



Хроматографияның заманауи аспектілері

**Лекция тақырыбы: Хроматографиялық талдауды
таңдау және оңтайландыру**

**Минажева Гүлшарат Салауатқызы – педагогика ғылымдарының
докторы, химия ғылымдарының кандидаты, АКХЖСЭТ
кафедрасының профессоры**

Талдау әдістемесін оңтайландырудың негізгі кезеңдері

Талдау әдістемесін оңтайландыру (ТӘО) мақсаты - жақсы сезімталдыққа, дәлдікке, қайталанымға және тиімділікке қол жеткізу керек. ТӘО ең жақсы талдау нәтижелеріне қол жеткізу үшін қолданылатын жабдық түрі, реагенттер, өлшеу параметрлері және басқа факторлар сияқты талдау шарттарын өзгерту кіреді.

- Мақсатты сипаттамаларды таңдау
- Оңтайландырылатын параметрлерді таңдау
- Оңтайландыру процедурасын әзірлеу
- Эксперименттер және оларды модельдеу
- Оңтайландырылған параметрлер бойынша әдістемені тексеру

1. Мақсатты спецификацияларды таңдау (МСТ) - талданатын үлгі мен зерттеу мақсаттарының талаптарын қанағаттандыру үшін талдау әдісі сәйкес келуі керек критерийлерді анықтау. МСТ зерттеудің талаптары мен мақсаттарына сәйкес сезімталдық, анықтау шегі, сандық анықтау шегі және т.б. сияқты талдау параметрлерінің шекті мәндерін анықтауды қамтиды.

2. Оңтайландырылған параметрлерді таңдау (ОПТ) - талдау әдісін жақсарту үшін өзгертуге немесе реттеуге болатын айнымалыларды анықтау. ОПТ жақсы нәтижеге қол жеткізу үшін реттелетін Үлгі түрі, химиялық реагенттер, талдау шарттары (температура, қысым, уақыт және т.б.) сияқты параметрлерді таңдауды қамтиды.

3. Оңтайландыру процедурасын әзірлеу (ОПӘ) - талдау әдісін жақсарту мақсатында оңтайландырылған параметрлерді өзгерту және конфигурациялау үшін іс-шаралар жоспарын құру. ОПӘ талдау параметрлерін өзгерту, эксперименттер жүргізу және алынған нәтижелерді бағалау үшін қабылданатын қадамдар тізбегін әзірлеуді қамтиды.

4. Эксперименттер және оларды модельдеу (ЭЖМ) - зерттеу нәтижелеріне талдау параметрлерінің өзгеруінің әсерін бағалау үшін практикалық зерттеулер жүргізу және/немесе математикалық модельдерді қолдану. ЭЖМ зертханалық эксперименттер жүргізуді, сондай-ақ алынған деректерді талдау және параметрлердің оңтайлы мәндерін болжау үшін математикалық және статистикалық әдістерді қолдануды қамтиды.

5. Оңтайландырылған параметрлердегі әдістемені тексеру (ОПӘТ) - оңтайландырылған талдау әдістемесінің сапа талаптары мен зерттеу мақсаттарына сәйкестігін растау. ОПӘТ нақты зерттеу мақсаттарында қолдануға жарамдылығын растау үшін оңтайландырылғаннан кейін талдау әдісінің дәлдігін, сезімталдығын, қайталануын және басқа сипаттамаларын бағалауды қамтиды.

Маңызды сипаттамалар

- Дәлдік және прецизиондық

Дәлдік - өлшеу нәтижелерінің өлшенетін шаманың шынайы мәніне қаншалықты жақын екендігінің өлшемі. Дәл өлшеулер кездейсоқ қателіктердің төмен деңгейімен және өлшенген мәндер мен нақты мәндер арасындағы сәйкестіктің жоғары деңгейімен сипатталады. Мысалы, егер өлшеу нәтижелері мақсатты мәнге өте жақын болса, біз жоғары дәлдік туралы айтамыз.

Прецизиондық - бұл қайталанатын өлшеулер кезінде нәтижелердің бір-бірімен қаншалықты біркелкі немесе сәйкес келетіндігінің өлшемі. Дәлдік өлшемдері жүйелік қателіктердің төмен деңгейімен және қайталанатын өлшеулердегі шамалардың аз таралуымен сипатталады. Яғни, дәл өлшеу бірдей шарттарда бір объектіні қайта өлшеу кезінде бірдей нәтиже береді. Осылайша, дәлдік өлшенген мәндердің шынайы мәндерге жақындығын бағалайды, ал дәлдік-өлшеу нәтижелерінің бір-бірімен үйлесімділігі мен біртектілігі дәрежесі.

- Сынаманы талдаудың құны мен ұзақтығы

- Аналиттердің анықталу шектері

- Сенімділік

Дәлдік және прецизиондық: Дәлдік өлшенген мәннің шын немесе белгілі мәнге жақындық дәрежесін сипаттайды, ал дәлдік қайталанатын сынақтар кезінде өлшемдердің қайталану дәрежесін сипаттайды. Нақты талдау әдісі талданатын заттың нақты концентрация мәндеріне жақын нәтижелерді қамтамасыз етеді, ал дәл әдіс талдауды бірнеше рет қайталаған кезде нәтижелердің аз өзгергіштігін қамтамасыз етеді.

Бір сынаманы талдаудың құны мен ұзақтығы: Құны жабдыққа, реактивтерге, талдау уақытына және басқа ресурстарға шығындарды қоса алғанда, бір сынаманы талдауға кететін шығындарды анықтайды. Бір үлгіні талдаудың ұзақтығы үлгіні дайындаудан нәтижелерді алуға дейінгі толық талдау процесін орындау үшін қажетті уақытты көрсетеді. Талдау әдісін таңдау шығындар мен талдау ұзақтығы арасындағы тепе-теңдікке байланысты: кейбір жағдайларда тезірек және қол жетімді әдістерге артықшылық берілуі мүмкін, бірақ олардың дәлдігі мен сезімталдығы шектеулі болуы мүмкін.

Аналиттердің анықталу шектері:

Анықтау шегі талданатын заттың минималды мөлшерін анықтайды, оны берілген жағдайларда талдау арқылы анықтауға болады. Ол әдетте талданатын заттың сигналы Фон деңгейінен бірнеше есе асатын шама ретінде анықталады. Анықтаудың төменгі шегі әдіс талданатын заттың төмен концентрациясын анықтай алатынын білдіреді, бұл әсіресе үлгілердегі заттардың із деңгейін талдау кезінде маңызды.

Сенімділік:

Талдау әдістемесінің сенімділігі оның әртүрлі талдау жағдайларында және қайта өлшеу кезінде қайталанатын нәтиже беру қабілетін сипаттайды. Сенімді талдау әдісі жабдықтың түрі, оператордың біліктілігі және басқа факторлар сияқты жағдайлардың өзгеруіне қарамастан тұрақты нәтижелерді қамтамасыз етуі керек және бір үлгіні бірнеше рет талдау кезінде нәтижелерді қайталай алуы керек.

Бұл АХ-дағы талдау нәтижелерінің дәлдігін, қайталануын және қайталанымдығын қамтамасыз ететін негізгі аспект.

ГХ талдаудың негізгі параметрлері

- Үлгі көлемі және ағынның бөлінуі
- Үлгі енгізу құрылғысының температурасы
- Баған термостатының температурасы
- Баған, оның өлшемдері және тасымалдаушы газдың жылдамдығы
- Детектрлеу параметрлері

СХ талдаудың негізгі параметрлері

- Баған
- Жылжымалы фазаның рН-ы
- Судың органикалық модификаторға қатынасы
- Ағын жылдамдығы және баған температурасы
- Детектрлеу параметрлері
- Сынаманың көлемі

Эксперименттің хаттамасы (жоспары)

- Мақсаты және гипотезасы
- Тәуелсіз (оңтайландырылған) айнымалы
- Тәуелді айнымалылар + оларды өлшеу
- Бақыланатын айнымалылар + бақылау әдісі
- Материалдардың, жабдықтардың және рәсімдердің толық сипаттамасы

Эксперимент хаттамасы (жоспары) - бұл эксперименттің мақсаты, болжамды гипотезалар, қолданылатын әдістер мен процедуралар және оны жүзеге асыру үшін қажетті параметрлер мен шарттар егжей-тегжейлі сипатталған құжат. ЭХ эксперименттік жұмысқа құрылымдық көзқарасты қамтамасыз ететін және нәтижелердің қайталануы мен қайталану мүмкіндігін қамтамасыз ететін зерттеуді жүргізуге нұсқаулық ретінде қызмет етеді.

Мақсаты мен гипотезасы эксперименттің негізгі мақсатын анықтайды, яғни зерттеуші қол жеткізуге немесе анықтауға ниетті. Гипотеза-бұл белгілі бір деректер немесе алдыңғы бақылаулар негізінде эксперимент нәтижесінде не болатыны туралы болжам. Гипотеза расталуы, жоққа шығарылуы немесе қосымша зерттеулерді қажет етуі мүмкін.

Тәуелсіз (оңтайландырылған) айнымалы - эксперимент процесінде экспериментатор жүйелі түрде өзгертетін немесе басқаратын айнымалы. Тәуелсіз айнымалы олардың тәуелді айнымалыларға әсерін тексеру үшін өзгертін шарттарды білдіреді. Ол әдетте зерттелетін құбылыстарға қандай әсер етуі мүмкін екенін анықтау үшін өзгереді.

Тәуелді айнымалылар + оларды өлшеу - мәндері тәуелсіз айнымалылардың өзгеруіне тәуелді болатын айнымалылар. Тәуелді айнымалылар тәуелсіз айнымалылардың өзгерістері эксперимент нәтижелеріне қалай әсер ететінін анықтау үшін өлшенеді. Олардың өзгерістері тәуелсіз айнымалы әрекеттің нәтижесі болып табылады.

Бақыланатын айнымалылар + бақылау әдісі - бұл эксперимент кезінде тұрақты болып қалатын жағдайлар немесе факторлар. Олар эксперимент нәтижелеріне басқа факторлардың әсерін болдырмау немесе азайту үшін бақыланады. Бақылау әдісі-жүйелі түрде өзгертіндерді қоспағанда, барлық сынақ жағдайлары үшін бірдей жағдайларды қамтамасыз ету.

Материалдардың, жабдықтардың және процедуралардың егжей-тегжейлі сипаттамасы - экспериментте қолданылатын барлық материалдар, жабдықтар мен әдістер туралы ақпаратты қамтитын эксперимент хаттамасының бөлігі болып табылады. Басқа зерттеушілердің эксперименттің толық ашықтығы мен қайталануын қамтамасыз ету үшін егжей-тегжейлі сипаттама қажет. Мұндай ақпаратты қосу басқаларға экспериментті қайталауға және оның нәтижелерін тексеруге мүмкіндік береді.

Тәуелсіз айнымалылар:

- **Уақыт** (әдетте минуттарда) - бұл тасымалдаушы ағынының жылдамдығы, температура, фазалық құрам сияқты хроматографиялық жүйенің жұмыс параметрлерімен басқарылатын айнымалы.
- **Бағанның ұзындығы** - талдаушылардың бөлінуіне әсер ететін хроматографиялық бағанның ұзындығы.

Тәуелді айнымалылар: -

- **Retention Time (ұсталу уақыты)** - аналиттің бағаннан өтуі үшін қажет уақыт. Бұл аналиттің физика-химиялық қасиеттеріне және хроматографияның жұмыс жағдайына байланысты.
- **Шың ауданы** - хроматограммадағы талданатын заттың шыңы қисығының астындағы аудан, ол белгілі бір уақытта бөлінген талданатын заттың мөлшерінің өлшемі болып табылады.
- **Шыңның ені** - хроматограммадағы талданатын заттың шыңының ені, ол талданатын заттың басқа компоненттерден бөліну дәрежесін көрсетеді және хроматографиялық жүйенің әртүрлі параметрлерімен байланысты болуы мүмкін.

Бұл айнымалылар хроматографиядағы аналитикалық бөлудің тиімділігін бағалау және талдау шарттарын оңтайландыру үшін қолданылады.

Бір параметрді оңтайландыру экспериментінің мысалы

- Мақсаты: фенолдың судан қатты фазалы микроэкстракциялану уақытын оңтайландыру
- Гипотеза: 10 мин экстракция уақыты талданатын заттың ең үлкен реакциясын қамтамасыз етеді (теория бойынша)
- Тәуелсіз айнымалы: экстракция уақыты
- Тәуелді айнымалы: фенол шыңының ауданы (ГХ-МС)

Бақыланатын айнымалылар

- Қаптама: Car/PDMS
- Экстракция температурасы: 40°C
- Үлгі көлемі: 5,00 мл
- Фенолдың концентрациясы: 1,00 мг/л

Алдыңғы эксперименттердің теориясы мен нәтижелері бойынша таңдалған

Тәуелсіз айнымалы

- Мәндер: 1, 2, 5, 10, 20, 30 және 60 мин
- Зерттелетін диапазон теорияға байланысты
- Өлшеу дәлдігі автосамплермен қамтамасыз етіледі
- Әрбір экстракция уақыты үшін үш бөлек эксперименттік үлгі дайындалады ($7 \times 3 = 21$ үлгі)

Тәуелді айнымалы

- Фенол шыңының ауданы (ГХ-МС)
- Әрбір үлгі үшін анықталады
- Үш параллель өлшеу нәтижелері бойынша орташа мән анықталады
- Қателіктер алынып тасталады

Қысқаша рәсім

- 250 мл суда фенол ерітіндісін дайындаңыз (1 мг/л)
- Әр виллаға 5,00 мл ерітінді құйыңыз (21 ыдысқа)
- Құрылғыны дайындаңыз, талшықты орнатыңыз
Car/PDMS
- Барлық виалдарды (21 ыдыс) автосамплерге салыңыз
- Әр экстракция уақыты үшін бағдарлама бойынша 7 әдісті дайындаңыз. Реттілік бойынша іске қосыңыз

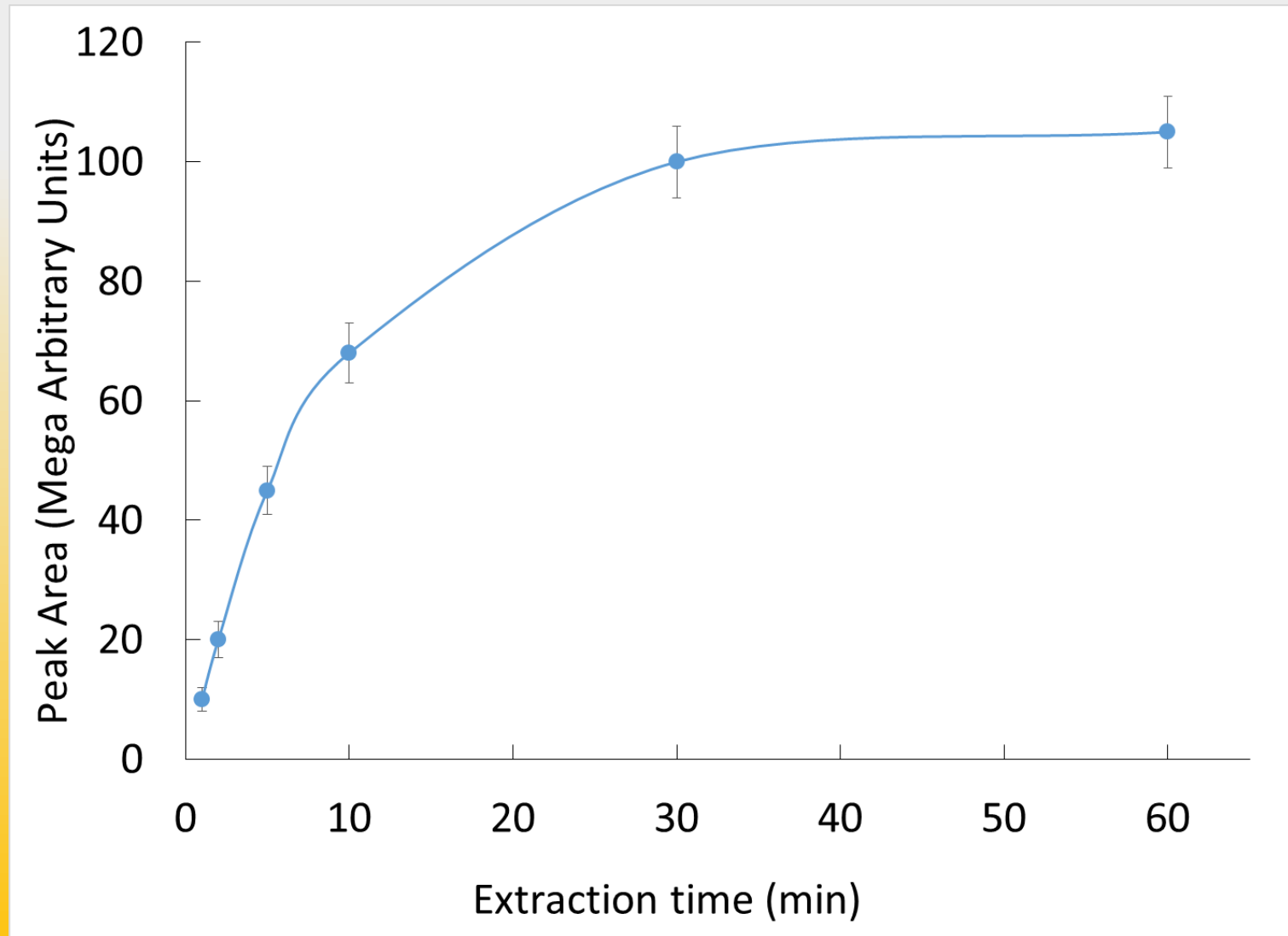
Қысқаша рәсім (жалғасы)

- Талдаудың соңына дейін күтіңіз
- Әр хроматограммада фенол шыңының ауданын анықтаңыз
- Алынған деректерді Excel файлына енгізіңіз
- "S = f (экстракция уақыты) «тәуелділігін құрыңыз

Таблица с данными

Экстракция уақыты (мин)	Фенол шыңының ауданы (ш.б.)				SD (ш.б.)
	Пар. 1	Пар. 2	Пар. 3	Орташа	
1					
2					
5					
10					
20					
30					
60					

Күтілетін кесте



Болжанған тұжырымдар

- Гипотеза расталмады
- Ең үлкен жауап > 30 мин уақытта қамтамасыз етіледі
- Әдістеме мүлдем мінсіз болмады - дәлдік күткеннен де нашар болды. Бұл тығыздағыштың дұрыс таңдалмауынан туындауы мүмкін
- Келесі эксперимент аясында тұз қоспасы бойынша оңтайландыру қарастырылады

Есеп

Оңтайландыру экспериментінің жоспарын жасаңыз:

- 1,1-диметилгидразинді толық дериваттау үшін қажетті p -нитробензальдегид концентрациясы
- DB-Petro 100 м x 0,25 мм жұқа қабат қалыңдығы 0,50 мкм болатын бағанды қолданып газ хроматографиясы әдісімен автомобиль бензинінің компоненттерін барынша тиімді және жылдам бөлуге арналған баған термостатының температурасы

Ұсыныстар

- Жоспарлауға көбірек уақыт бөлу
- Әрқашан параллельді бірнеше эксперимент жасаңыз
- Барлық ақпаратты жазып алыңыз
- Алдыңғы экспериментті егжей-тегжейлі сипаттағанша келесі экспериментті бастамаңыз

Бірнеше параметрді оңтайландыру

- Барлық комбинациялар
- Тізбекті оңтайландыру (кезек бойынша)
- Статистикалық әдістерді қолдану

Барлық комбинациялар

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

Тізбекті түрде оңтайландыру

- Параметр 1 оңтайландыру (экстр. қаптама)
- Параметр 2 оңтайландыру (экстракция T)
- Параметр 3 оңтайландыру (экстракция уақыты)
- Параметр 4 оңтайландыру (тұз қоспасы)
- Параметр 5 оңтайландыру (үлгі көлемі)

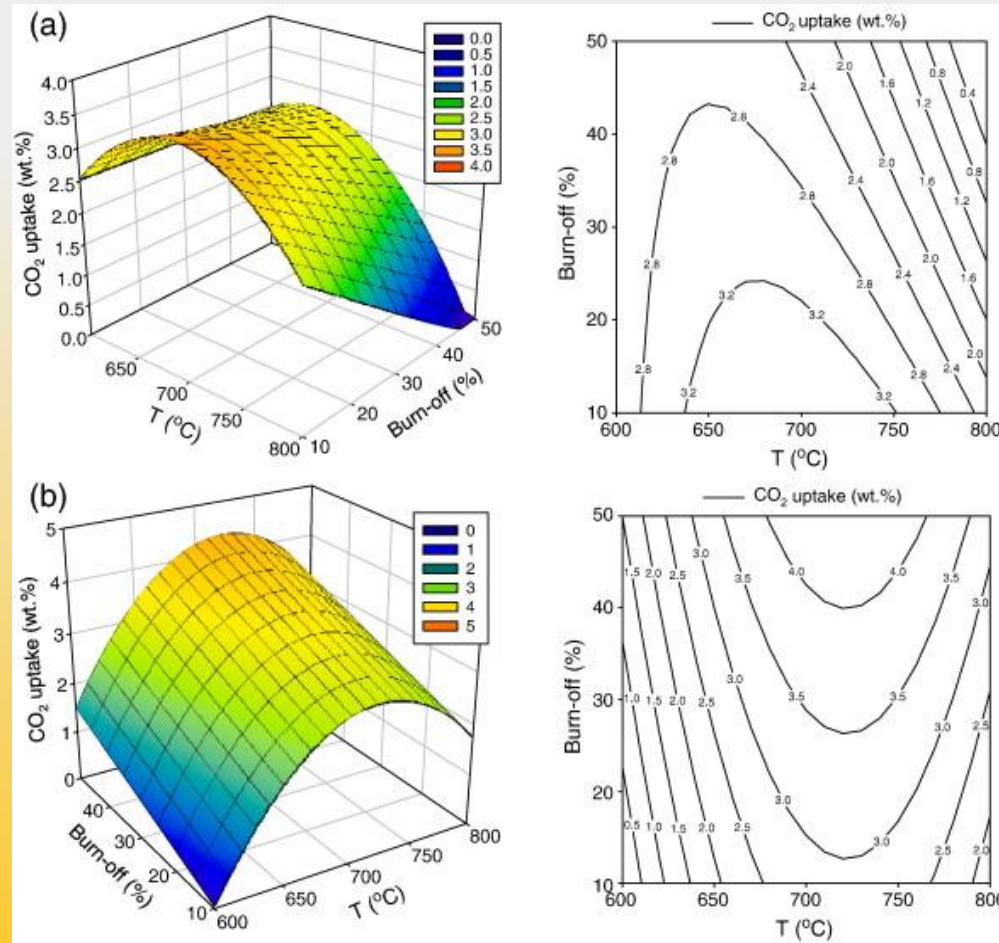
Салыстыру: барлық комбинациялар vs тізбекті

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

#	Parameter 1	Parameter 2	Parameter 3
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	1	2
5	1	2	2
6	1	3	2
7	1	3	2
8	2	3	2
9	3	3	2

Оңтайлы параметрлер қалың бояулы әріппен белгіленген

Response Surface Optimization Беттік жауапты оңтайландыру



Response Surface Optimization (RSO) - бұл көп өлшемді процестерде немесе жүйелерде оңтайлы жағдайларды табу үшін эксперименттік дизайнда қолданылатын оңтайландыру әдісі. Ол Шығыс параметрінің (жауаптың) әртүрлі кіріс факторларына тәуелділігін сипаттайтын жауап бетін модельдеуге негізделген.

Көптеген эксперименттік зерттеулерде қажетті нәтижелерге қол жеткізу үшін процестерді немесе жүйелерді оңтайландыру қажет. Дегенмен, бірнеше кіріс факторлары болған кезде, бір уақытта бір параметрді өзгерту арқылы мұны істеу қиын болуы мүмкін.

Оның орнына, **Response Surface Optimization** бір уақытта бірнеше факторлардың әсерін талдау және мақсатты жауапқа қол жеткізу үшін осы факторлардың ең жақсы комбинацияларын анықтау үшін статистикалық әдістер мен математикалық модельдеуді пайдаланады.

Бұл процестің маңызды бөлігі-жауаптың кіріс факторларына тәуелділік формасын сипаттайтын жауап бетінің моделін құру. Бұл модель сызықтық немесе сызықтық емес болуы мүмкін, айнымалылар арасындағы күрделі қатынастарды есепке алу үшін квадраттық және өзара әрекеттесетін терминдерді қамтуы мүмкін.

Модель құрастырылғаннан кейін оңтайландыру жүреді, ол берілген оңтайландыру критерийлеріне сәйкес максималды немесе минималды жауап алуға қол жеткізілетін кіріс параметрлерінің тіркесімін іздеуді қамтиды.

Беттік жауапты оңтайландыру инженерия, химия, биология, экономика және басқалары сияқты әртүрлі салаларда кеңінен қолданылады, мұнда қажетті нәтижелерге қол жеткізу үшін күрделі процестерді немесе жүйелерді оңтайландыру қажет.

Оңтайландыру процесінің тиімділігін арттыру

- Бұған дейін белгілі білім қорын қолдану (әдебиет. шолу)
- Теориялық болжамдарды қолдану
- Математикалық модельдеуді қолдану
- Параметрлердің логикалық реттелуі

Көрсетілген заттарды анықтаудың ең жақсы әдісін таңдаңыз

(МӨЖ тапсырмалары):

- Арақтағы метанолды
- Қандағы этанолды
- Шырындардағы сорбин қышқылын
- Ауадағы нафталинді
- Жүзімдегі гексахлорбензол

Көрсетілген заттарды анықтаудың ең жақсы әдісін таңдаңыз

(МӨЖ тапсырмалары):

- Жусандағы полифенолдарды
- Ауадағы альдегидтерді
- Судағы бейорганикалық катиондарды
- Тағамдағы пестицидтерді
- Бензиндегі хош иісті көмірсутектерді



СҰРАҚТАР ???