώς και των **επιπέδων** που θα διακυμανθούν.

3. **Καθορισμός των παραμέτρων που θα μετρηθούν** για να περιγράψουν την έκβαση των πειραματικών διαδικασιών (αποκρίσεις- response variables).

4. **Επιλογή μεταξύ των διαθέσιμων τυποποιημένων μοντέλων**, αυτού που είναι συμβατό με το στόχο, τον αριθμό των σχεδιασμένων μεταβλητών και την ακρίβεια των μετρήσεων, με ένα λογικό κόστος

Οικοδόμηση σχεδιασμού

5. **Εκτέλεση των πειραμάτων**

6. **Στατιστική ανάλυση των δεδομένων**

Αν ένας πειραματικός σχεδιασμός δεν οδηγήσει στη λύση του “προβλήματος”, τότε από την παρεχόμενη πληροφορία (στάδιο 6) μπορεί να προκύψει **νέος σχεδιασμός**!

Προκαταρκτικά πειράματα

Για να είναι επιτυχής ο πειραματικός ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, πρέπει να προηγηθούν προκαταρκτικά πειράματα για να προσδιοριστούν **τα όρια** εντός των οποίων θα μελετηθούν οι μεταβολές **της απόκρισης ή των αποκρίσεων**

(Είναι δυνατή η **ταυτόχρονη** βελτιστοποίηση αρκετών παραμέτρων!)

Αν δεν καθοριστούν επιτυχώς τα όρια, πρέπει να γίνει νέος ΟΡΘΟΛΟΓΙΚΟΤΕΡΟΣ σχεδιασμός!

Σημείωση: Πολλές φορές τα όρια τίθενται εκ των πραγμάτων (π.χ. Θέρμανση – σημείο ζέσεως)

Καθορισμός παραμέτρων προς βελτιστοποίηση

Ένας άλλος στόχος των προκαταρκτικών πειραμάτων είναι μία πρώτη διάκριση των **κρίσιμων μεταβλητών** για την τιμή της απόκρισης.

Ο πειραματικός σχεδιασμός δεν είναι δυνατόν να περιέχει πολλές μεταβλητές. Αυξάνεται ραγδαία ο αριθμός των πειραμάτων.

Βρίσκονται οι βέλτιστες τιμές των **μη κρίσιμων παραμέτρων** και δεν συμμετέχουν στον επακόλουθο πειραματικό σχεδιασμό (σταθερές τιμές).

Καθορισμός παραμέτρων προς βελτιστοποίηση (2)

Εάν δεν είναι σαφές ποιες είναι οι σημαντικότερες παράμετροι, τότε μπορεί να εφαρμοστεί ένας ειδικός πειραματικός σχεδιασμός (**Plackett-Burman**) **τύπου σάρωσης (screening)**.

-Σε αυτό με μικρό αριθμό πειραμάτων συμπεριλαμβάνω όλες τις παραμέτρους.

-Εισάγω και κάποιες ‘φανταστικές’ (dummies).

-Με στατιστικά κριτήρια βρίσκω ποιες είναι σημαντικές για την απόκριση

-Αυτές εισάγονται κατόπιν στον πειραματικό σχεδιασμό προς βελτιστοποίηση

Καθορισμός παραμέτρων προς βελτιστοποίηση (2)

Ενδεικτικά:

Έστω ότι έχω 7 παραμέτρους προς μελέτη και 4 dummies

Μελετώνται οι παράμετροι σε 2 επίπεδα (υψηλό **+1**, χαμηλό **-1**) εντός **12** μόλις Πειραμάτων

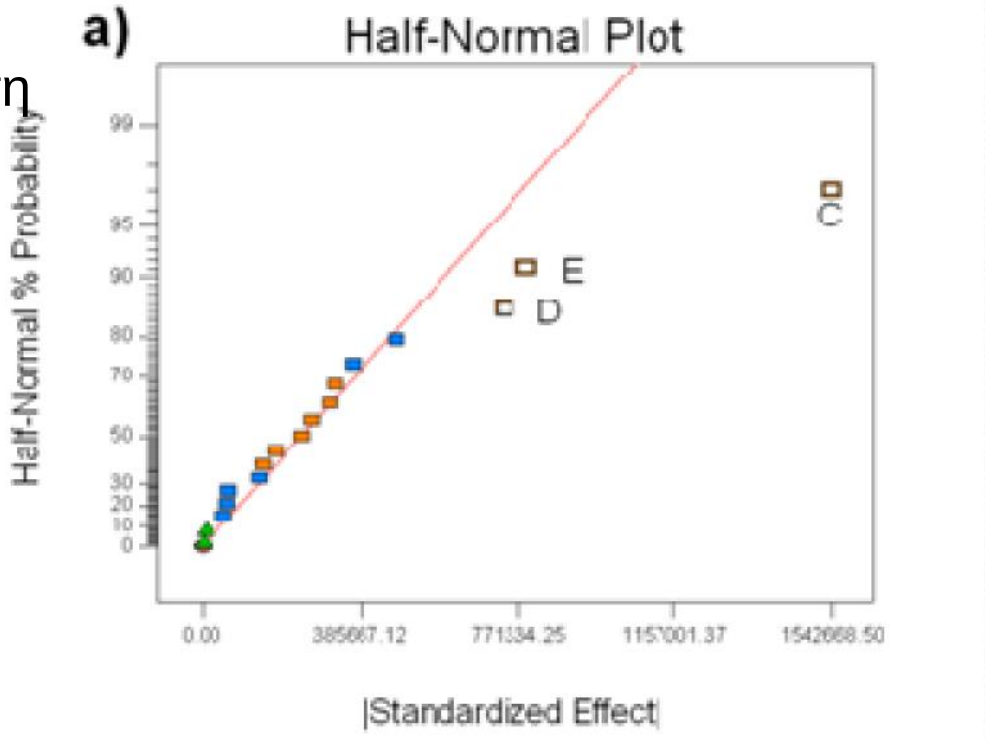
Ακολουθεί στατιτιστική ανάλυση για εύρεση των πραγματικά σημαντικών

TABLE 3.18: Plackett-Burman Design in 12 Runs for up to 11 Factors

	Pattern	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}
1	++++++++++	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
2	-+-+++---+-	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1
3	--+-+++---+	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1
4	+--+-+++---	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1
5	-+--+-+++--	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1
6	--+--+-+++-	-1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1	-1
7	---+--+-+++	-1	-1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1	+1
8	+---+--+-++	+1	-1	-1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	+1
9	++---+--+-+	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1
10	+++---+--+-	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	-1	+1	-1
11	-+++---+--+	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	-1	+1
12	+-+++---+--	+1	-1	+1	+1	+1	-1	-1	-1	+1	-1	-1

Καθορισμός παραμέτρων προς βελτιστοποίηση (2)

Οι στατιστικά σημαντικές παράμετροι που έχουν επίδραση στην απόκριση **C**, **E**, **D** θα χρησιμοποιηθούν στον πειραματικό σχεδιασμό για βελτιστοποίηση της απόκρισης (προκύπτουν από το διάγραμμα ημικανονικής κατανομής)



ΠΡΟΦΑΝΩΣ, δεν μπορεί να προκύψει μία dummy έχουσα στατιστικά σημαντική επίδραση στην απόκριση.

Παραγοντικός σχεδιασμός (factorial design)

Η περίπτωση 2^{κ} αποτελεί την απλούστερη περίπτωση παραγοντικού σχεδιασμού.

2 = αριθμός επιπέδων

Τα επίπεδα κωδικοποιούνται ως **-1** και **+1** (**coded** values)

κ = αριθμός παραγόντων

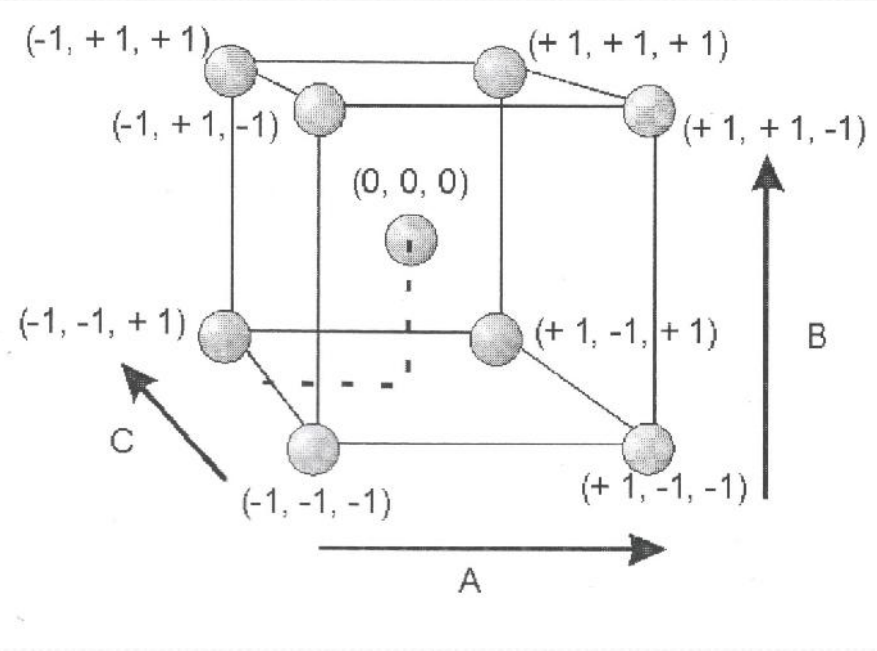
Οι παράγοντες μπορεί να είναι ποσοτικοί ή ποιοτικοί

Το 2^{κ} αντιστοιχεί στον αριθμό των πειραμάτων, π.χ. $2^3=8$ πειράματα (8 συνδυασμοί)

The experimental matrix of the 2^3 factorial design.

Reagent A (X_1)	Reagent B (X_2)	Reagent C (X_3)
−1	−1	−1
1	−1	−1
−1	1	−1
1	1	−1
−1	−1	1
1	−1	1
−1	1	1
1	1	1

Σχηματικά, ο σχεδιασμός μπορεί να απεικονιστεί υπό μορφή κύβου (2^2, τετράγωνο)



Για κ>3 δεν υπάρχει τρόπος απεικόνισης του σχεδιασμού

Σε αντίθεση με το OFAT, έχουμε ταυτόχρονη αλλαγή όλων των παραγόντων!

Μπορούμε να εκτιμήσουμε τις αλληλεπιδράσεις των παραγόντων (π.χ. τη διαφοροποίηση στην αλλαγή του παράγοντα X_1 όταν ο παράγοντας X_2 είναι στο υψηλότερο και στο χαμηλότερο επίπεδο)

Προκύπτει η ακόλουθη μαθηματική σχέση:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

Δευτεροβάθμια

Quadratic

$$\hat{y} = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2$$

Τριτοβάθμια

Cubic

$$\hat{y} = \text{quadratic model} + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 + \beta_{112} x_1^2 x_2 + \beta_{113} x_1^2 x_3 + \beta_{122} x_1 x_2^2 + \beta_{133} x_1 x_3^2 + \beta_{223} x_2^2 x_3 + \beta_{233} x_2 x_3^2 + \beta_{111} x_1^3 + \beta_{222} x_2^3 + \beta_{333} x_3^3 +$$

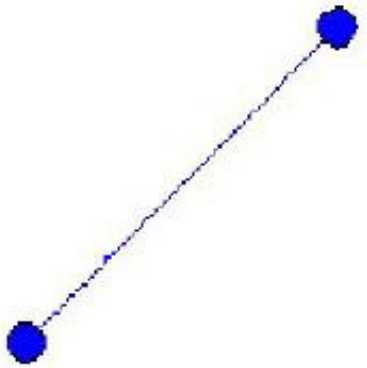


FIGURE 3.13
Linear Function

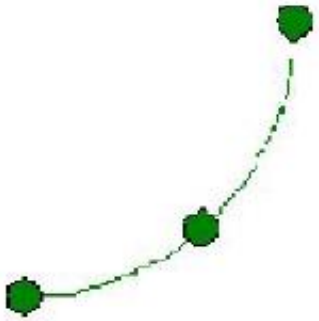


FIGURE 3.14
Quadratic Function

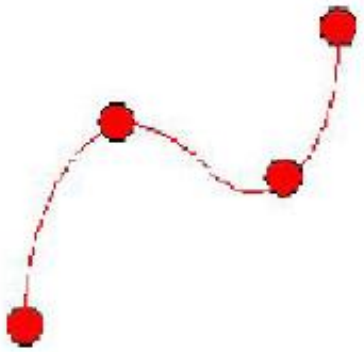
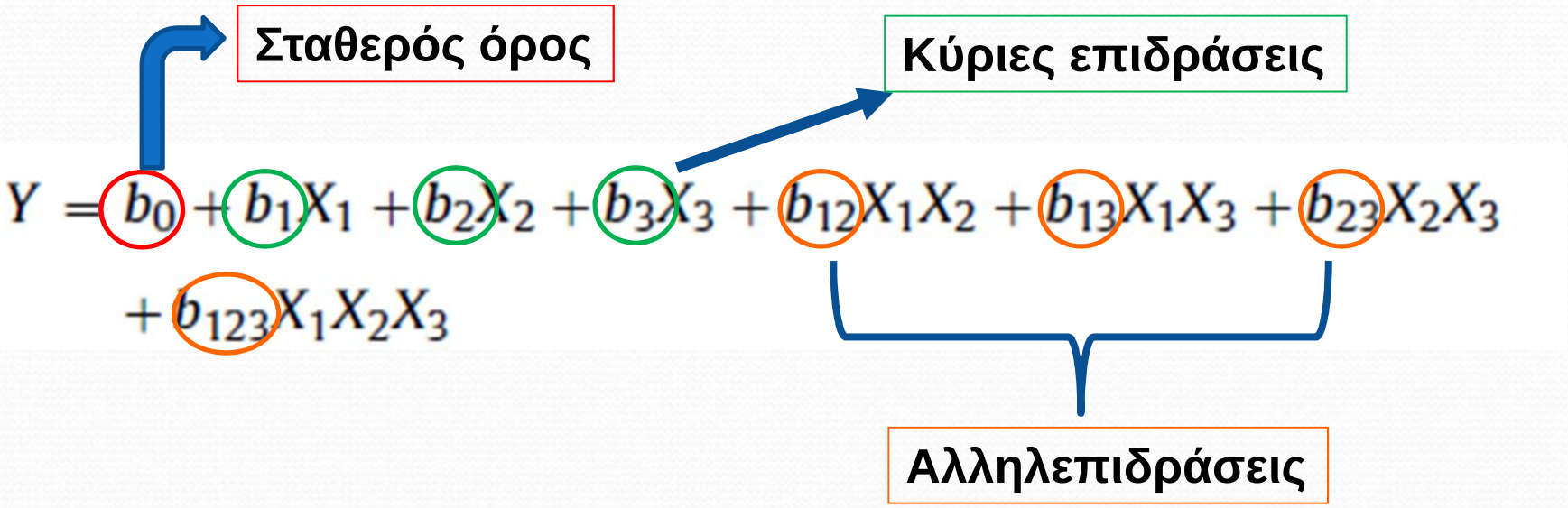
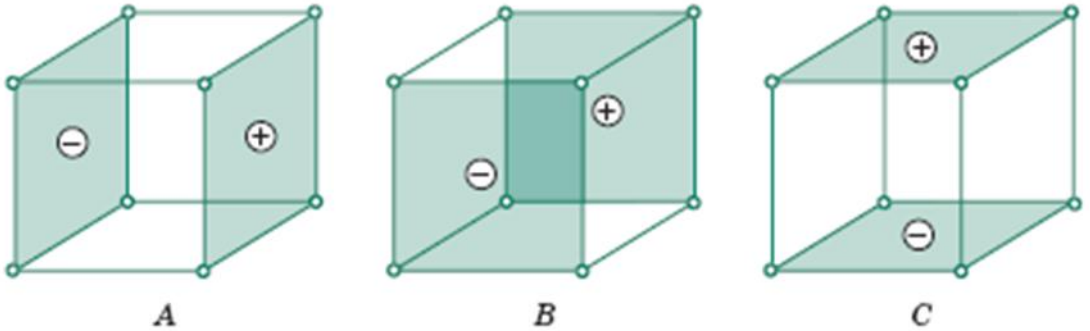
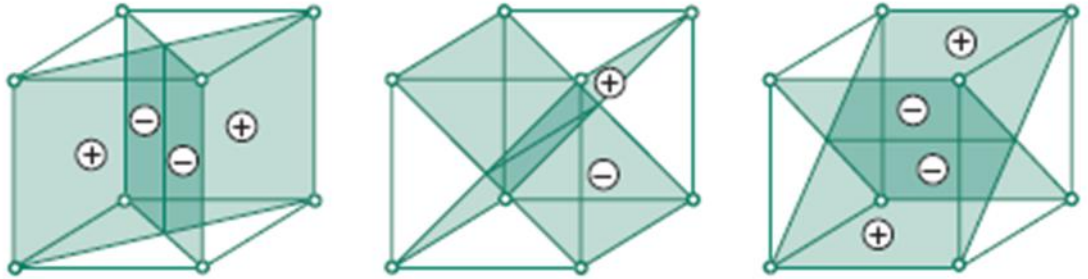


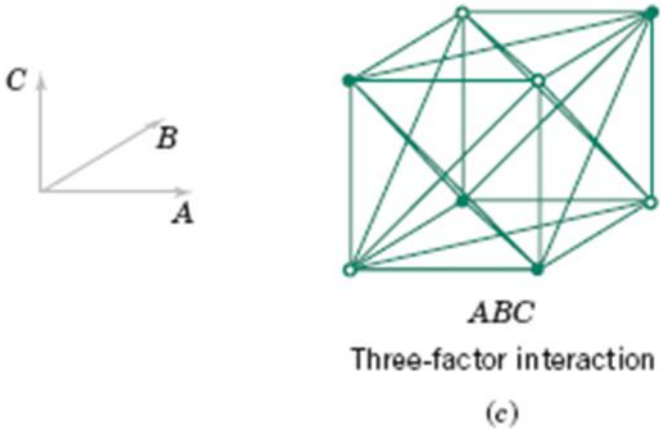
FIGURE 3.15
Cubic Function



2^{k-1} αλληλεπιδράσεις


A
B
C
Main effects
(a)


AB
AC
BC
Two-factor interactions
(b)


C
B
A
ABC
Three-factor interaction
(c)
= + runs
= – runs

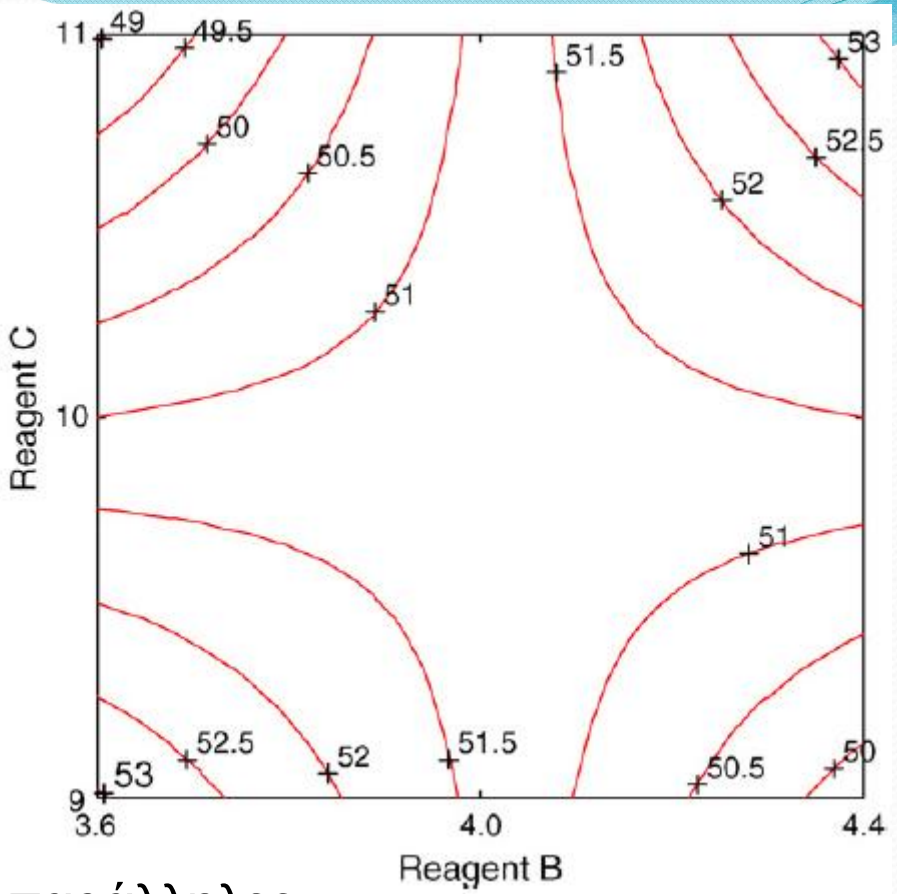
$$Y = 49.4 - 1.8X_1 - 0.6X_2 + 0.2X_3 - 0.8X_1X_2 + 0.4X_1X_3 + 1.9X_2X_3 + 1.2X_1X_2X_3$$

Οι μεγαλύτεροι συντελεστές κατά απόλυτη τιμή…

Αύξηση της τιμής του παράγοντα του X_1, οδηγεί σε μείωση της απόκρισης Y (αρνητικό πρόσημο). Αν στόχος είναι η υψηλή τιμή του Y, τότε όσο μικρότερη η τιμή του παράγοντα X_1, τόσο καλύτερα.

Όσον αφορά την επίδραση των αλληλεπιδράσεων των παραγόντων στην απόκριση Y αυτή μπορεί καλύτερα να φανεί από γράφημα 2D.

Θεωρώ τομή του κύβου στη χαμηλότερη τιμή (βέλτιστη) X_1 και παρατηρώ τις γραμμές ισοαπόκρισης.

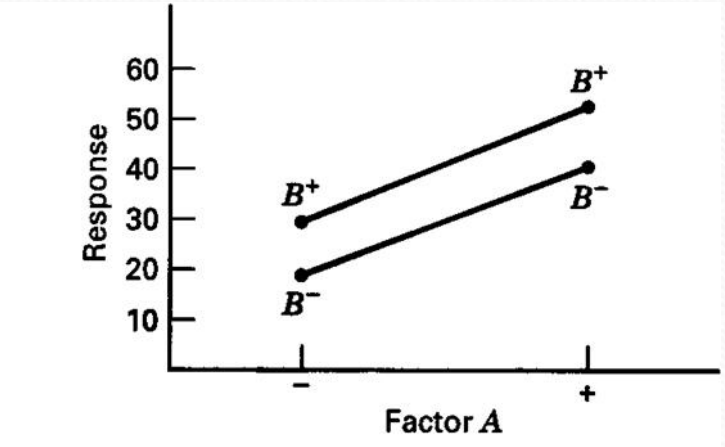


Αν δεν υπάρχει αλληλεπίδραση είναι παράλληλες..

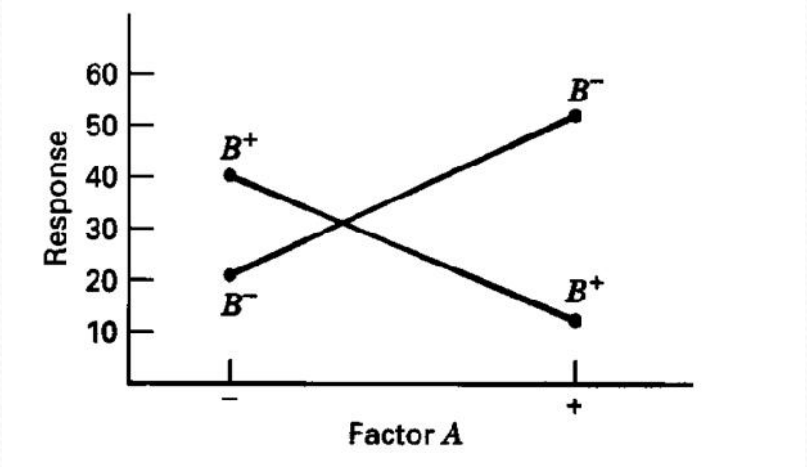
(Αύξηση του B οδηγεί σε μείωση του Y σε χαμηλό επίπεδο C, ενώ σε υψηλό επίπεδο C ισχύει το αντίθετο)

Με OFAT με αφετηρία από το κέντρο δε θα έβλεπα μεταβολή αν άλλαζα μόνο το B ή το C!

Διαγράμματα αλληλεπιδράσεων



Χωρίς αλληλεπίδραση



Με αλληλεπίδραση

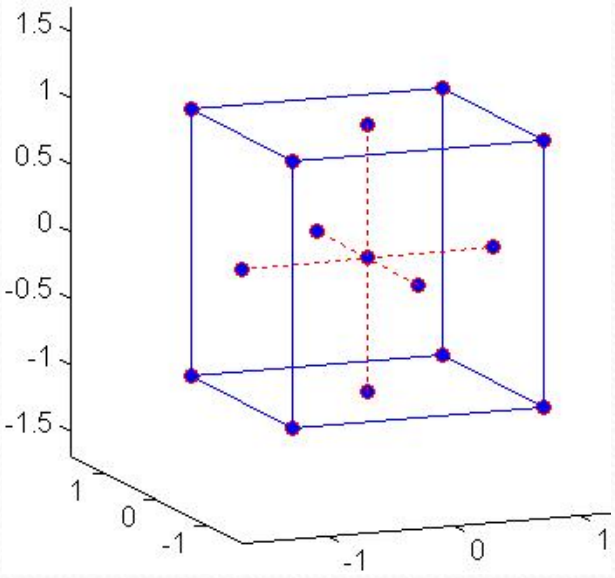
Αντιμετώπιση ενός σχεδιασμού $2^{κ}$

1. Προκαταρκτικά πειράματα
2. Εύρεση των σημαντικών παραγοντικών επιδράσεων
3. Καθορισμός των επιπέδων
4. Κατασκευή του μοντέλου
5. Διενέργεια των πειραμάτων
6. Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων (σημαντικότητα κύριων επιδράσεων και αλληλεπιδράσεων, πίνακας ANOVA, υπόλοιπα και λοιπά διαγράμματα)
7. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων (επανασχεδιασμός;)

Προσθήκη κεντρικών σημείων σε σχεδιασμό $2^{κ}$

Με τα 2 μόνο σημεία υπάρχει ο κίνδυνος να μην ισχύει η υπόθεση περί γραμμικότητας όσον αφορά την επίδραση του παράγοντα.

Με τα κεντρικά σημεία σε ένα σχεδιασμό $2^{κ}$ υπάρχει ‘προστασία’ έναντι πιθανής καμπυλότητας. Επιπλέον επιτρέπει μία ανεξάρτητη εκτίμηση του σφάλματος



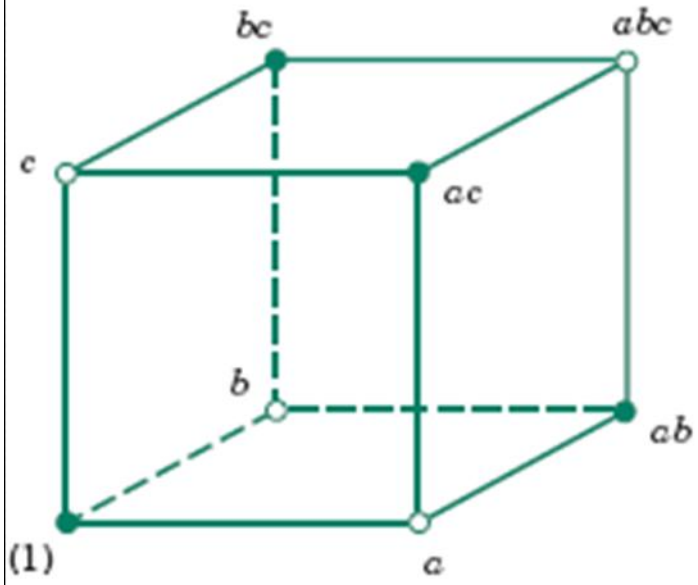
Επαναλήψεις και blocking

-Στις περισσότερες περιπτώσεις δεν πραγματοποιούνται επαναλήψεις των πειραμάτων

-Αν απαιτηθούν επαναλήψεις, τότε ο αριθμός των πειραμάτων μπορεί να αυξηθεί σημαντικά και να τίθενται εκ των πραγμάτων περιορισμοί που να μας υποχρεώνουν να χωρίζουμε τα πειράματα σε **blocks**.

Οι περιορισμοί έχουν να κάνουν με τη δυνατότητα διενέργειας του πειράματος **υπό τις ίδιες συνθήκες**, π.χ. χρονικές ή χρήση άλλης παρτίδας υλικού κτλ

-Κάθε επανάληψη μπορεί να θεωρηθεί ένα block. Πρέπει να υπάρχει όμως τυχαιότητα σε κάθε block.

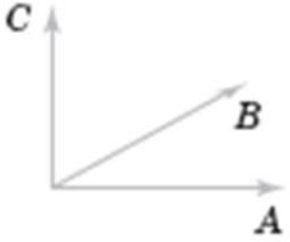


Geometric view

(a)

● = Run in block 1

○ = Run in block 2



Block 1	Block 2
(1)	a
ab	b
ac	c
bc	abc

Assignment of the eight runs to two blocks

(b)

Κλασματικός παραγοντικός σχεδιασμός (fractional factorial design)

Προτιμάται στις περιπτώσεις που ο αριθμός των παραγόντων είναι μεγάλος (ή ο αριθμός των πειραμάτων πρέπει να είναι σχετικά μικρός).

Π.χ. για 5 παράγοντες χρειάζονται 2^5=32 πειράματα

Σε αυτή την περίπτωση εκτός από τις 5 κύριες επιδράσεις υπάρχει ένας αριθμός 16 αλληλεπιδράσεων.

Συνήθως αλληλεπιδράσεις πάνω από 2 παραγόντων, π.χ. ABC κτλ είναι αμελητέες και μπορούμε να τις παραλείψουμε.

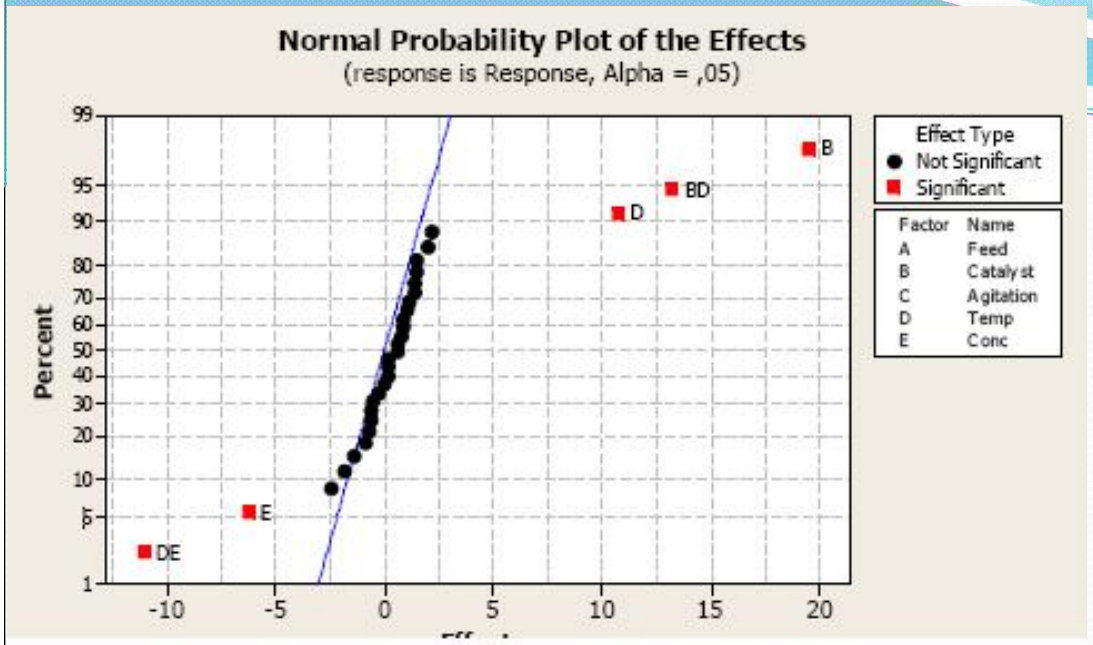
Η ίδια πληροφορία μπορεί να εξαχθεί με τον **μισό αριθμό πειραμάτων!**

Κλασματικός παραγοντικός σχεδιασμός (fractional factorial design FFD)

Χρησιμοποιούμε κλάσμα του πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού με μικρότερο αριθμό πειραμάτων, συνήθως $2^{κ-1}$

Με αυτό τον τρόπο μειώνουμε σημαντικά τον αριθμό των πειραμάτων, με μικρές πιθανότητες να χάσουμε σημαντική πληροφορία (καταγράφουμε τις κύριες επιδράσεις και τις χαμηλής τάξης αλληλεπιδράσεις)

Για ακόμη μεγαλύτερο αριθμό παραγόντων είναι δυνατός και ο σχεδιασμός $2^{κ-2}$



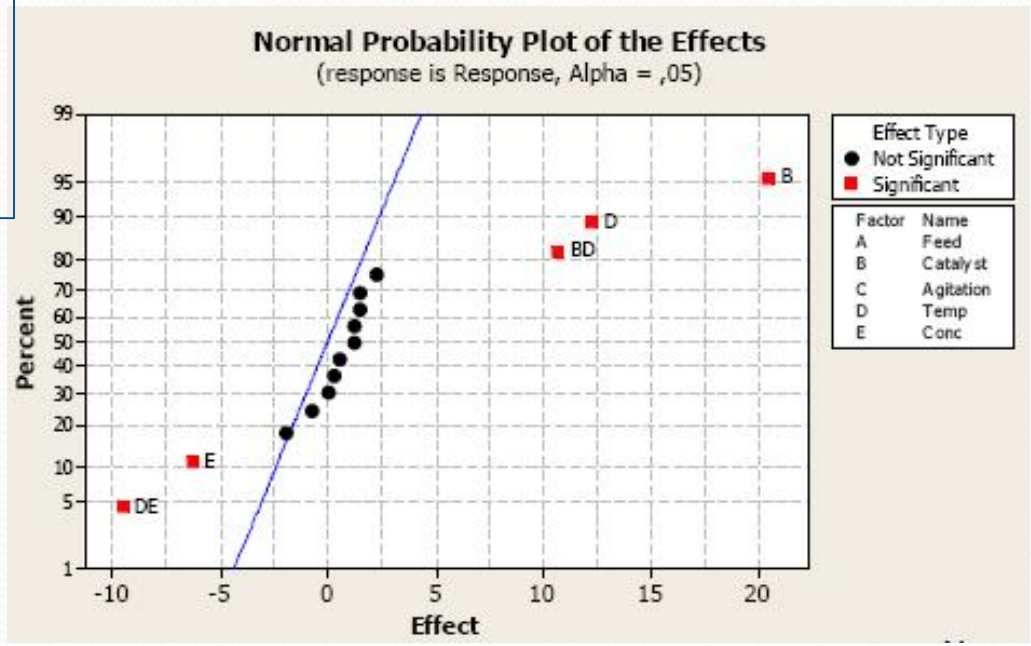
2^5

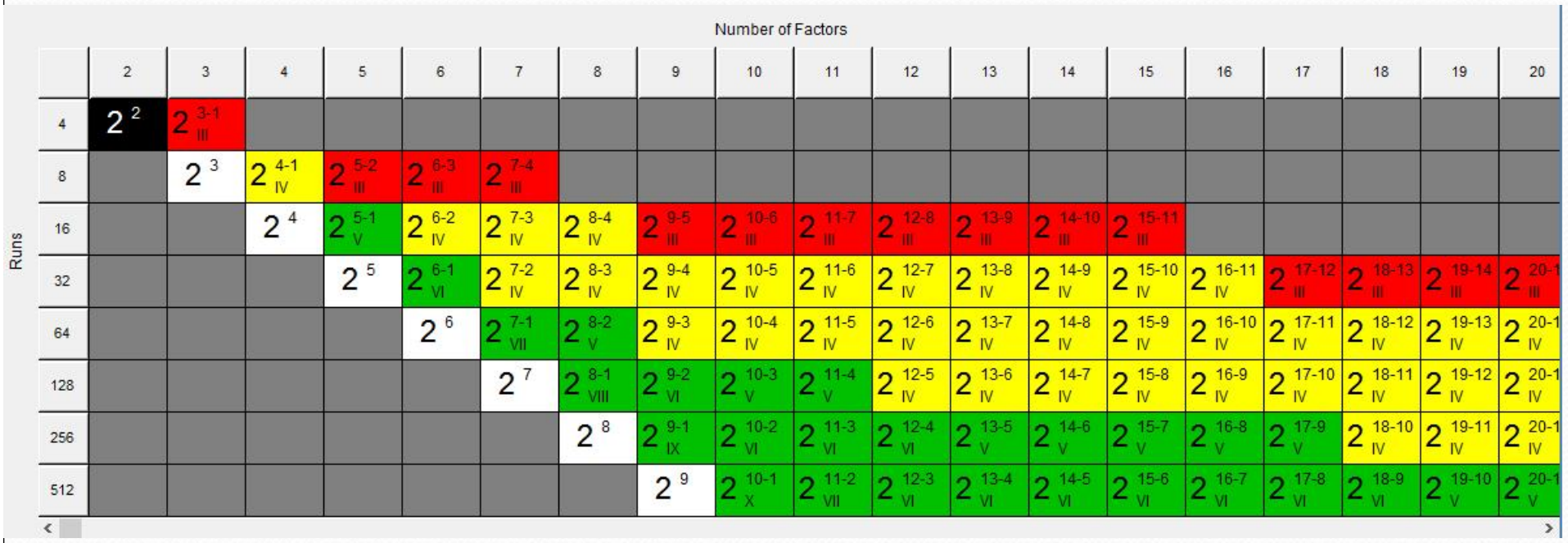
Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός

Αμελητέες οι επιδράσεις πάνω στη γραμμή
Δεξιά της γραμμής: θετική επίδραση
Αριστερά: αρνητική επίδραση

2^{5-1}

Κλασματικός παραγοντικός σχεδιασμός




Number of Factors
Runs
2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20
4 8 16 32 64 128 256 512

2^2

ΠΗΓΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ	ΑΘΡΟΙΣΜΑ ΤΕΤΡΑΓΩΝΩΝ	ΒΑΘΜΟΙ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑΣ	ΕΛΑΧΙΣΤΑ ΤΕΤΡΑΓΩΝΑ	F_0
A	SS_A	$a-1$	$MS_A = \frac{SS_A}{a-1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
B	SS_B	$b-1$	$MS_B = \frac{SS_B}{b-1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
AB	SS_{AB}	$(a-1)(b-1)$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a-1)(b-1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
Error	SS_E	$ab(n-1)$	$MS_E = \frac{SS_E}{ab(n-1)}$	
Total	SS_T	$abn-1$		

ANOVA for Selected Factorial Model
Analysis of variance table [Partial sum of squares]

Source	Sum of Squares	DF	Mean Square	F Value	Prob > F
Model	59416.22	8	7427.03	11.00	< 0.0001
A	*10683.72*	*2*	*5341.86*	*7.91*	*0.0020*
B	*39118.72*	*2*	*19559.36*	*28.97*	*< 0.0001*
AB	*9613.78*	*4*	*2403.44*	*3.56*	*0.0186*
Pure E	18230.75	27	675.21		
C Total	77646.97	35			

Std. Dev.	25.98	R-Squared	0.7652
Mean	105.53	Adj R-Squared	0.6956
C.V.	24.62	Pred R-Squared	0.5826
PRESS	32410.22	Adeq Precision	8.178

p < 0,05 άρα το μοντέλο οι κύριες επιδράσεις και η αλληλεπίδραση AB, **στατιστικά σημαντικές**

Διάστημα εμπιστοσύνης **95%**

2^3

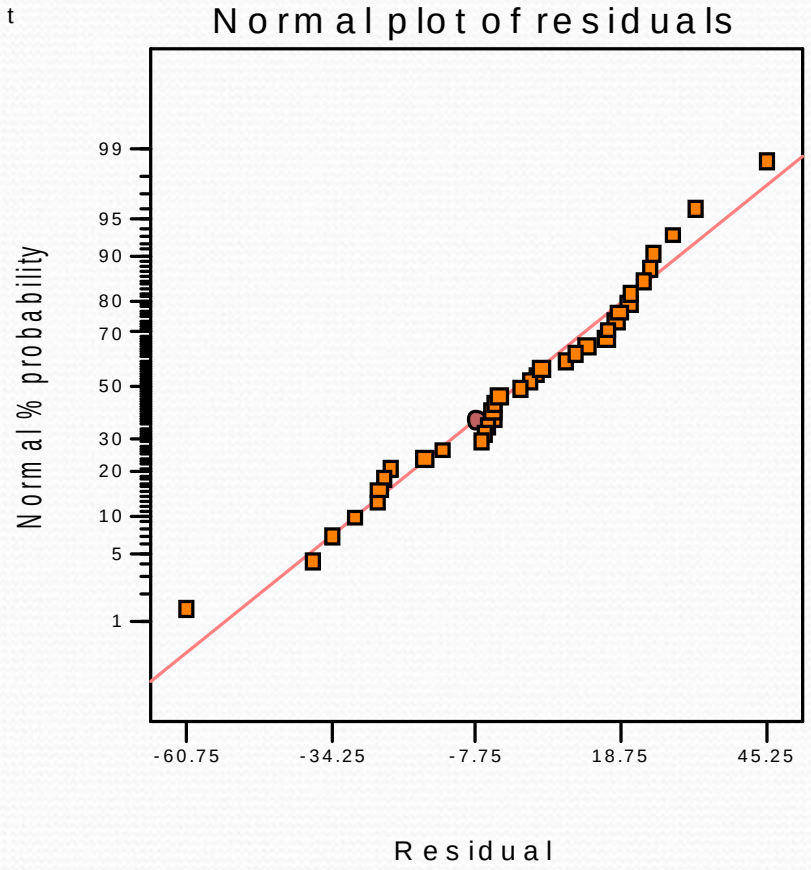
Analysis of Variance for Example 5.3

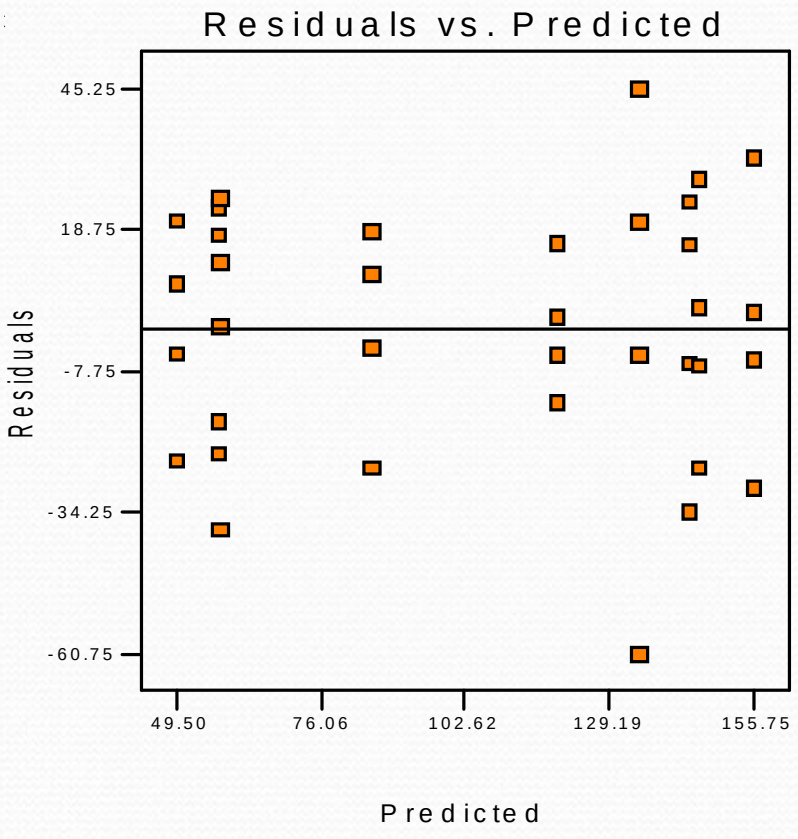
Source of Variation	Sum of Squares	Degrees of Freedom	Mean Square	F_0	*P*-Value
Percentage of carbonation (*A*)	252.750	2	126.375	178.412	<0.0001
Operating pressure (*B*)	45.375	1	45.375	64.059	<0.0001
Line speed (*C*)	22.042	1	22.042	31.118	0.0001
AB	5.250	2	2.625	3.706	0.0558
AC	0.583	2	0.292	0.412	0.6713
BC	1.042	1	1.042	1.471	0.2485
ABC	1.083	2	0.542	0.765	0.4867
Error	8.500	12	0.708		
Total	336.625	23			

= στατιστικά σημαντικά μεγέθη

Εκτός από τον πίνακα ANOVA αξιολογούνται:

1) Διάγραμμα **ημικανονικής κατανομής**
2) Διάγραμμα **κανονικής κατανομής υπολοίπων**
3) Διάγραμμα υπολοίπων vs προβλεπόμενων τιμών



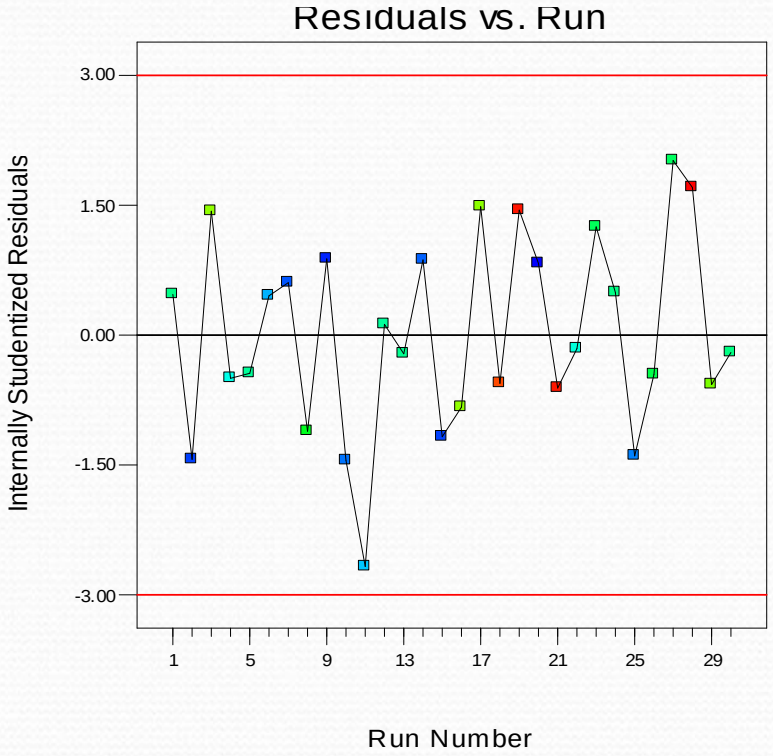


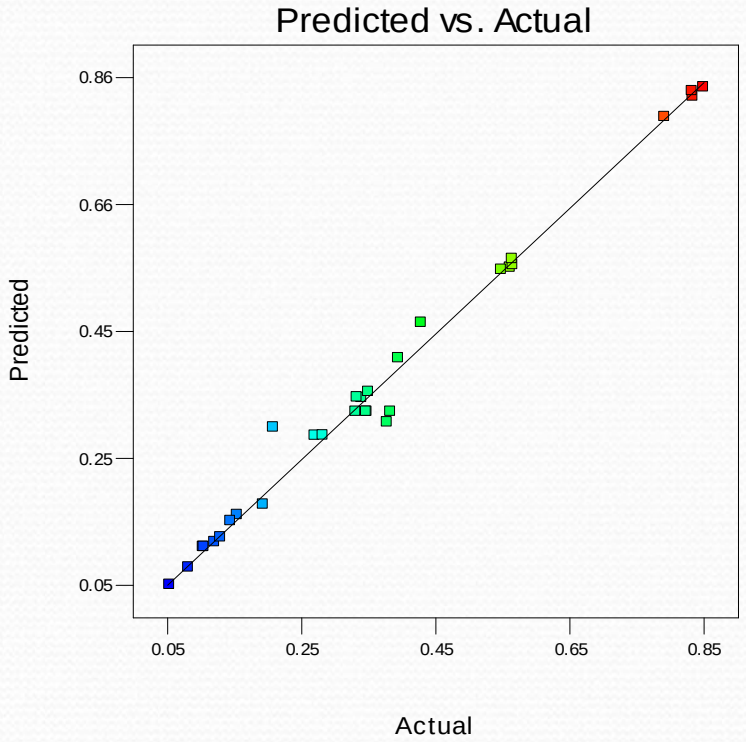
Εκτός από τον πίνακα ANOVA αξιολογούνται:

4) Διάγραμμα **υπολοίπων έναντι της σειράς εκτέλεσης** πειραμάτων (όχι τάση, αλλά τυχαιότητα)

5) Διάγραμμα **έκτροπων τιμών**

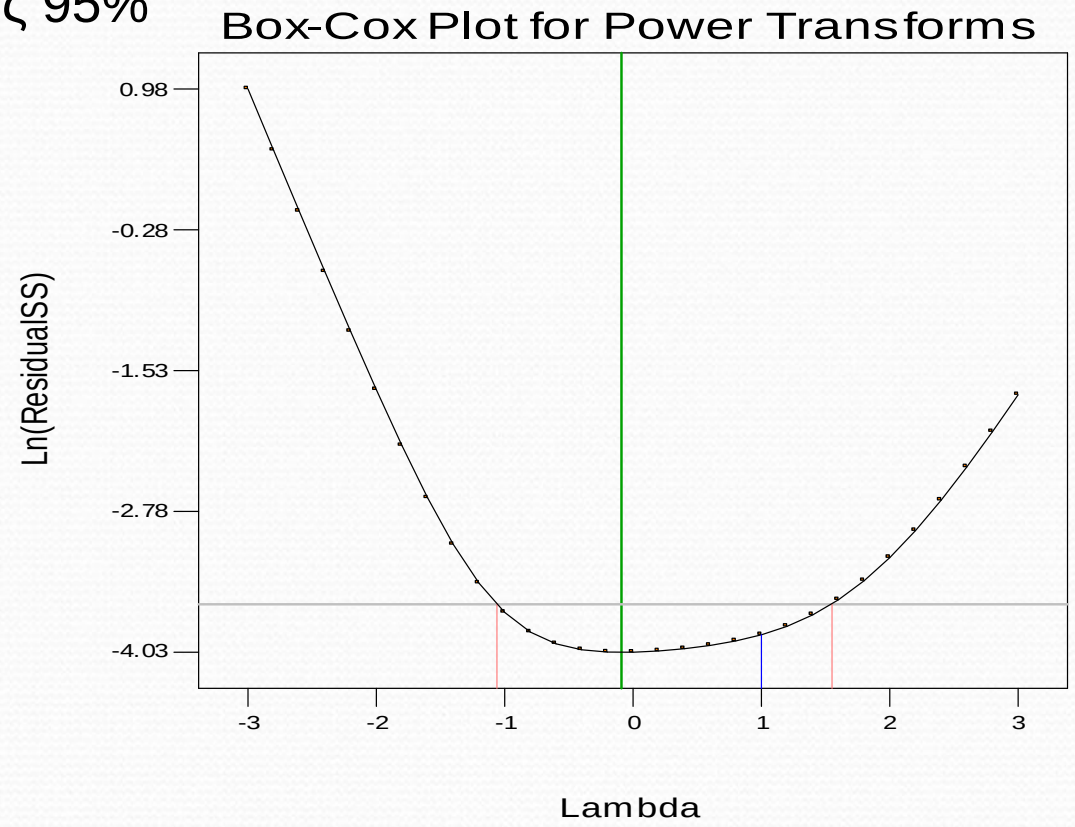
6) Διάγραμμα συσχέτισης **πειραματικών-προβλεπόμενων τιμών**





Εκτός από τον πίνακα ANOVA αξιολογούνται:

7) **Διάγραμμα Box Cox**. Όταν τα δεδομένα δεν ακολουθούν κανονική κατανομή μπορεί να χρειαστεί μετασχηματισμός (π.χ. υψώνω σε δύναμη). Το Box Cox είναι ένας δείκτης αξιολόγησης των μετασχηματισμών. Δείχνει αν τα αποτελέσματα βρίσκονται εντός ορίων εμπιστοσύνης 95%



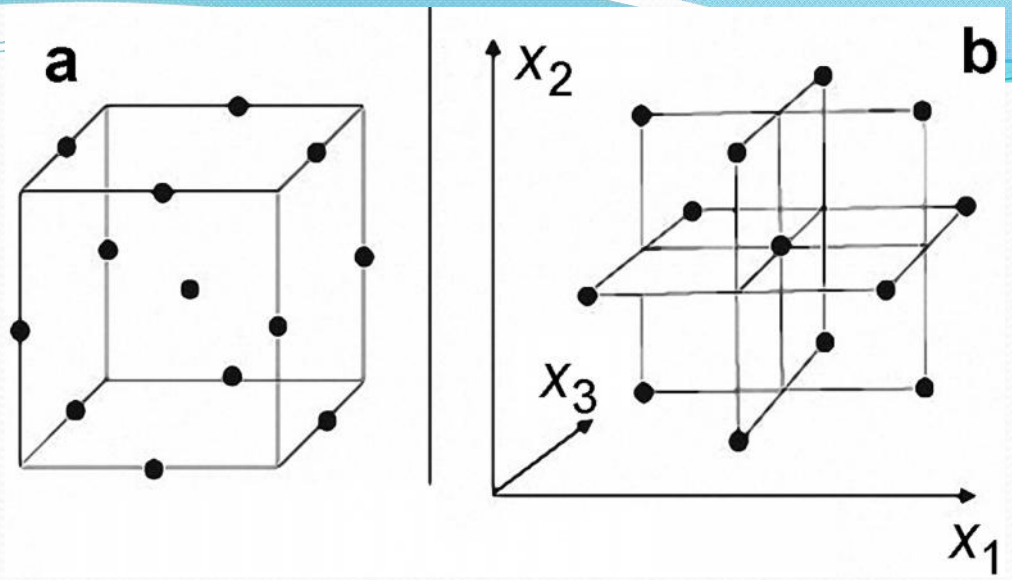
Είδη συμμετρικού πειραματικού σχεδιασμού δευτέρου βαθμού

1) **Πλήρης τριών επιπέδων** και **κλασματικός** πειραματικός σχεδιασμός

3^K ….. Πολύ μεγάλος αριθμός πειραμάτων. Λιγότερα πειράματα με κλασματικό πειραματικό σχεδιασμό

2) **Box-Behnken** σχεδιασμός

Οι ερευνητές πρότειναν τρόπους επιλογής σημείων κατά την παραγοντική διευθέτηση τριών επιπέδων. Αποτελεσματική εκτίμηση των συντελεστών του μοντέλου με μικρότερο αριθμό πειραμάτων. Σε αυτούς τους σχεδιασμούς τα πειραματικά σημεία είναι τοποθετημένα σε μία υπερσφαίρα και ισαπέχουν από το κεντρικό σημείο.



Κύρια χαρακτηριστικά:

1) Απαιτεί αριθμό πειραμάτων 2κ(κ-1) + Cp, όπου κ ο αριθμός παραγόντων και Cp ο αριθμός των κεντρικών σημείων

2) Όλα τα σημεία διευθετούνται σε 3 μόνο επίπεδα (-1, 0, +1) σε ισαπέχοντα επίπεδα

Είδη συμμετρικού πειραματικού σχεδιασμού δευτέρου βαθμού

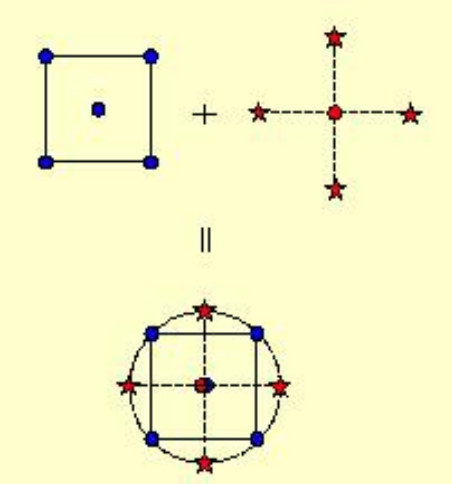
3) **Κεντρικός σύνθετος σχεδιασμός (Central Composite Design, CCD)**

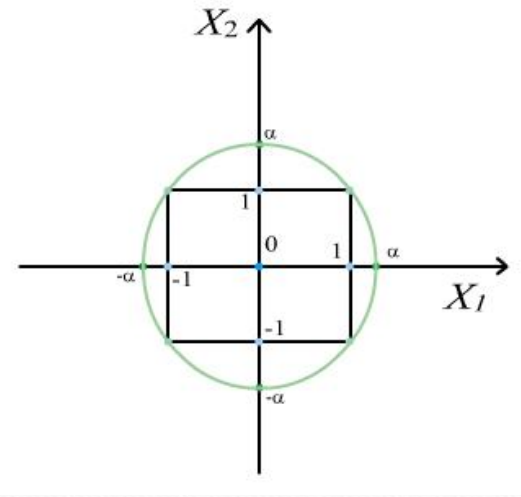
Έχει τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

1) Έναν πλήρη ή κλασματικό παραγοντικό σχεδιασμό

2) Έναν επιπρόσθετο σχεδιασμό, συχνά αστεριού, με σημεία σε απόσταση **α** από το κέντρο

3) Ένα κεντρικό σημείο





Κύρια χαρακτηριστικά:

1) Απαιτεί αριθμό πειραμάτων $\kappa^2 + 2\kappa + Cp$, όπου κ ο αριθμός παραγόντων και Cp ο αριθμός των **επαναλαμβανόμενων μετρήσεων** για το κεντρικό σημείο

2) Η τιμή α εξαρτάται από τον αριθμό των μεταβλητών

3) Όλοι οι παράγοντες εξετάζονται σε 5 επίπεδα (-α, -1, 0, +1, +α). Για αυτό το λόγο μπορεί να μελετήσει αποτελεσματικά την επίδραση της καμπυλότητας

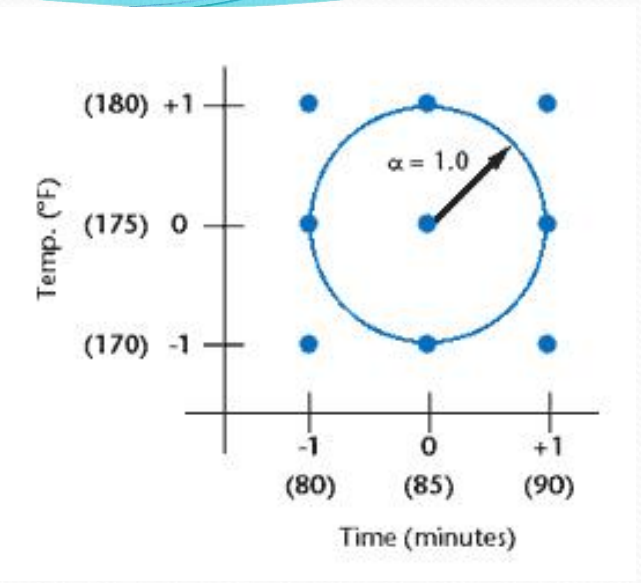
4) **Αποτελεσματικότητα** με μικρό αριθμό δοκιμασιών

5) **Προσαρμοστικότητα**

Είδη CCD

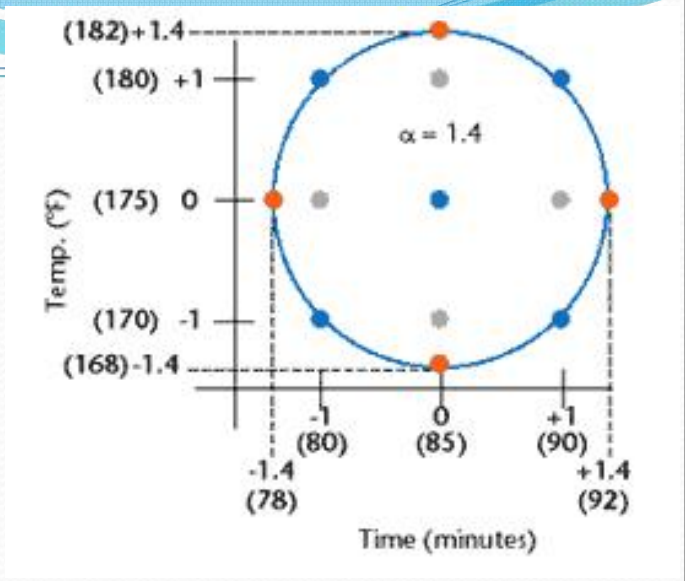
1) Εδροκεντρωμένος (face centered)

Π.χ. 2 παράγοντες (= 9 πειράματα με 1 επανάληψη στο κέντρο).



1 κεντρικό σημείο, 4 παραγοντικά (± 1), 4 αξονικά τοποθετημένα σε κύκλο

Είδη CCD



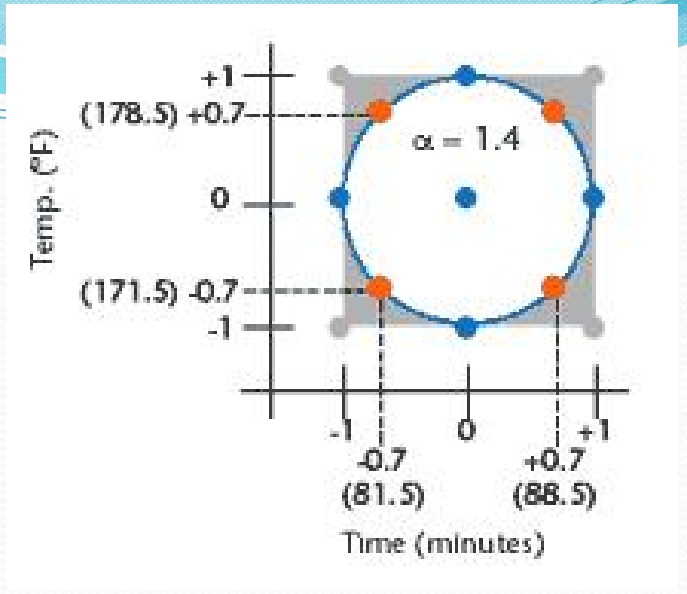
2) Περιστρέψιμος (Rotatable)

Π.χ. 2 παράγοντες (= 9 πειράματα με 1 επανάληψη στο κέντρο).

1 κεντρικό σημείο, 8 σημεία τοποθετημένα σε κύκλο με ακτίνα α.

Δίνει ομοιομορφία του σφάλματος πρόβλεψης

Είδη CCD



3) Εγγεγραμμένος (Inscribed)

Π.χ. 2 παράγοντες (= 9 πειράματα με 1 επανάληψη στο κέντρο).

1 κεντρικό σημείο, 8 σημεία τοποθετημένα σε κύκλο

Τα παραγοντικά σημεία μεταφέρονται ΕΝΤΟΣ του εγγεγραμμένου χώρου σχεδιασμού. Δηλαδή κυμαίνονται μεταξύ του -0,7 και 0,7, ενώ τα αξονικά -1 και +1

Με γκρι φαίνεται η αποκλειόμενη περιοχή

Μεθοδολογία απόκρισης επιφανείας (Response Surface Methodology, RSM)

Συγκεντρώνει μία σειρά από μαθηματικές και στατιστικές τεχνικές που βασίζονται στην προσαρμογή των πειραματικών δεδομένων σε μία **πολυωνυμική εξίσωση**, η οποία θα πρέπει να περιγράφει και να προβλέπει τη συμπεριφορά μίας ομάδας δεδομένων.

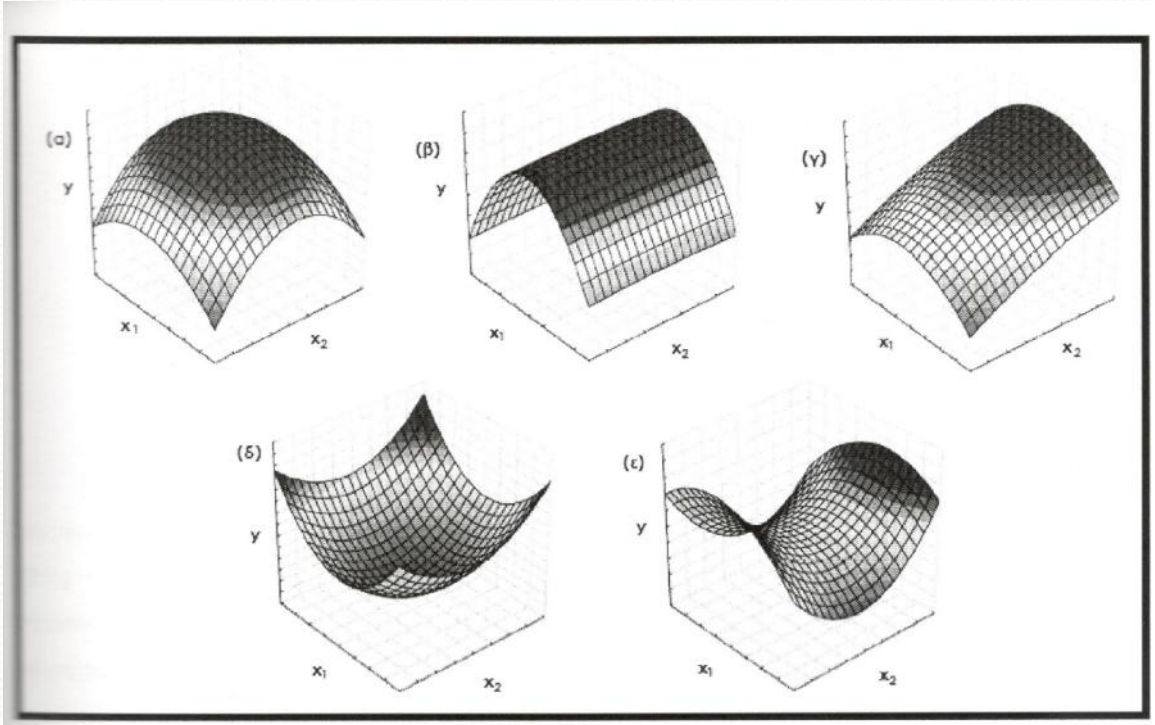
Βρίσκει ιδιαίτερη εφαρμογή όπου απαιτείται η μέγιστη δυνατή απόδοση του συστήματος, σε περιπτώσεις με επίδραση πολλών παραγόντων

Προηγείται η επιλογή του κατάλληλου πειραματικού σχεδιασμού

Μεθοδολογία απόκρισης επιφανείας (Response Surface Methodology, RSM)

Ο όρος προέρχεται από τη γραφική προβολή του προσαρμοσμένου μαθηματικού μοντέλου.

Συνήθως **μη γραμμικά μοντέλα**



Σχήμα 2.1: Χαρακτηριστικές επιφάνειες απόκρισης από μοντέλα δευτέρου βαθμού κατά τη βελτιστοποίηση δύο μεταβλητών.(α) μέγιστο σημείο, (β) πλατώ, (γ) μέγιστο σημείο εκτός του πειραματικού χώρου, (δ) ελάχιστο σημείο και (ε) επιφάνεια σε σχήμα «σέλας».

Επιθυμητότητα (Desirability)

Σε περιπτώσεις με **>1 αποκρίσεις** με **διαφορετικούς στόχους,** για να βρεθούν οι βέλτιστες **ΣΥΜΒΙΒΑΣΤΙΚΕΣ** συνθήκες για όλες χρησιμοποιείται η εξίσωση του Derringer, με χρήση μεθοδολογίας πολλαπλών κριτηρίων.

Για κάθε μεμονωμένη απόκριση κατασκευάζεται μία εξίσωση επιθυμητότητας. Λαμβάνονται μεμονωμένοι όροι επιθυμητότητας d_i χωρίς διαστάσεις. Για πλήρως ανεπιθύμητη απόκριση $\mathbf{d_i=0}$, ενώ για απολύτως επιοθυμητή $\mathbf{d_i=1}$.

Η συνολική συνάρτηση επιθυμητότητας D είναι:

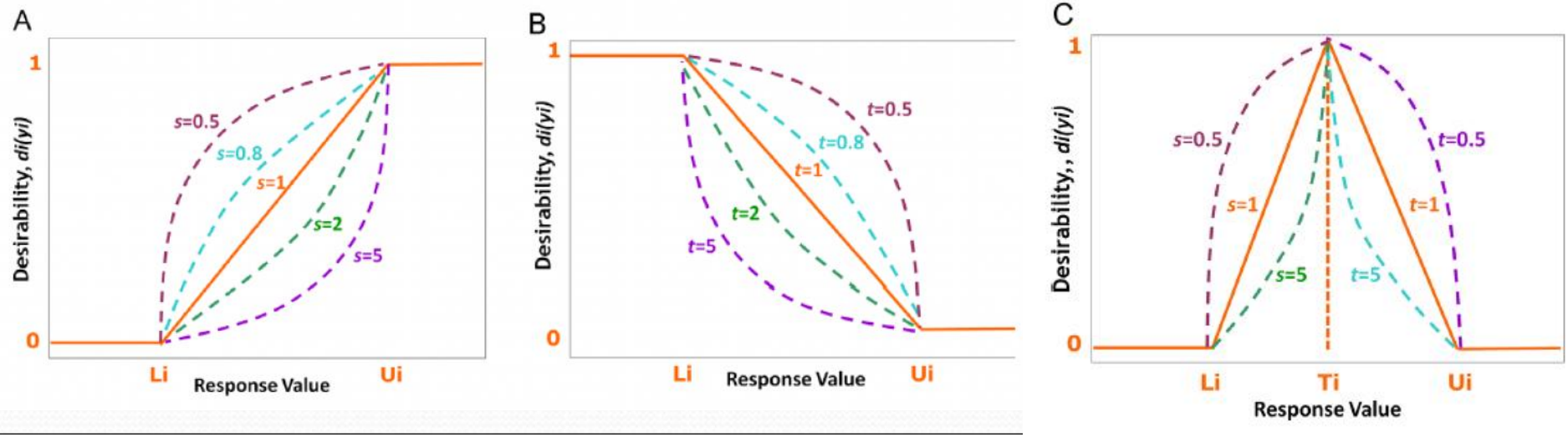
$$D = (d_1 \text{ x } d_2 \text{ x}\ldots\ldots \text{ X } d_n)^{1/n}$$

n = αριθμός αποκρίσεων

Η ταυτόχρονη διαδικασία βελτιστοποίησης ανάγεται στην εύρεση των επιπέδων των παραγόντων εκείνων που δίνουν τη **μέγιστη συνολική επιθυμητότητα**.

Υπάρχει η δυνατότητα αλλαγής της μορφής της επιθυμητότητας με την επιλογή των αναλόγων **συντελεστών ζύγισης** για κάθε απόκριση.

Με τους συντελεστές αυτούς δίνεται έμφαση στο **ανώτατο** ή **κατώτατο όριο** ή σε **συγκεκριμένη τιμή στόχο**. (1= γραμμικότητα, >1 έμφαση στο στόχο, <1 λιγότερη έμφαση στο στόχο)



Βελτιστοποίηση μεθόδου χρωματογραφίας μικρογαλακτωμάτων (MELC) για τον προσδιορισμό του perindopril παρουσία των προσμίξεών του

Microchemical Journal 99 (2011) 454–460

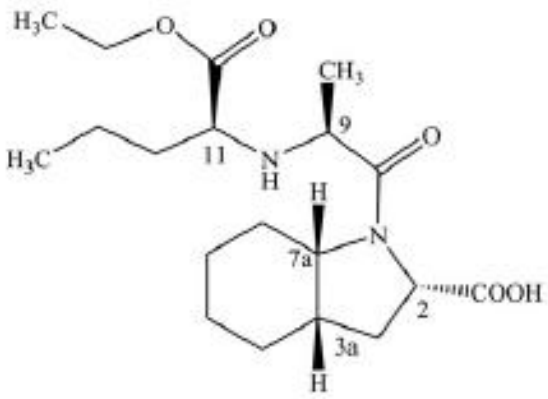
Contents lists available at ScienceDirect

Microchemical Journal

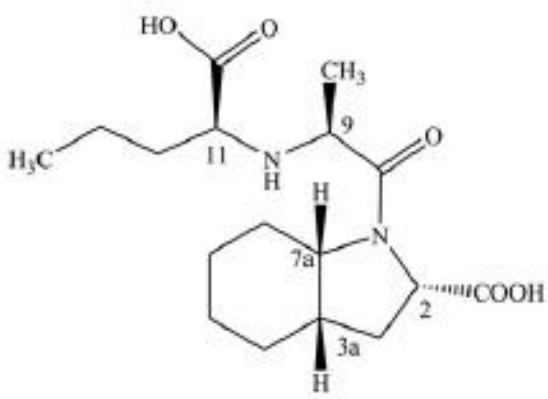
journal homepage: www.elsevier.com/locate/microc

Desirability-based optimization and its sensitivity analysis for the perindopril and its impurities analysis in a microemulsion LC system

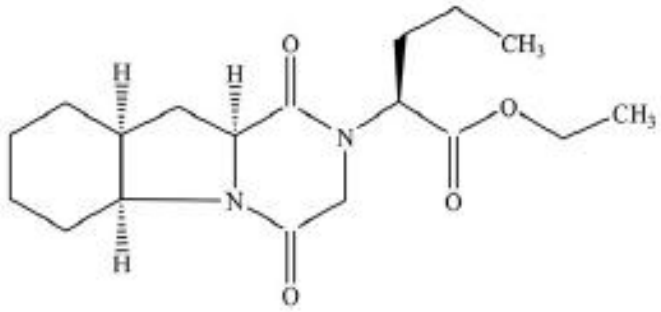
Anđelija Malenović [a,*], Yannis Dotsikas [b], Marija Mašković [c], Biljana Jančić–Stojanović [a], Darko Ivanović [a], Mirjana Medenica [d]



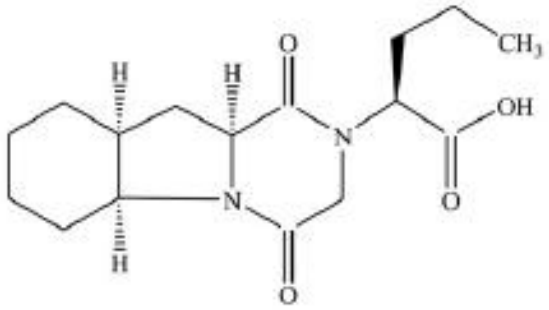
Perindopril *tert*-butylamine



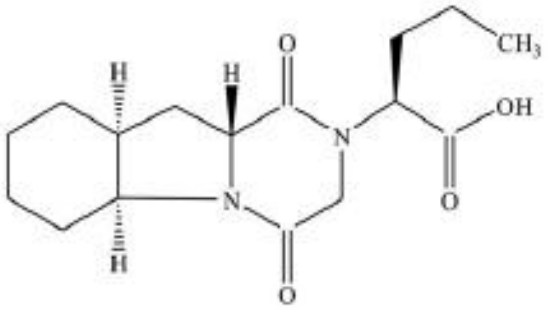
Perindoprilat



Impurity Y 31



Impurity Y 33



Impurity Y 32

Fig. 1. Structures of perindopril *tert* butylamine and its impurities.

Προκαταρκτικά πειράματα

Από τα προκαταρκτικά πειράματα προκύπτει πως :

Οι παράγοντες που εισάγονται στο σχεδιασμό είναι:

1) Το περιεχόμενο του οξικού βουτυλεστέρα %w/v
2) Το περιεχόμενο του οξικού αιθυλεστέρα %w/v
3) Το περιεχόμενο του SDS %w/v
4) Το περιεχόμενο της βουτανόλης %w/v
5) Το pH

Προκαταρκτικά πειράματα

Από τα προκαταρκτικά πειράματα προκύπτει πως :

Οι προς εξέταση κρίσιμες αποκρίσεις είναι:

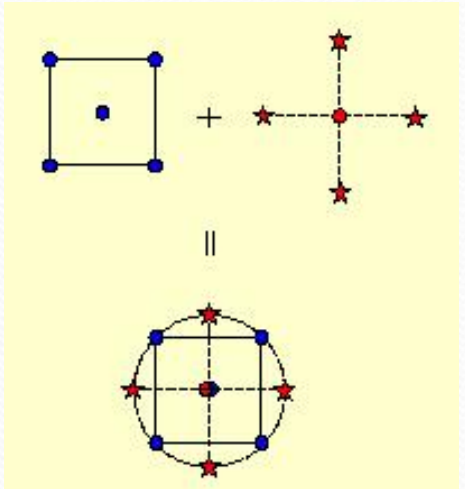
1) Ο παράγοντας χωρητικότητας **k'** του perindoprilat
2) Η διαχωριστική ικανότητα **R** των επιμερών Y32, Y33
3) Ο παράγοντας χωρητικότητας **k'** του Y31

Θα επιδιωχθεί ταυτόχρονη βελτιστοποίση (multi-objective optimization) όλων με χρήση της συνάρτησης επιθυμητότητας (Desirability function)

Είδος σχεδιασμού

Επελέγη ½ **κλασματικός** παραγοντικός σχεδιασμός **2 παραγόντων** (2^{5-1}) ± **0,5 α**, σχεδιασμός **αστεριού**

Κεντρικός Σύνθετος σχεδιασμός (CCD) με 4 επαναλήψεις στις κεντρικές τιμές.



Σύνολο: 30 πειράματα

Οι παράγοντες εξετάστηκαν σε τουλάχιστον 3 σημεία

Nr	Factor levels (coded levels in parentheses)										Responses		
	x_1		x_2		x_3		x_4		x_5		k_{PLAT}	$R_{Y32/Y33}$	k_{Y31}
1	0.1	(−1)	0.3	(−1)	1.5	(−1)	5.0	(−1)	5.70	(+1)	0.082	0.112	12.80
2	0.3	(+1)	0.3	(−1)	1.5	(−1)	5.0	(−1)	3.70	(−1)	0.836	2.563	12.48
3	0.1	(−1)	0.7	(+1)	1.5	(−1)	5.0	(−1)	3.70	(−1)	0.852	2.605	12.68
4	0.3	(+1)	0.7	(+1)	1.5	(−1)	5.0	(−1)	5.70	(+1)	0.054	0.123	12.42
5	0.1	(−1)	0.3	(−1)	2.5	(+1)	5.0	(−1)	3.70	(−1)	0.794	2.353	10.76
6	0.3	(+1)	0.3	(−1)	2.5	(+1)	5.0	(−1)	5.70	(+1)	0.104	0.067	9.84
7	0.1	(−1)	0.7	(+1)	2.5	(+1)	5.0	(−1)	5.70	(+1)	0.105	0.100	10.17
8	0.3	(+1)	0.7	(+1)	2.5	(+1)	5.0	(−1)	3.70	(−1)	0.835	1.820	9.34
9	0.1	(−1)	0.3	(−1)	1.5	(−1)	9.0	(+1)	3.70	(−1)	0.563	1.142	6.47
10	0.3	(+1)	0.3	(−1)	1.5	(−1)	9.0	(+1)	5.70	(+1)	0.121	0.056	6.35
11	0.1	(−1)	0.7	(+1)	1.5	(−1)	9.0	(+1)	5.70	(+1)	0.130	0.066	6.57
12	0.3	(+1)	0.7	(+1)	1.5	(−1)	9.0	(+1)	3.70	(−1)	0.567	1.115	6.60
13	0.1	(−1)	0.3	(−1)	2.5	(+1)	9.0	(+1)	5.70	(+1)	0.155	0.068	5.71
14	0.3	(+1)	0.3	(−1)	2.5	(+1)	9.0	(+1)	3.70	(−1)	0.566	1.053	5.55
15	0.1	(−1)	0.7	(+1)	2.5	(+1)	9.0	(+1)	3.70	(−1)	0.550	1.012	5.24
16	0.3	(+1)	0.7	(+1)	2.5	(+1)	9.0	(+1)	5.70	(+1)	0.145	0.089	5.54
17	0.15	(−0.5)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.271	0.853	8.27
18	0.25	(+0.5)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.283	0.807	8.07
19	0.2	(0)	0.4	(−0.5)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.341	0.850	8.22
20	0.2	(0)	0.6	(+0.5)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.334	0.800	8.14
21	0.2	(0)	0.5	(0)	1.75	(−0.5)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.209	0.870	8.79
22	0.2	(0)	0.5	(0)	2.25	(+0.5)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.379	0.780	7.79
23	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	6.0	(−0.5)	4.70	(0)	0.396	0.990	9.40
24	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	8.0	(+0.5)	4.70	(0)	0.351	0.660	7.07
25	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.20	(−0.5)	0.430	1.260	8.32
26	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	5.20	(+0.5)	0.194	0.135	8.32
27	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.384	0.886	8.19
28	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.332	0.876	8.14
29	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.349	0.858	8.09
30	0.2	(0)	0.5	(0)	2.0	(0)	7.0	(0)	4.70	(0)	0.348	0.795	8.13

x_1 – content of butyl acetate (% w/v); x_2 – content of ethyl acetate (% w/v); x_3 – content of SDS (% w/v); x_4 – content of butanol (% w/v); x_5 – pH of the mobile phase.
k_{PLAT} – PLAT retention factor; k_{Y31} – Y31 retention factor; $R_{Y32/Y33}$ – resolution factor between Y32 and Y33.

Για k'_{plat} και k'_{Y31} **δευτεροβάθμιο μοντέλο (quadratic)**

$$y = b_o + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_5x_5 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{14}x_1x_4 + b_{15}x_1x_5 + b_{23}x_2x_3 + b_{24}x_2x_4 + b_{25}x_2x_5 + b_{34}x_3x_4 + b_{35}x_3x_5 + b_{45}x_4x_5 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 + b_{44}x_4^2 + b_{55}x_5^2$$

Για $R_{Y32/Y33}$ **2ας τάξεως μοντέλο (2nd order)**

$$y = b_o + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_4x_4 + b_5x_5 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{14}x_1x_4 + b_{15}x_1x_5 + b_{23}x_2x_3 + b_{24}x_2x_4 + b_{25}x_2x_5 + b_{34}x_3x_4 + b_{35}x_3x_5 + b_{45}x_4x_5 \quad (2)$$

Table 2
Coefficients of quadratic response model for k_{PLAT}, k_{Y31}.

	k_{plat}	p-value	k_{31}	p-value
b_0	0.33	<0.0001[a]	8.19	<0.0001[a]
b_1	0.00019	0.9881	−0.14	0.0002[a]
b_2	0.00082	0.9464	−0.087	0.0064[a]
b_3	0.0081	0.5098	−0.89	<0.0001[a]
b_4	−0.054	0.0014[a]	−2.64	<0.0001[a]
b_5	−0.29	<0.0001[a]	0.017	0.5101
b_{12}	−0.0043	0.7280	0.048	0.0913
b_{13}	0.0059	0.6331	−0.059	0.0441[a]
b_{14}	0.00031	0.9798	0.15	0.0002[a]
b_{15}	−0.0058	0.6402	0.005	0.8467
b_{23}	0.00094	0.9395	−0.11	0.0019[a]
b_{24}	−0.0027	0.8280	0.071	0.0195[a]
b_{25}	−0.0046	0.7130	0.087	0.0069[a]
b_{34}	0.0013	0.9154	0.40	<0.0001[a]
b_{35}	0.012	0.3370	0.029	0.2820
b_{45}	0.08	<0.0001[a]	0.021	0.4196
b_{11}	−0.15	0.2437	−0.18	0.4941
b_{22}	0.090	0.4773	−0.14	0.5922
b_{33}	−0.084	0.5084	0.30	0.2704
b_{44}	0.23	0.0864	0.077	0.7640
b_{55}	−0.012	0.9249	0.42	0.1342

[a] Significant model terms at 95% confidence level.

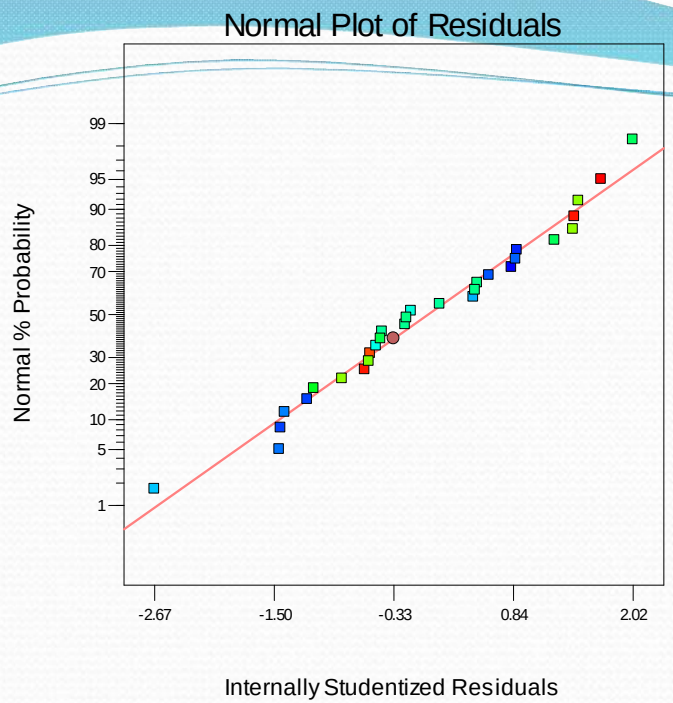
Table 3
Coefficients of second-order response model for $R_{Y32/Y33}$.

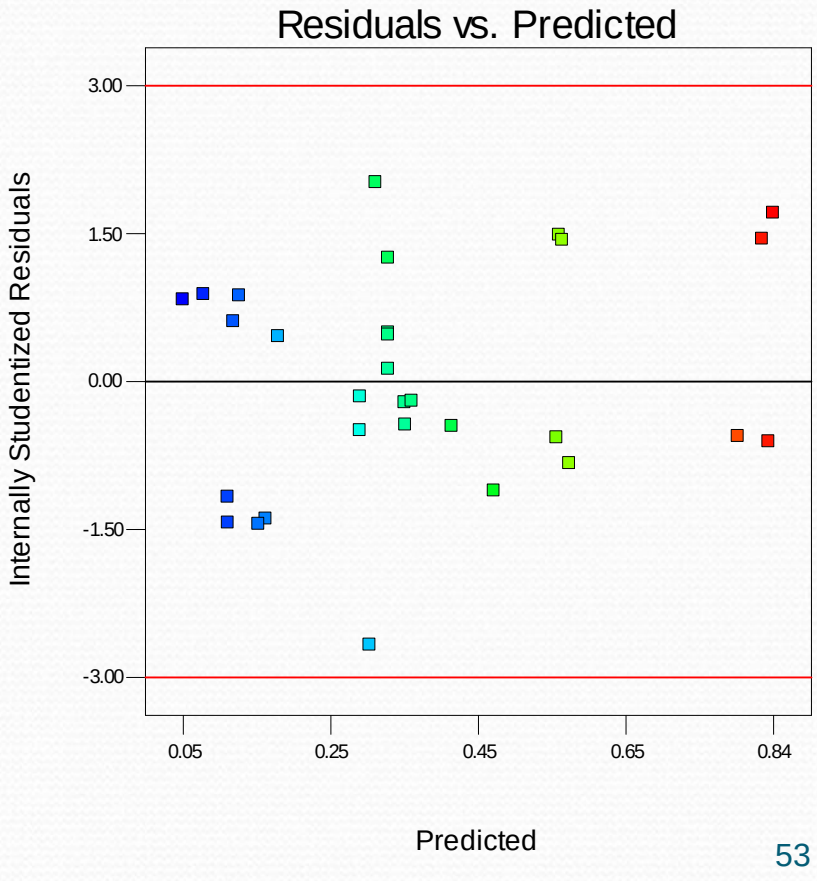
	$R_{32/33}$	p-value
b_0	0.86	<0.0001[a]
b_1	−0.036	0.1601
b_2	−0.031	0.2250
b_3	−0.077	0.0070[a]
b_4	−0.32	<0.0001[a]
b_5	−0.82	<0.0001[a]
b_{12}	−0.044	0.0980
b_{13}	−0.027	0.2882
b_{14}	0.039	0.1376
b_{15}	0.034	0.1854
b_{23}	−0.035	0.1810
b_{24}	0.026	0.3168
b_{25}	0.040	0.1307
b_{34}	0.057	0.0378[a]
b_{35}	0.072	0.0111[a]
b_{45}	0.31	<0.0001[a]

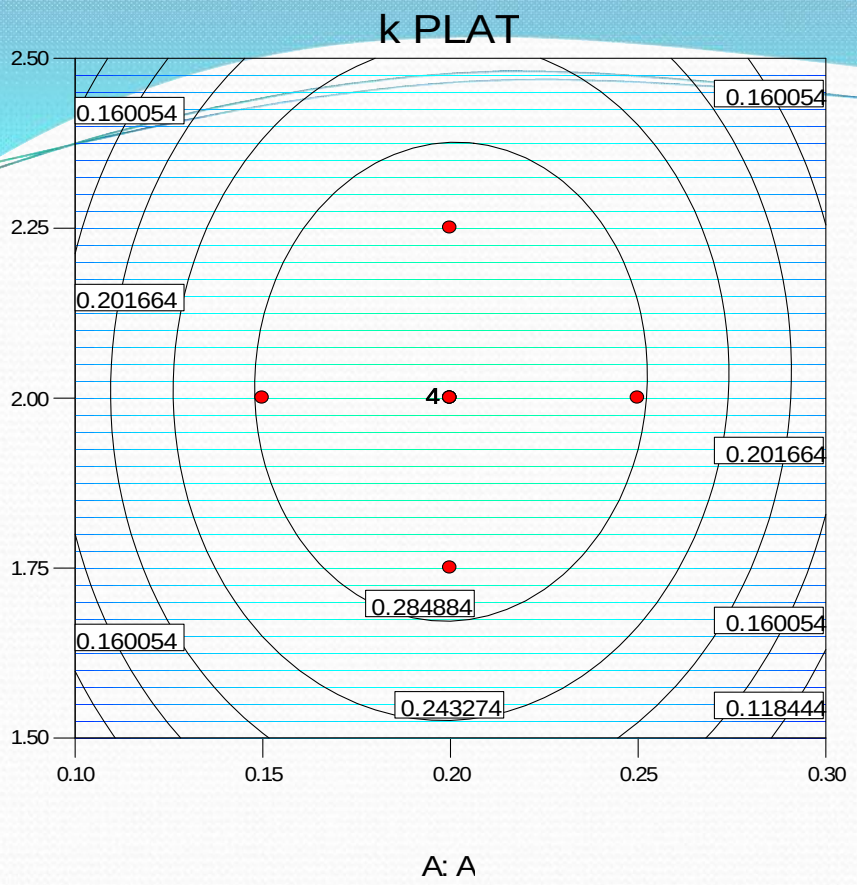
[a] Significant model terms at 95% confidence level.

Design-Expert® Software
k PLAT

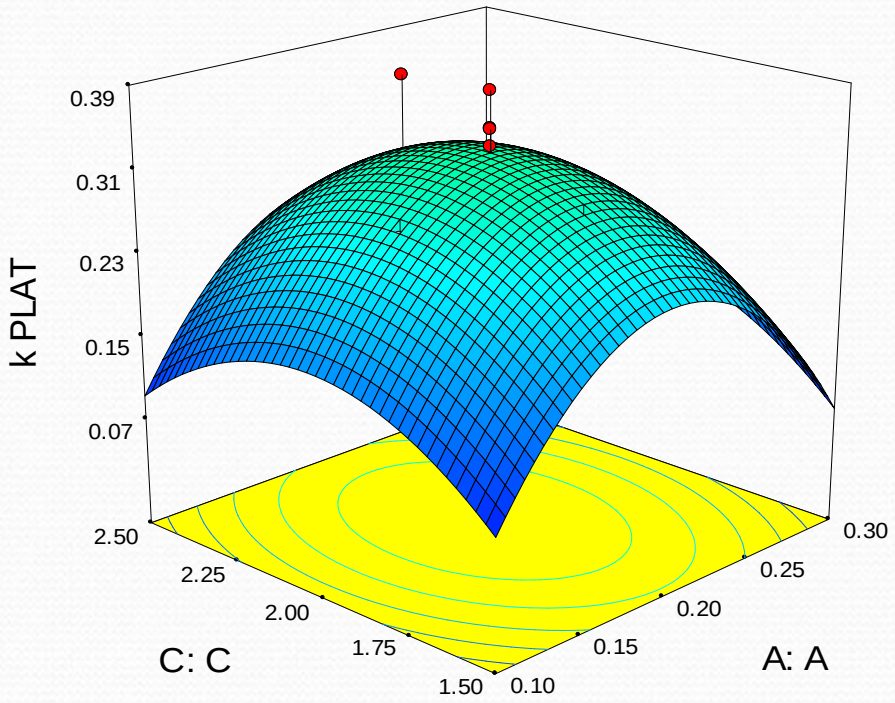
Color points by value of
k PLAT:
0.852
0.054







Contour plot



3D graph

The constraints adopted for the determination of global desirability.

	Variables	Goal	Range		Weight	Importance coefficients
			Lower	Upper		
Inputs	Butyl acetate content (%)	In range	0.2	0.3	1	3
	Ethyl acetate content (%)	In range	0.3	0.5	1	3
	SDS content (%)	Minimize	2	2.5	1	3
	n-butanol (%)	In range	7	8	1	4
	pH of the mobile phase	In range	3.7	4.7	1	5
Outputs	k_{PLAT}	Maximize	0.5	0.852	0.1	3
	$R_{Y32/Y33}$	Maximize	1.2	1.5	0.3	5
	k_{Y31}	Minimize	6	8	0.1	4

Criteria | Solutions | Graphs

Solutions 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27

Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A	is in range	0.1	0.3	1	1	3
B	is in range	0.3	0.7	1	1	3
C	minimize	2	2.5	1	1	3
D	is in range	7	8	1	1	4
E	is in range	3.7	4.7	1	1	5
k PLAT	maximize	0.5	0.852	0.1	1	3
R 32/33	maximize	1.2	1.5	0.5	1	5
k 31	minimize	6	8	1	0.1	4

Solutions

Number	A	B	C	D	E	k PLAT	R 32/33	k 31	Desirability	
1	0.23	0.30	2.00	7.75	3.70	0.662941	1.50036	7.54674	0.946	Selected
2	0.24	0.30	2.00	7.74	3.70	0.647022	1.5	7.52992	0.945	
3	0.13	0.70	2.00	7.60	3.70	0.611542	1.5	7.46604	0.943	
4	0.15	0.70	2.00	7.54	3.70	0.645654	1.49976	7.56033	0.943	
5	0.22	0.32	2.00	7.74	3.70	0.65817	1.5	7.59476	0.943	

Design-Expert® Software

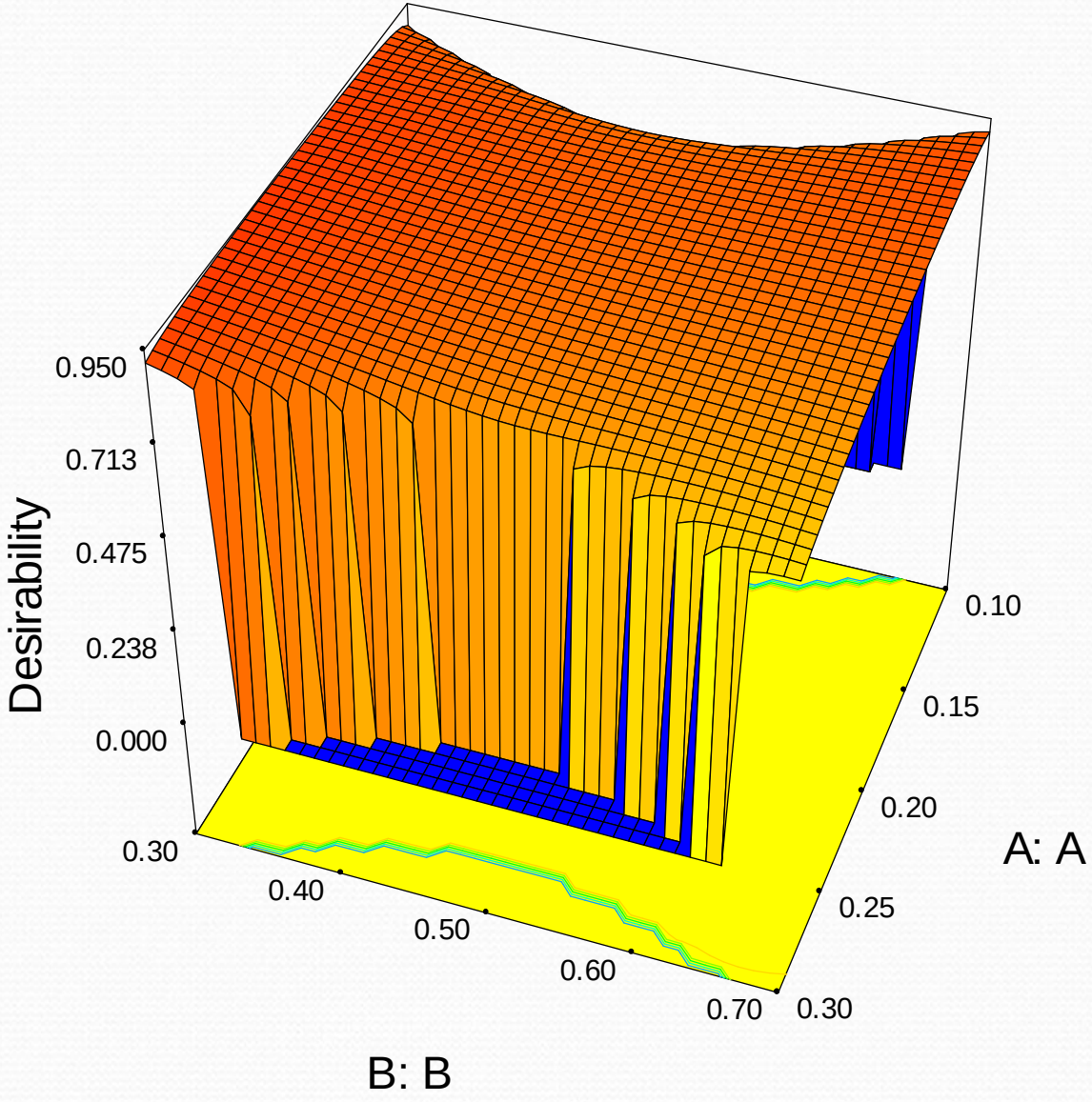
Desirability

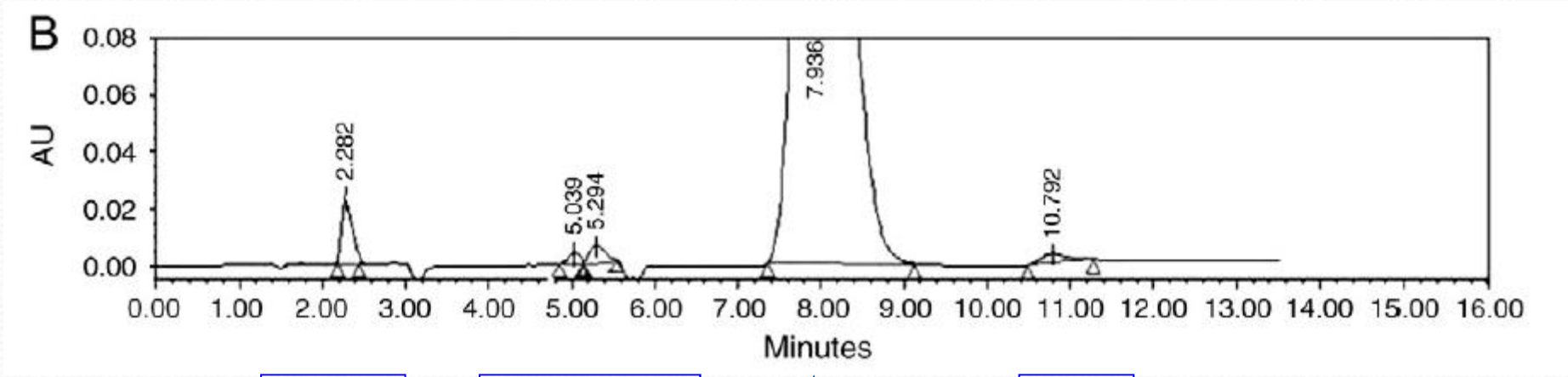
1

0

X1 = A: A
X2 = B: B

Actual Factors
C: C = 2.00
D: D = 7.76
E: E = 3.70





PLAT

Y32, Y33

Y31

Perindopril