



ХРОМАТОГРАФИЯНЫҢ ЗАМАНАУИ АСПЕКТИЛЕРІ

Хроматографиядағы калибрлеу әдістерін салыстыру

**Минажева Гүлшарат Салауатовна – химия ғылымдарының кандидаты,
педагогика ғылымдарының докторы,
АКХжСЭТ кафедрасының қауымдастырылған профессоры**

САНДЫҚ АНАЛИЗ ТӘСІЛДЕРІ

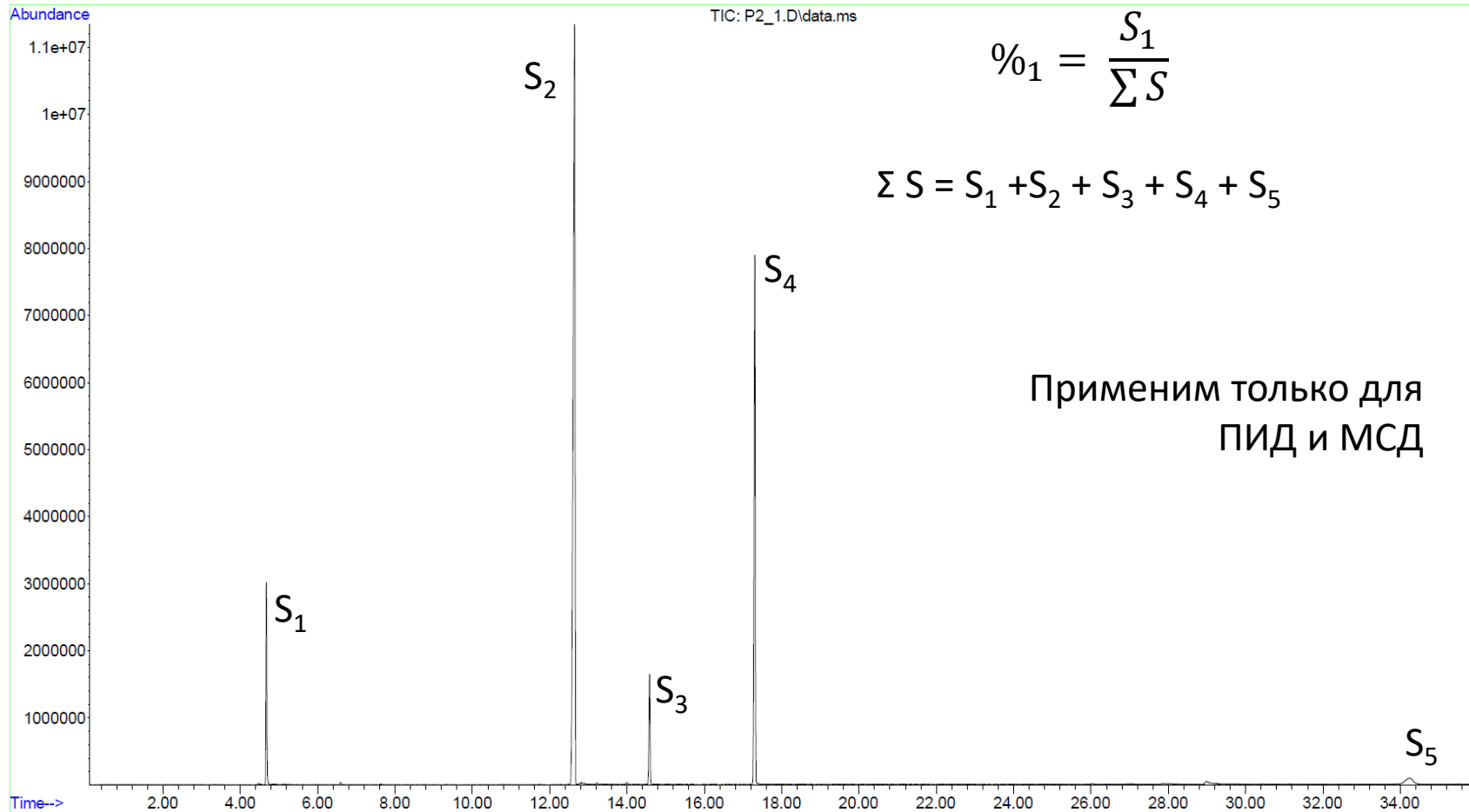
Нормализация – талданатын заттың пайызы оның шыңының ауданын хроматограммадағы (МСД немесе ПИД) барлық пик аудандарының қосындысына бөлу арқылы есептеледі.

Ішкі стандарт бойынша калибрлеу: $S = f(C)$

Сыртқы стандарт бойынша калибрлеу : $S/S_{BC} = f(C/C_{BC})$.

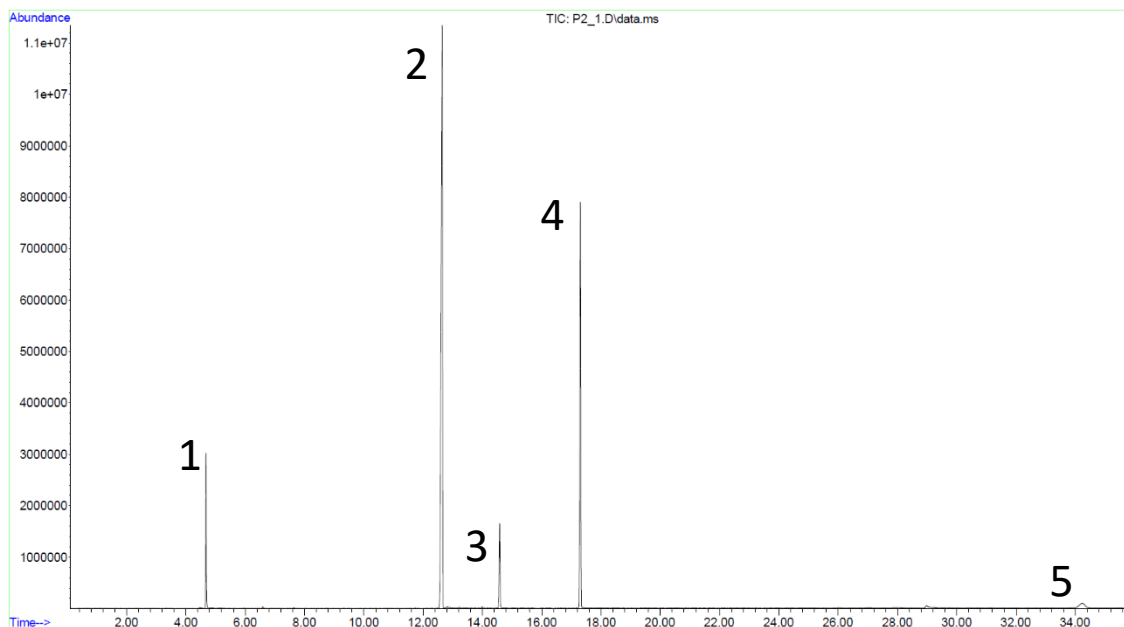
Қоспа әдісі: $S = f(C_{доб.})$.

Нормализациялау



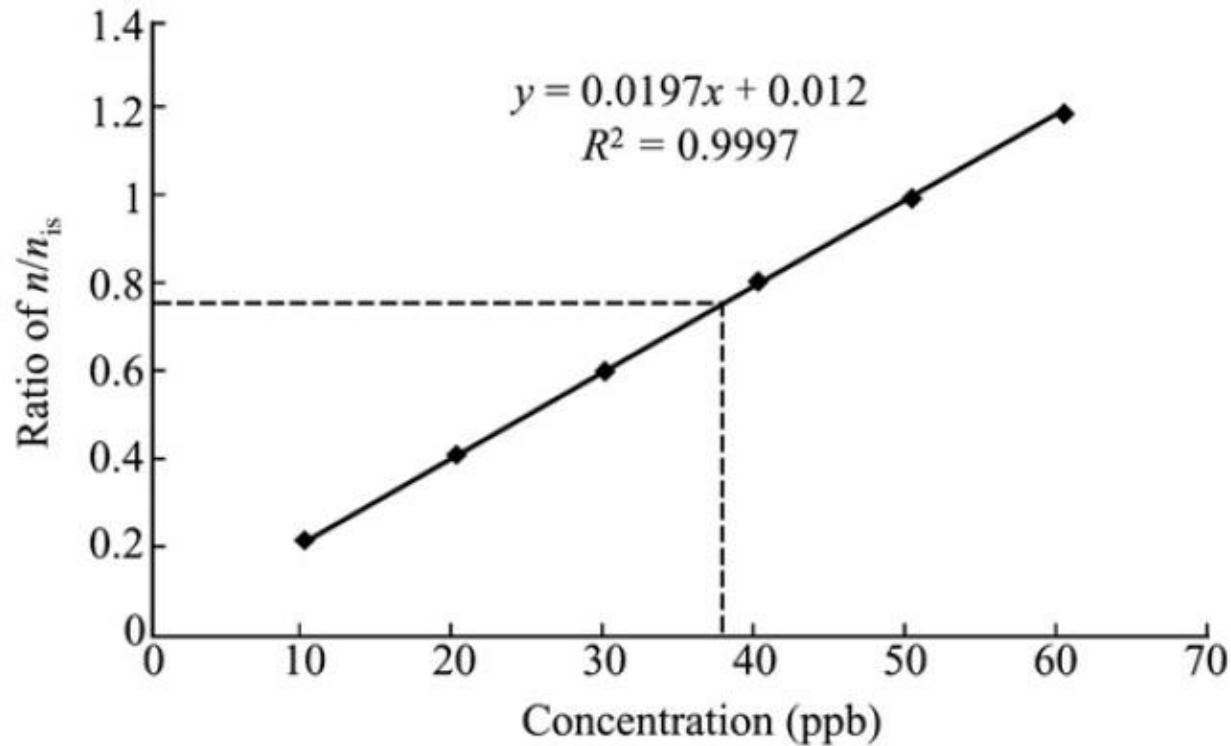
Жеңіл мұнай фракцияларын талдаудың өте қарапайым және жылдам әдісі

Нормализациялау нәтижелері



peak #	R.T. min	first scan	max scan	last scan	PK TY	peak height	corr. area	corr. % max.	% of total
1	4.675	1305	1318	1352	BB	2992968	49200040	12.88%	7.546%
2	12.645	3572	3606	3629	VB	11324431	382062343	100.00%	58.598%
3	14.585	4144	4163	4184	BB	1637784	33407127	8.74%	5.124%
4	17.306	4921	4945	4992	BB	7882056	175333879	45.89%	26.891%
5	34.251	9731	9812	9893	BB 6	90854	12002277	3.14%	1.841%

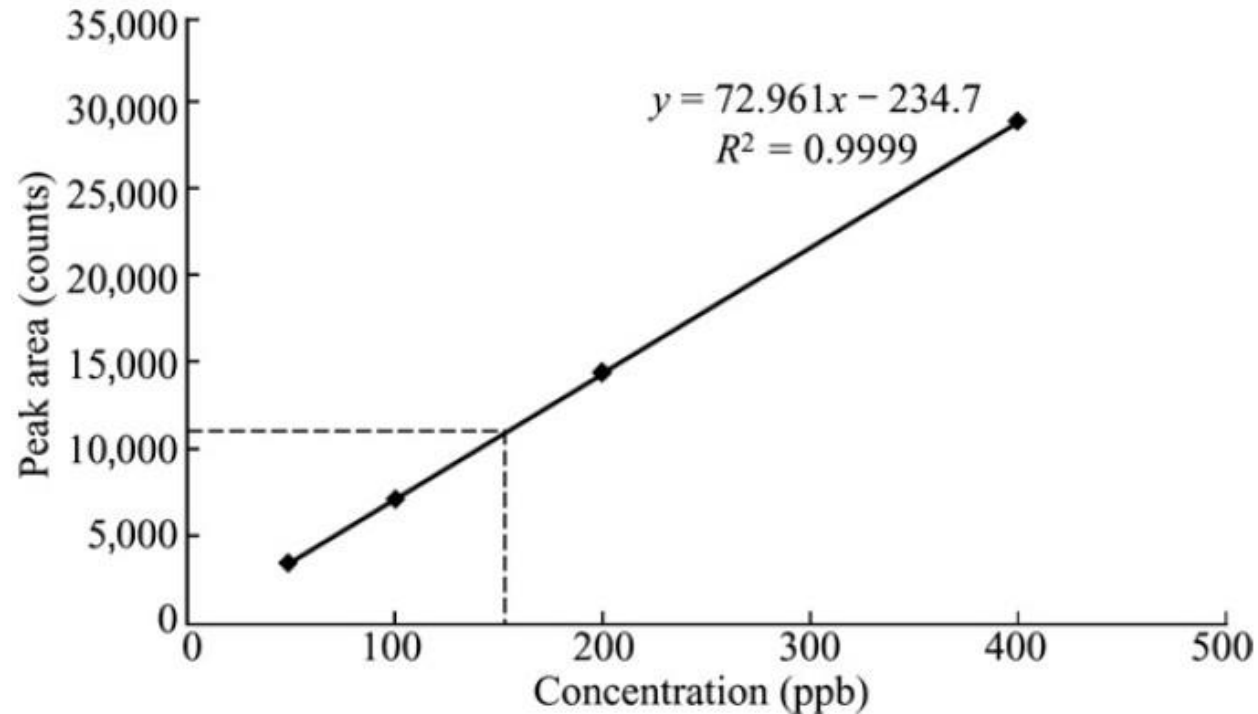
Ішкі стандарт бойынша калибрлеу



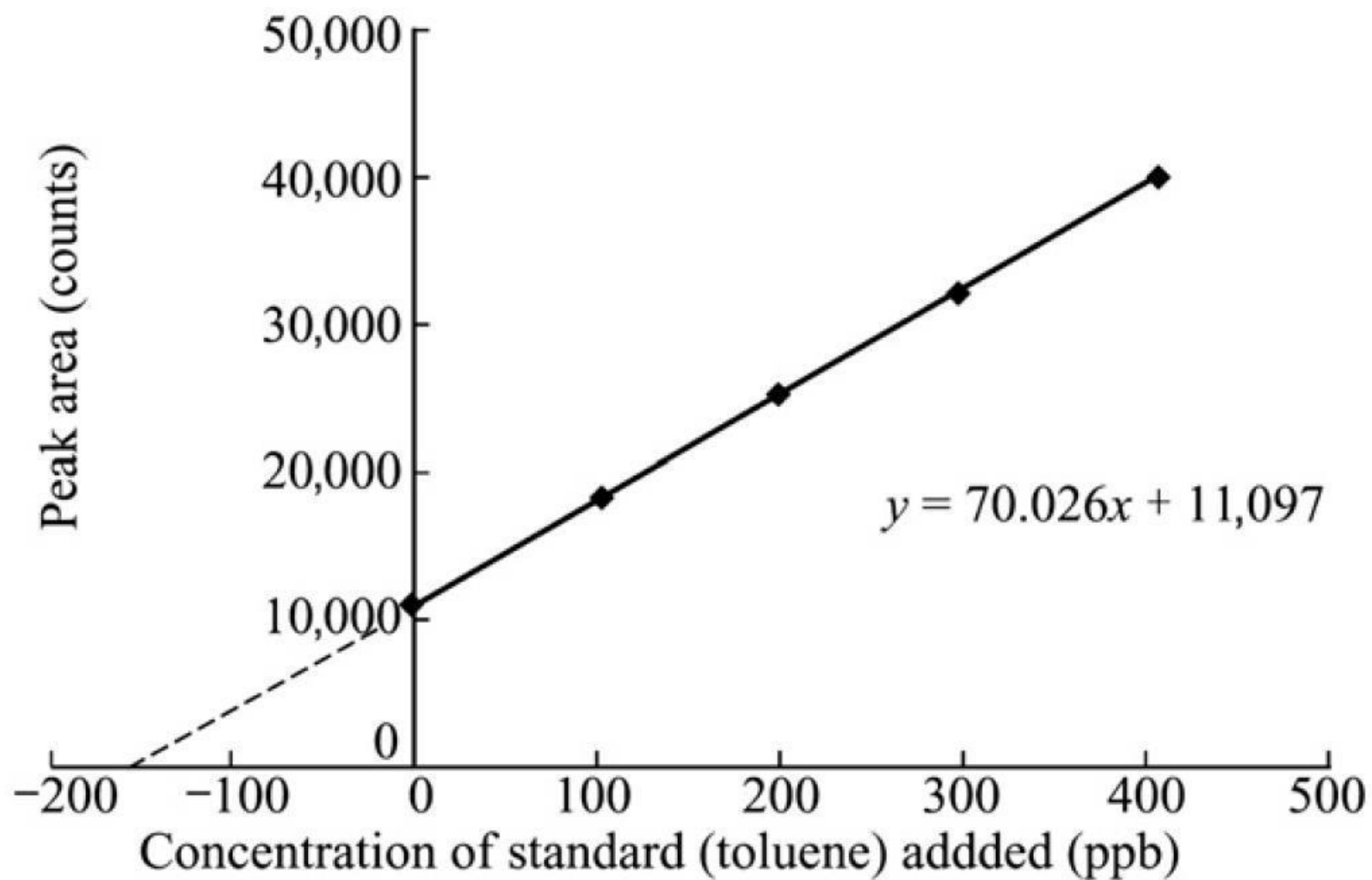
Ішкі стандарт тәсілі бойынша анықталатын қоспаға стандартты заттың белгілі мөлшері қосылады.

Калибрлі график - компоненттің % мөлшері (концентрациясы) мен осы компонент пен стандартты заттың пиктерінің биіктігі (немесе ауданы) қатынастарының арасындағы байланыс (тәуелділік)

Сыртқы стандарт бойынша калибрлеу



Хроматограмма алады, содан соң тура сондай жағдайда хроматографқа жасанды қоспа (оны ізделіп отырған компоненттің пик ауданына сәйкестендіріп алады) енгізеді (оның концентрациясы да анықталатын сынамадағы ізделетін компоненттің концентрациясына жақын болуы тиіс). Пиктерді идентификациялаған соң есептеулер жүргізеді. Бұл тәсіл жеке заттарды анықтағанда немесе қарапайым микроқоспаларды анықтағанда тиімді.



Ішкі стандарт бойынша калибрлеу әдісінің артықшылықтары

- Сынама дайындау кезіндегі шығынды бақылау

Аналит шығыны кезінде де ішкі стандарт жойылады, олардың концентрацияларының қатынасы тұрақты болып қалады.

- Көлемді бақылау қажет болмайды
- Құрылғының сезімталдығын бақылау

Құрылғының сезімталдығын арттырғанда аналиттің сигналы да, ішкі стандарттың сигналы да (пропорциональды түрде) артады.

Ішкі стандарт бойынша калибрлеу (1)

- Аналиттің әртүрлі концентрациясындағы калибрлеу ерітіндісін дайындау
- Калибрлеу ерітіндісінің әрқайсысына ішкі стандарттың бірдей концентрациясын қосады
- Ішкі стандарттың дәл сондай концентрациясын анықталатын үлгіге де қосады
- Калибрленетін және зерттелетін үлгілерді сараптау
- Аналиттің (S_a) және ішкі стандарттың (S_{is}) сигналдарын табу

Ішкі стандарт бойынша калибрлеу (2)

- Әр үлгі үшін S_a/S_{is} қатынасын есептеу
- Калибрлік үлгілер анализінің нәтижесі бойынша $S_a/S_{is} = f(C_a)$ тәуелділігін құру
 - Калибрлік тәуелділік бойынша аналиттің зерттелетін үлгідегі концентрациясын анықтау

Есептер

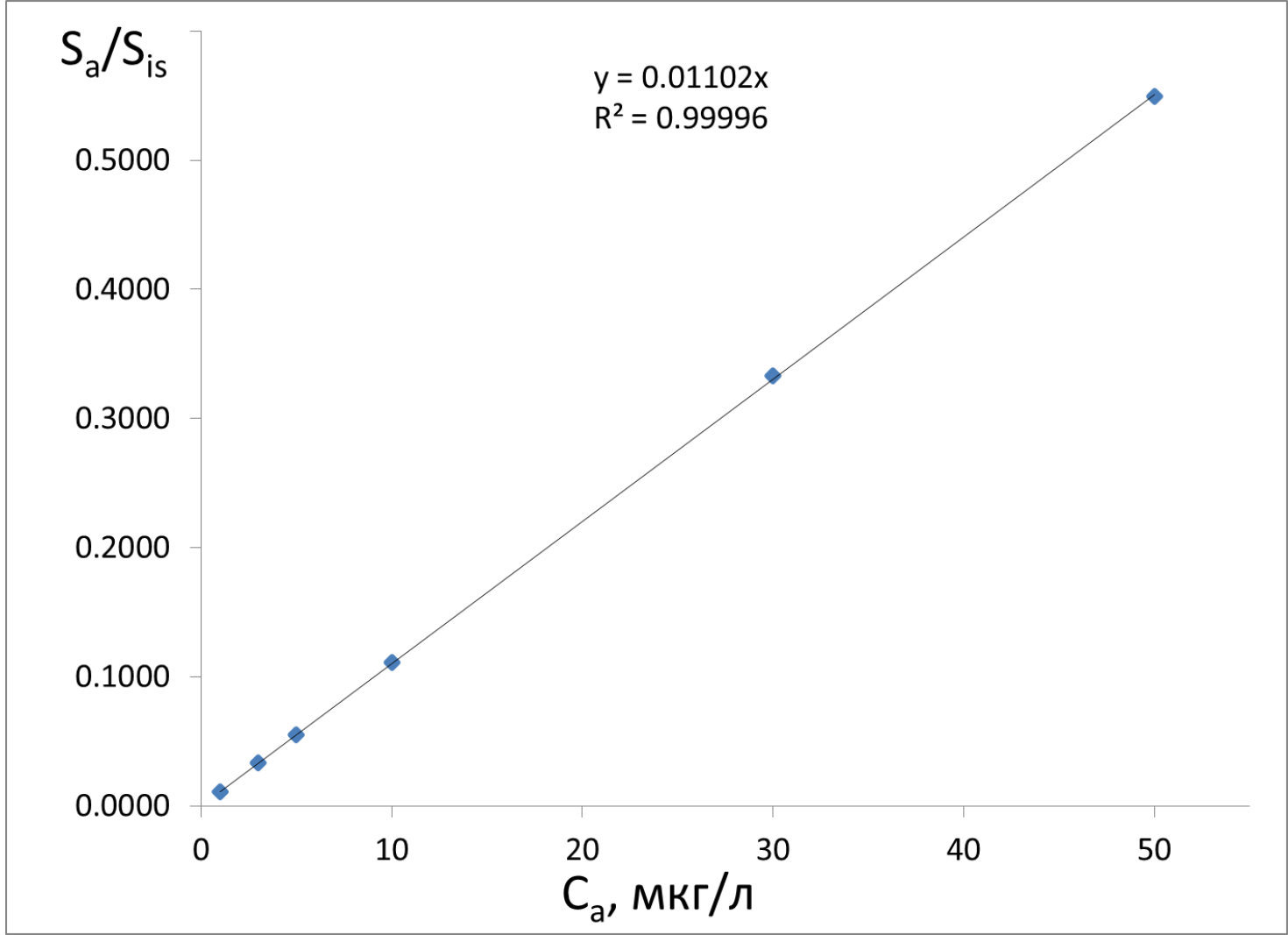
Судың үлгісіндегі диуронның концентрациясын СХ-МС әдісі арқылы анықтау керек. Ішкі стандарт ретінде кофеин қолданылады, оның 100 мкг/л концентрациясы барлық үлгілерге қосылады. Концентрациялары 1, 3, 5, 10, 30 и 50 мкг/л калибрлі үлгілерден алынған диурон пиктерінің ауданы мынадай болған: 61, 266, 439, 712, 2344, 3999 ш.б.

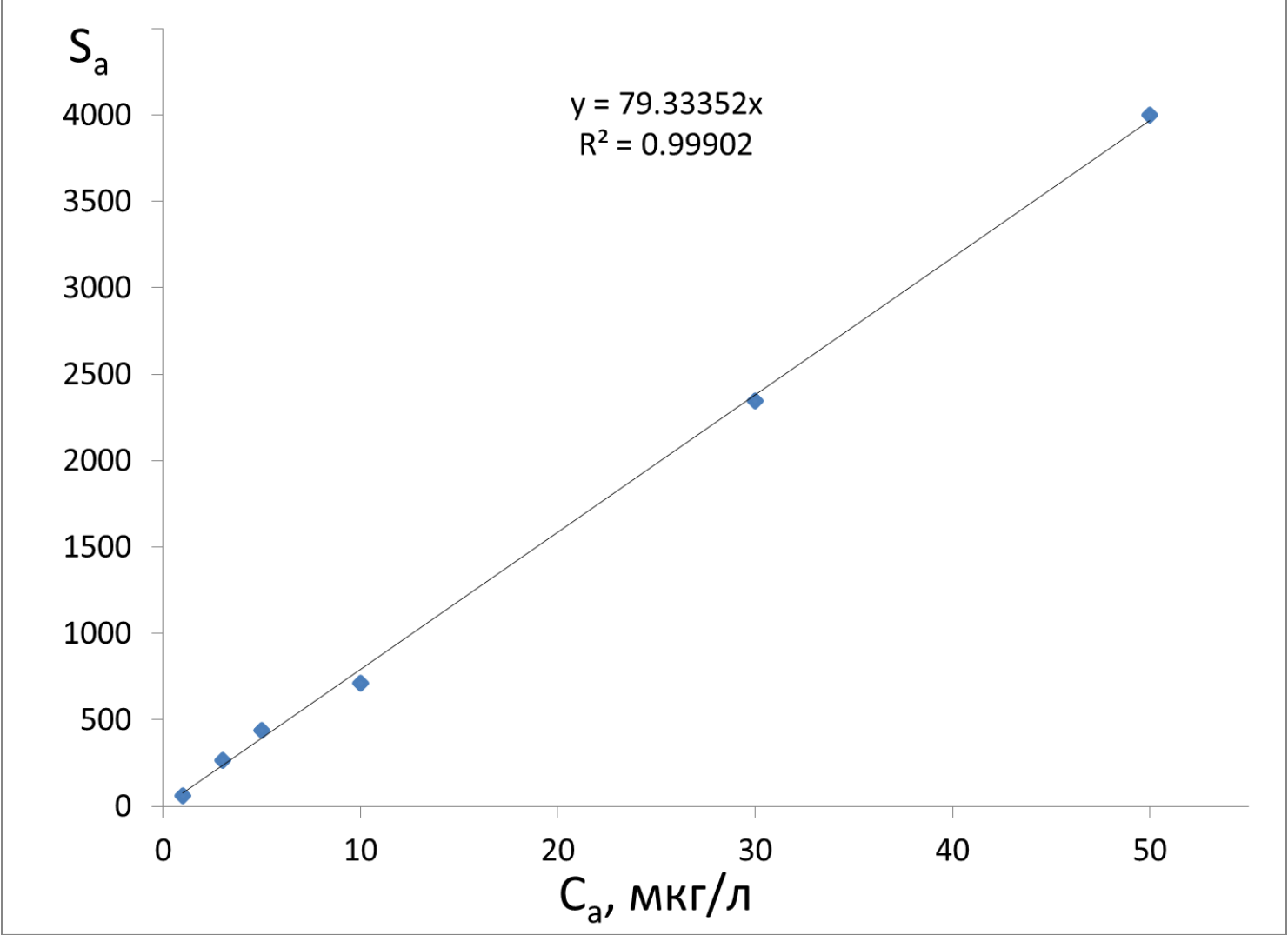
Кофеин пиктерінің ауданы мынадай болды: 5569, 8014, 8014, 6425, 7036, 7280 ш.б.

Зерттелетін үлгінің хроматограммасындағы диурон және кофеин пиктерінің ауданы мынадай болды 3649 және 7225 ш.б., сәйкесінше.

Есептеулер

C (диурон), мкг/л	S (диурон), у.е.	S (кофеин), у.е.	S (диурон)/ S (кофеин)
1	61	5569	0,0110
3	266	8014	0,0332
5	439	8014	0,0548
10	712	6425	0,1108
30	2344	7036	0,3331
50	3999	7280	0,5493





Ең төменгі квадраттар әдісі

Түзу сызықты тәуелділікті құруда қолданылады:

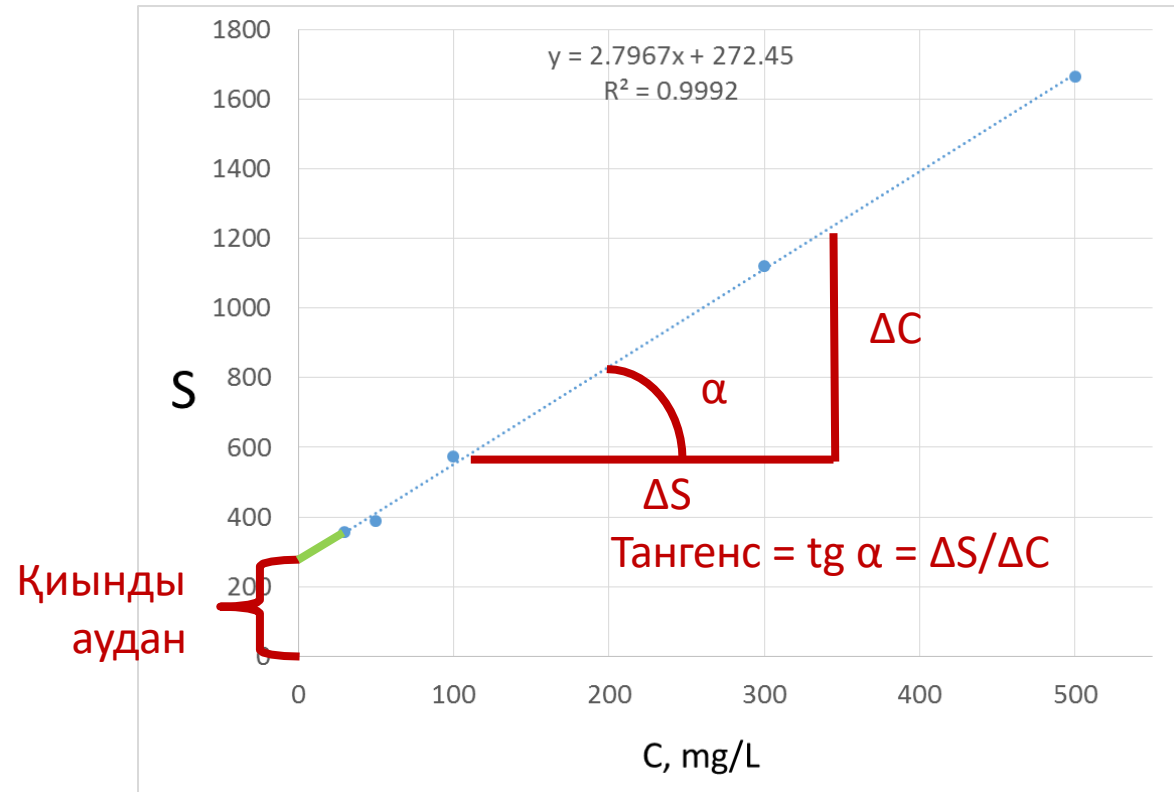
$$S = aC + b$$

a – тангенс ($\Delta S / \Delta C$)

b – қиынды аудан

S – сигнал

C – концентрация



Ең төменгі квадраттар әдісі MS Excel-де

G3		x		✓		fx		{=ЛИНЕЙН(C3:C7;B3:B7;ИСТИНА;ИСТИНА)}	
	A	B	C	D	E	F	G	H	
1									
2		C, ug/L	S	SD			Slope	Intercept	
3		30	356.6	13.3		Parameter	2.797	272	
4		50	390.1	35		SD	0.046	12	
5		100	572.6	37.2		R2	0.9992	19 Sy	
6		300	1119.8	63.8					
7		500	1663.9	186.7					

“ЛИНЕЙН” немесе “LINEST” функцияларын қолданыңыз:

- 1) Ұяшық массивін осы мөлшерде 2x3 таңдаңыз;
- 2) Формуланы енгізіп, Y и X мәндерінің қажетті диапазонын көрсетіңіз;
- 3) Үшінші айнымалы мәнді «Ложь» көрсетіңіз, егер түзу (0;0) арқылы өтсе;
- 4) “SHIFT+CTRL” клавишаларын басып және ұстап тұрыңыз, сосын “ENTER” басыңыз.

Теңдеу: $S = (2.797 \pm 0.046) \times C + (272 \pm 12)$

H5		{=ЛИНЕЙН(E5:E10,B5:B10,ЛОЖЬ,ИСТИНА)}													
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	
1															
2		Данные						Расчеты							
3	Калибровка							Внутренний стандарт				Внешний стандарт			
4		C (диурон), мкг/л	S (диурон), у.е.	S (кафеин), у.е.	S (диурон)/ S (кафеин)			Тангенс	Отрезок			Тангенс	Отрезок		
5		1	61	5569	0.0110	Параметр		0.01101911	0			79.33	0		
6		3	266	8014	0.0332	Станд. отклон. (CO)		0.000024	#Н/Д			0.82	#Н/Д		
7		5	439	8014	0.0548	R ²		1.0000	0.00140138	Sy		0.9995	48.721202	Sy	
8		10	712	6425	0.1108										
9		30	2344	7036	0.3331	Относит. CO, %		0.21				1.03			
10		50	3999	7280	0.5493	Уравнение: $S_y/S_x = (0,011019 \pm 0,000024) C$						S = (79,33 ± 0,82) C			
11															
12	Анализ														
13			3649	7225	0.5051	Концентрация диурона, мкг/л		45.8				46.0			

ИЗОТОПТЫ СҰЙЫЛТУ ӘДІСІ

- Әрбір анықталатын үлгіге изотопты-белгіленген аналит енгізеді
- Хроматограммадан аналит пен изотопты-белгіленген ішкі стандарт пиктерінің қатынасын анықтайды
- Аналиттің концентрациясын изотопты-белгіленген ішкі стандарт концентрациясын есептелінген қатынас мәніне көбейту арқылы табады.

Есептер

Газды хроматографқа концентрациясы 15 пг/мкл пестицид ДДТ-ның 1,0 мкл ерітіндісін «ағынды бөлмей» режимі арқылы енгізеді. Калибровкаға сәйкес, анализ шыңының ауданы ДДТ 13,3 пг/мкл болатын концентрациясына сәйкес келеді. Нәтижелердің төменірек болуын немен түсіндіруге болады?

Дәлдікке арналған есеп

Методиканың дәлдігін тексеру үшін құрамында 15 пг/мкл триазол бар судың экстрактының үлгісін және концентрациясы 50 пг/мкл ішкі стандартты (пиридинді) ГХ-МС де талдаған. Триазол мен пиридин пиктерінің ауданы 75 және 2,5 ш.б. құраған, сәйкесінше. Ішкі және сыртқы стандарттар әдістерінің дәлдігін есептеп, салыстыру керек.

Калибровка келесі слайдта берілген. Барлық калибрлік үлгілердегі пиридиннің концентрациясы - 50 пг/мкл.

Есеп – калибрлеу бойынша

Ca, пг/мкл	Sa	Sis	Sa/Sis
1	5.21	2.496	2.087
2	8.56	2.069	4.138
5	29.2	2.930	9.965
10	45.4	2.168	20.94
30	142.2	2.261	62.88
50	206	2.106	97.8
	$S = 4.303 C_a$		$S_a/S_{is} = 1.996 C_a$

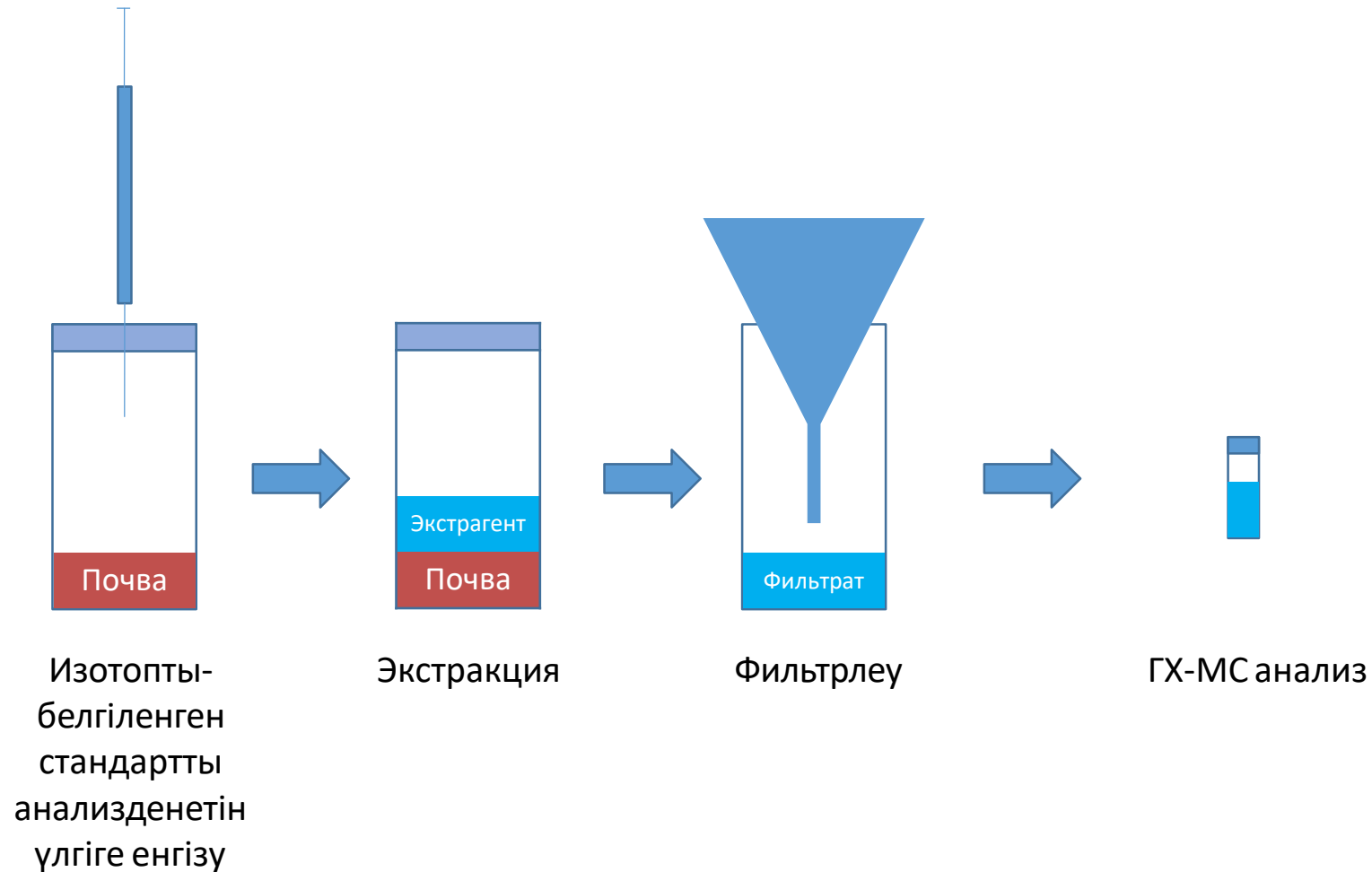
Есеп – есептеулер және қорытынды

C_a , пг/мкл	S_a	S_{is}	S_a/S_{is}	Сыртқы стандарт		Ішкі стандарт	
				$C_{\text{найден.}}$, пг/мкл	Точность, %	$C_{\text{найден.}}$, пг/мкл	Точность, %
15	75	2.5	30	17.4	116	15.0	100.2

Қорытынды:

- Сыртқы стандарт әдісі бойынша табылған концентрация белгілі мәннен 20% жоғары болды, бұл анализ шыңы ауданының 20% -ға жоғары мәнмен тіркелуінен болған. Мүмкін болатын себебі – колонкаға сынаманың мөлшерден тыс құйылуынан.
- Бірақ ішкі стандарт шыңының да ауданы 20% -ға артты, нәтижесінде анализ пен ішкі стандарт шыңдарының қатынасы шынайы мәніне максимальды жақын болып қалды, анализтің ішкі стандарт әдісімен табылған концентрациясы да сондай болды.

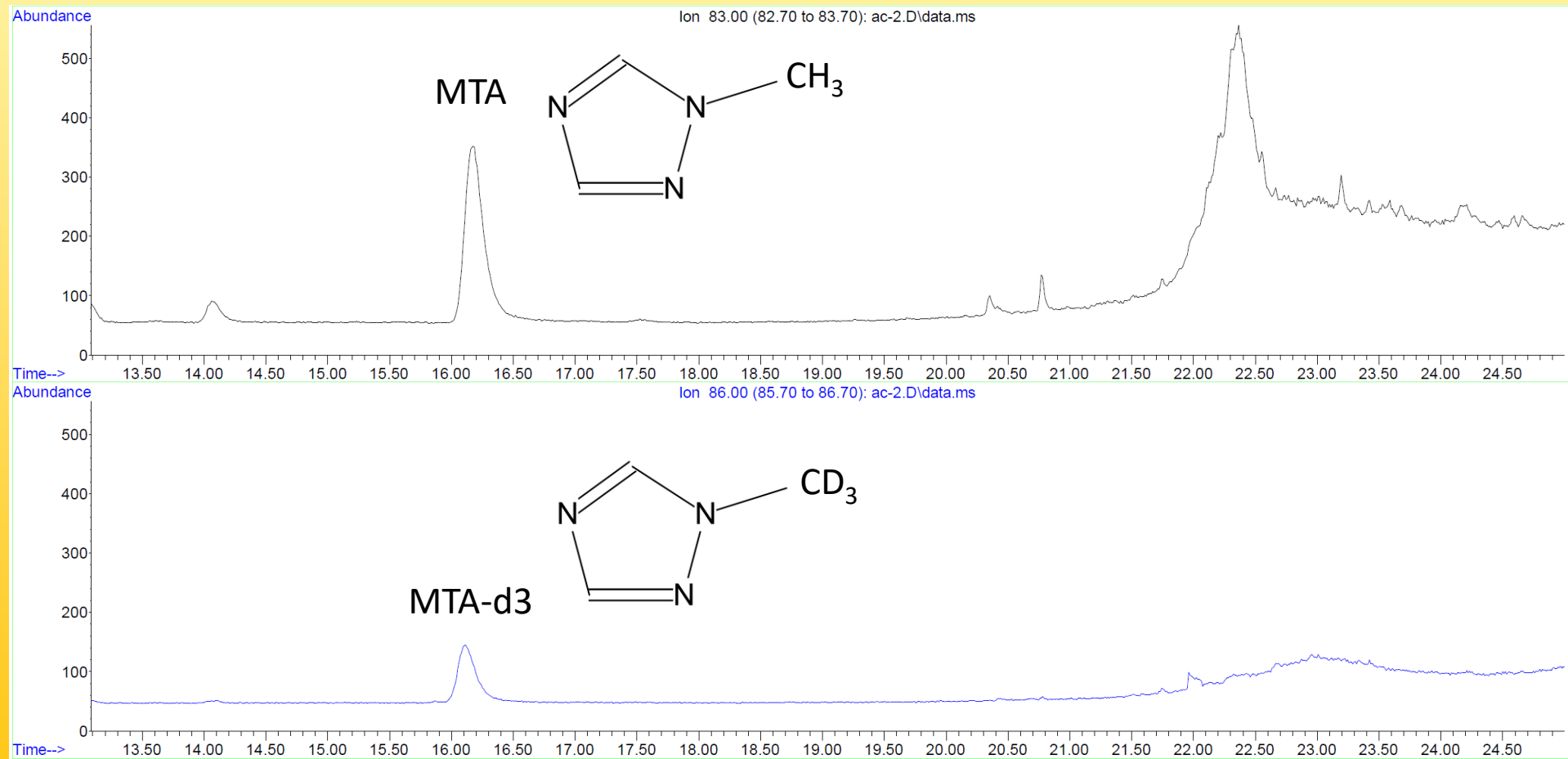
Изотопты сұйылту әдісінің жүргізілу барысы



Мысал

- Массасы 1,00 г топырақ үлгісіне концентрациясы 216 мг/л дейтерленген метилтриазолдың 10 мкл ерітіндісі қосылды, содан кейін 10,0 мл ацетонның екі порциясымен экстракцияланып, сүзіледі және ГХ-МС талдауы жүргізілді.
- Топырақтағы метилтриазолдың концентрациясын табыңыз, егер анықталатын заттың ең жоғары аудандары және ішкі стандарт сәйкесінше 25000 және 8000 болса.

83 және 86 иондарының хроматограммалары



Шешу жолы

$$C_{MTA} = \frac{C_{MTA-d3} \times S_{MTA}}{S_{MTA-d3}}$$

мұндағы C_{MTA-d3} – топырақтағы ішкі стандарттың концентрациясы

S_{MTA} –аналит шыңының ауданы

S_{MTA-d3} – ішкі стандарт шыңының ауданы

Шешімі

$$C_{MTA-d3} = \frac{C_{ss(MTA-d3)} \times V_{ss(MTA-d3)}}{m_s}$$

мұндағы $C_{ss(MTA-d3)}$ – МТА-d3 ерітіндісінің концентрациясы

$V_{ss(MTA-d3)}$ – енгізілген МТА-d3 ерітіндісінің көлемі

m_s – топырақ массасы, г

Шешімі

$$C_{MTA-d3} = \frac{216 \frac{\text{МГ}}{\text{Л}} \times 10 \text{ мкл}}{1 \text{ г}} = \frac{2160 \text{ МГ мкл}}{\text{г } 10^6 \text{ мкл}} = 2,16 \frac{\text{МГ}}{\text{КГ}}$$

$$C_{MTA} = \frac{2,16 \frac{\text{МГ}}{\text{КГ}} \times 25000}{8000} = 6,75 \frac{\text{МГ}}{\text{КГ}}$$

Сұрақ

- Изотоптық сұйылту әдісінің негізгі артықшылықтары қандай?



СҰРАҚТАР ???