

Kurs: Techniki przygotowania próbek w analizie żywności
metodami chromatografii gazowej i spektrometrii mas

Analiza jakościowa i ilościowa w chromatografii gazowej

Małgorzata Majcher



UNIwersytet
PRzyrodniczy
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza jakościowa

- Na podstawie parametrów retencji - w takich samych warunkach chromatograficznych analizowana substancja ma zawsze taką samą retencję:
 - Czas retencji (t_r)
 - Indeks retencji (RI)
- Na podstawie fizykochemicznego badania frakcji z zastosowaniem detektorów jakościowych



UNIwersytet
PRzyrodniczy
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

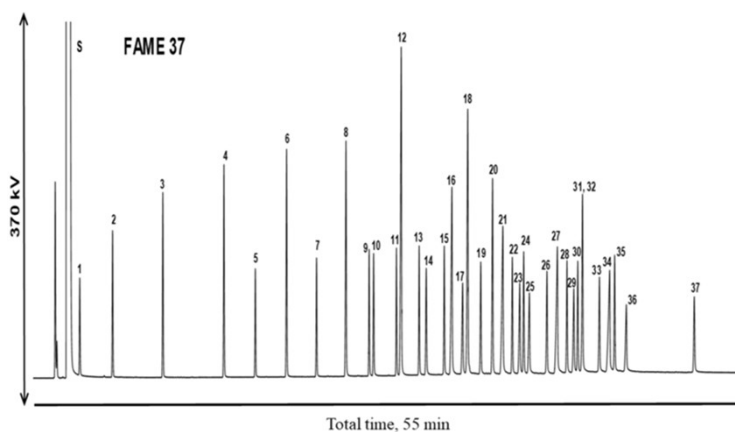
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza jakościowa

CZAS RETENCJI – czas od nastrzyku do pojawienia się na chromatogramie maksimum pików danej substancji

w takich samych warunkach chromatograficznych (rodzaj kolumny, jej wypełnienie, temperatura, rodzaj i przepływ gazu nośnego) analizowana substancja ma zawsze taką samą retencję – porównanie ze wzorcem,



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza jakościowa

INDEKSY RETENCJI (INDEKSY KOVÁTSA)

- Nie zależy od gazu nośnego, szybkości przepływu i temperatury, zależy od polarności fazy ciekłej

• dla dowolnej substancji X wyznacza się w stosunku do retencji *n*-alkanów, jednego o (*z*) atomach węgla w cząsteczce, eluowanego z kolumny przed substancją, i drugiego o (*z*+1) atomach węgla cząsteczce, eluowanego z kolumny po substancji, czyli $t'_{Rz} < t'_{Rx} < t'_{Rz+1}$. Indeks retencji Kovátsa obliczamy według wzoru:

$$I_x = 100z + 100 \frac{\log t'_{Rx} - \log t'_{Rz}}{\log t'_{Rz+1} - \log t'_{Rz}}$$



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



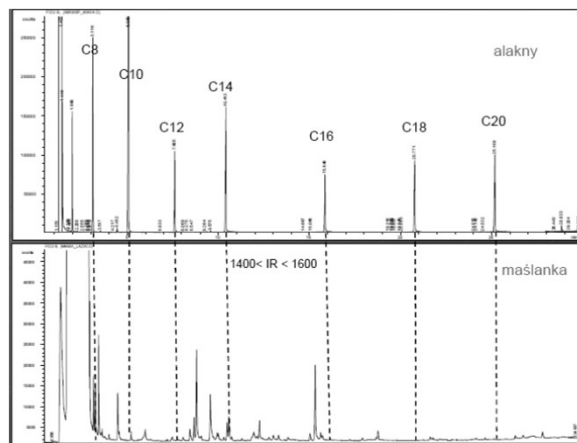
Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską





Article

J. Agric. Food Chem., Vol. 57, No. 10, 2009 4323

Table 2. Most Odor-Active Compounds (FD ≥ 18) Identified in the Hungarian Salami

no.	aroma compound ^a	aroma quality ^b	fraction ^c	RI ^d on				earlier reported ^e as volatile constituent of dry sausages
				FFAP	DB-5	OV-1701	FD factor ^d	
1	2-and 3-methylbutanal ^f	malty	NBF	916	651	728	64	5
2	3-(methylthio)-1-propene (allylmethyl sulfide)	garlic-like	NBF	948	695	740	32	9
3	ethyl 2-methylpropanoate	fruity	NBF	964	753	816	32	6
4	α -pinene	pine-like	NBF	1009	930	946	32	6
5	ethyl butanoate	fruity	NBF	1028	802	861	32	9
6	ethyl 2-methylbutanoate	fruity	NBF	1044	849	909	64	6
7	ethyl 3-methylbutanoate	fruity	NBF	1060	853	913	32	6
8	hexanal	green, grassy	NBF	1079	801	885	16	3
9	1-octen-3-one	mushroom-like	NBF	1230	974	1068	256	49
10	2-acetyl-1-pyrroline	roasty, popcorn-like	NBF	1325	924	1012	256	49
11	(Z)-1,5-octadien-3-one ^h	geranium-like	NBF	1366	979	1061	16	
12	nonanal	citrus-like, soapy	NBF	1383	1106	1195	16	4
13	3-isopropyl-2-methylpyrazine	earthy, pea-like	NBF	1423	1049	1141	64	
14	2-furylmethanol	roasty, sulfurous	NBF	1427	912	995	128	48
15	acetic acid	pungent, sour	AF	1436	nd	733	2048	2
16	3-methylthio-propanal (methional)	cooked potato-like	NBF	1447	907	1043	512	50
17	2-ethyl-3,5-diethylpyrazine	earthy	NBF	1447	1084	1154	16	
18	2,3-diethyl-5-methylpyrazine	earthy	NBF	1480	1151	1218	32	
19	unknown	roasty, sulfurous	NBF	1495	nd	nd	32	
20	(Z)-2-nonenal	fatty, talowy	NBF	1499	1147	1261	32	51
21	3-isobutyl-2-methylpyrazine	earthy, pea-like	NBF	1513	1184	1235	16	
22	(E)-2-nonenal	fatty, talowy	NBF	1522	1160	1274	32	8
23	propanoic acid	soapy	AF	1524	nd	nd	16	2
24	(R)-linalool	flowery	NBF	1542	1100	1199	64	6
25	unknown	fatty	NBF	1614	nd	nd	16	
26	butanoic acid	soapy, cheese-like	AF	1619	836	979	256	2
27	phenylacetaldehyde	honey-like	NBF	1632	1041	1183	512	7
28	unknown	flowery, honey-like	NBF	1651	nd	nd	16	3
29	2-and 3-methylbutanoic acid ^f	soapy	AF	1661	867	1020	512	
30	(E)-2,4-nonadienal	fatty	NBF	1693	1217	1358	16	51
31	2-acetyl-2-thiazoline	roasty, popcorn-like	NBF	1747	1103	1244	32	
32	2-hydroxy-3,5-dimethyl-2-cyclopenten-1-one	caramel-like	AF	1790	1204	1056	16	
33	2-hydroxy-3,4-dimethyl-2-cyclopenten-1-one	seasoning-like	AF	1832	1226	1073	32	
34	2-methoxyphenol (guaiacol)	smoky, sweet	NBF	1853	1083	1230	4096	
35	2-phenylethanol	honey-like	NBF	1903	1111	1277	32	13

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W POZNANIU

Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego

Rzeczpospolita Polska

 Dofinansowane przez
Unię Europejską


Flavornet - Windows Internet Explorer

http://www.flavornet.org/flavornet.html

Flavornet Home Kovats RI Ethyl Ester RI Odorants Odors Odor Classes

OV101	DB5	OV17	C20M	Odorant	Odor	Kovats RI
[312]	[329]	[420]	677	trimethylamine	fish	
418	427	[518]	714	ethanal	pungent, ether	
[483]	500	[591]	696	methanethiol	sulfur, gasoline, garlic	
500	500	500	500	pentane	alkane	
527	505	[596]	716	dimethyl sulfide	cabbage, sulfur, gasoline	
[489]	506	[597]	571	propanal	solvent, pungent	
[519]	536	[627]	1037	propanol	alcohol, pungent	
530	[547]	[591]	848	ethyl formate	pungent	
655	593	692	970	diacetyl	butter	

Leibniz-LSB@TUM Odorant Database

Odorant	CAS RN	Odor quality	RI-5	RI-1701	RI-FFAP	MW	Structure	Details
3-isopropyl-2-methylpyrazine	25773-40-4	earthy, pea-like	1094	1142	1426	152		
benzaldehyde	100-52-7	bitter almond-like, marzipan-like	968	1074	1012	106		
gamma-butyrolactone	96-48-0	sweet, aromatic	900		1638	86		
benzyl alcohol	100-51-6	bitter almond-like, fruity	1037	1220	1065	106		
nonanal	124-19-6	citrus-like, soapy	1104	1192	1381	142		
hexanal	66-25-1	green, grassy	803	884	1076	100		

UNIWERSYTET PRZYRODNICZY W POZNANIU

Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego

Rzeczpospolita Polska

 Dofinansowane przez
Unię Europejską


Analiza jakościowa

• DETEKTORY SELEKTYWNE (NPD, FPD, FTIR, MSD, AED)

- NPD (detektor wychwyty azotu/fosforu) służy głównie do analizy związków zawierających azot (np. aminy, alkaloidy) i fosfor (np. pestycydy fosforoorganiczne)
- FPD (detektor fotometryczny płomieniowy) jest selektywny wobec związków siarki (np. tioli, siarczków) i fosforu,
- AED – detektor emisji atomowej do oznaczania wybranych pierwiastków
- MSD – spektrometr mas, uzyskanie widma masowego

• WSTĘPNE PRZYGOTOWANIE PRÓBK

sililacja, redukcja (NaBH_4) – otrzymanie określonych grup funkcyjnych, służących identyfikacji



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa

Analiza ilościowa to dział chemii analitycznej, którego celem jest oznaczenie ilościowe (stężenia lub zawartości) poszczególnych składników w badanej próbce. W przeciwieństwie do analizy jakościowej, która identyfikuje obecność substancji, analiza ilościowa określa ich dokładną ilość, najczęściej wyrażoną w jednostkach masy (np. mg, μg) lub stężenia (np. mg/L, mol/L).

CECHY IDEALNEJ METODY ILOŚCIOWEJ:

- wysoka precyzja i dokładność
- eliminacja wpływu zanieczyszczeń pochodzących z matrycy i odczynników analitycznych
- możliwość zastosowania w rutynowych pracach
- eliminacja ryzyka utraty próbki lub analitu w trakcie pracy lub analizy
- szybkość i prostota wykonania

CZYNNIKI DETERMINUJĄCE PRECYZJĘ I DOKŁADNOŚĆ

- przetwarzanie i obróbka danych
- technika nastrzyku
- stosowane kolumny
- metody przygotowania próby
- komora nastrzykowa i wprowadzenie próbki do kolumny



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa w GC

METODY ILOŚCIOWEGO OZNACZANIA ZWIĄZKÓW

- PROCENT POWIERZCHNI - wyznaczenie tak zwanego udziału procentowego np. skład kwasów tłuszczowych w oleju

Oraz metody oparte na porównaniu powierzchni pików oznaczanej substancji z powierzchnią pików substancji wzorcowej:

- METODA WZORCA ZEWNĘTRZNEGO
- METODA WZORCA WEWNĘTRZNEGO
 - METODA WZORCA WEWNĘTRZNEGO IZOTOPOWANEGO



Dofinansowane przez
Unię Europejską

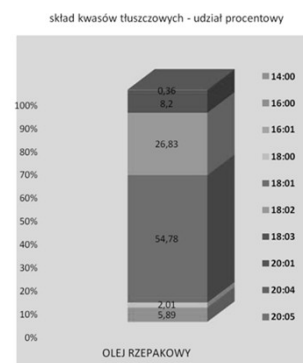


Analiza ilościowa: PROCENT POWIERZCHNI (NORMALIZACJA WEWNĘTRZNA)

Obliczenie % powierzchni pików polega na wyznaczeniu udziału powierzchni konkretnego pików w chromatogramie w stosunku do sumy powierzchni wszystkich wykrytych pików. Jest to metoda stosowana w analizie ilościowej, szczególnie przy założeniu, że wszystkie związki mają zbliżoną odpowiedź detektora.

- założenia:
 - detektor reaguje jednakowo na wszystkie związki
 - wszystkie związki eluują z kolumny
 - wszystkie związki są wykrywane
- zalety:
 - nie wymaga kalibracji
 - szybkie i łatwe obliczenia
 - nie ma znaczenia ilość nanoszonej próbki
- wady:
 - założenia – nie zawsze prawdziwe
 - określenie zawartości wszystkich związków, nie tylko tych oznaczanych
 - wszystkie powierzchnie muszą być dokładnie określone

$$POWIERZCHNIA\% = \frac{POW(pk)}{\Sigma POW(pk)} * 100\%$$



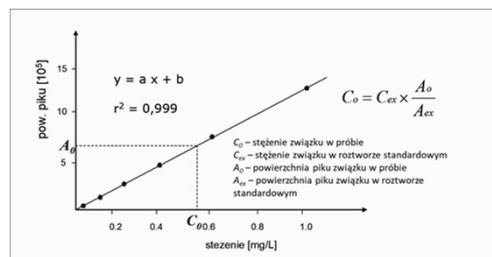
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM ZEWNĘTRZNYM (EC)

Polega na sporządzeniu wykresu kalibracyjnego wykorzystując znane stężenia pojedynczych wzorców przygotowanych najlepiej w rozpuszczalniku zastosowanym w aktualnej próbce. Pomiary należy wykonać dla co najmniej 5 stężeń w $n=3$ powtórzeniach

- Zalety:
 - przy dużej liczbie próbek jest mało czasochłonna
 - niskie koszty
- Wady:
 - ważna objętość nastrzyku
 - tylko dla próbek o nieskomplikowanej matrycy
 - wymagane częste kalibracje



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM WEWNĘTRZNYM (IS)

Metoda ze standardem wewnętrznym polega na dodaniu do każdej próbki, wzorca i próbki kontrolnej znanej ilości związku chemicznego (standardu), który nie występuje naturalnie w analizowanej próbce, ale ma podobne właściwości fizykochemiczne (np. czas retencji, odpowiedź detektora).

Zasada działania:
Związek wewnętrzny kompensuje wszelkie zmiany warunków analizy (np. zmienność objętości iniekcji, straty próbki), ponieważ podlega takim samym procesom jak analit. W analizie porównuje się stosunek powierzchni (lub wysokości) pików analitu do powierzchni pików standardu wewnętrznego.

KRYTERIA STOSOWANIA STANDARDU WEWNĘTRZNEGO:

- nieobecny w próbce
- chemicznie podobny do analizowanej substancji
- podobny zasięg stężeń jak analizowanej substancji
- niereaktywność z próbą
- eluuje w pobliżu analitu
- posiada wyizolowany czysty pik
- stabilny chromatograficznie
- dostępność



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM WEWNĘTRZNYM (IS)

Metoda ze standardem wewnętrznym polega na dodaniu do każdej próbki, wzorca i próbki kontrolnej znanej ilości związku chemicznego (standardu), który nie występuje naturalnie w analizowanej próbce, ale ma podobne właściwości fizykochemiczne (np. czas retencji, odpowiedź detektora).

Zasada działania:

Związek wewnętrzny kompensuje wszelkie zmiany warunków analizy (np. zmienność objętości iniekcji, straty próbki), ponieważ podlega takim samym procesom jak analit. W analizie porównuje się stosunek powierzchni (lub wysokości) piku analitu do powierzchni piku standardu wewnętrznego.

Wzór ogólny:

$$\text{Stężenie analitu} = \left(\frac{A_{\text{analitu}}}{A_{\text{standardu}}} \right) \times \left(\frac{C_{\text{standardu}}}{f} \right)$$

gdzie:

- A – powierzchnia piku,
- C – znane stężenie standardu,
- f – współczynnik korekcyjny (jeśli wymagany).

Zalety:

- większa precyzja i dokładność,
- kompensacja błędów losowych,
- często stosowana w chromatografii gazowej (GC) i cieczowej (HPLC).



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM WEWNĘTRZNYM (IS)

Metoda ze standardem wewnętrznym polega na dodaniu do każdej próbki, wzorca i próbki kontrolnej znanej ilości związku chemicznego (standardu), który nie występuje naturalnie w analizowanej próbce, ale ma podobne właściwości fizykochemiczne (np. czas retencji, odpowiedź detektora).

Zasada działania:

Związek wewnętrzny kompensuje wszelkie zmiany warunków analizy (np. zmienność objętości iniekcji, straty próbki), ponieważ podlega takim samym procesom jak analit. W analizie porównuje się stosunek powierzchni (lub wysokości) piku analitu do powierzchni piku standardu wewnętrznego.

Rodzaje metody IS:

- **Standard wewnętrzny** (metoda ze standardem wewnętrznym) – internal standard
- **Dodatek wzorca** (metoda dodawania wzorca) – standard addition
- **Dodatek stabilnego izotopu** (metoda dodawania stabilnego izotopu) – stable isotope standard addition, SIDA



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

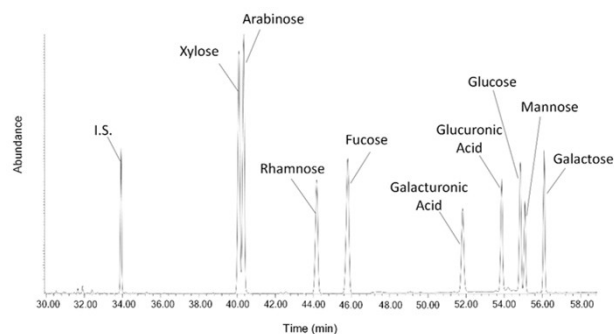


Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM WEWNĘTRZNYM (IS)

Metoda ze standardem wewnętrznym polega na dodaniu do każdej próbki, wzorca i próbki kontrolnej znanej ilości związku chemicznego (standardu), który nie występuje naturalnie w analizowanej próbce, ale ma podobne właściwości fizykochemiczne (np. czas retencji, odpowiedź detektora).

Zasada działania:

Związek wewnętrzny kompensuje wszelkie zmiany warunków analizy (np. zmienność objętości iniekcji, straty próbki), ponieważ podlega takim samym procesom jak analit. W analizie porównuje się stosunek powierzchni (lub wysokości) pików analitu do powierzchni pików standardu wewnętrznego.



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

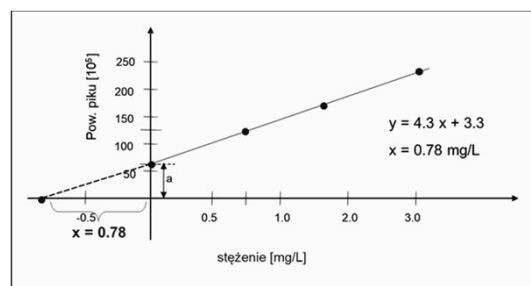
Dofinansowane przez
Unię Europejską



Analiza ilościowa: METODA ZE STANDARDEM WEWNĘTRZNYM

Dodatek wzorca (ang. *standard addition*) to metoda ilościowej analizy chemicznej, która polega na dodawaniu znanych ilości wzorca analitu bezpośrednio do próbki. Celem jest kompensacja wpływu matrycy (czyli innych składników próbki), które mogą zakłócać dokładność pomiaru

- Zalety:
 - brak wpływu matrycy
 - nieistotna wielkość nastrzyku
- Wady:
 - konieczność ustalenia potencjalnej zawartości związku w próbce
 - czasochłonna



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metoda ze standardem wewnętrznym

KRYTERIA STOSOWANIA STANDARDU WEWNĘTRZNEGO:

- nieobecny w próbce
- chemicznie podobny do analizowanej substancji
- podobny zasięg stężeń jak analizowanej substancji
- niereaktywność z próbą
- eluuje w pobliżu analitu
- posiada wyizolowany czysty pik
- stabilny chromatograficznie
- dostępność



UNIwersytet
PRzyrodniczy
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metoda ze standardem wewnętrznym izotopowo znakowanym (Stable Isotope Dilution Assay - SIDA)

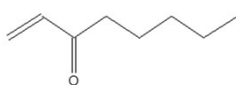
Polega na dodaniu do analizowanej próby znanej ilości związku izotopowo oznakowanego (^2H , ^{13}C , ^{15}N lub ^{18}O)

Idealny standard wewnętrzny:

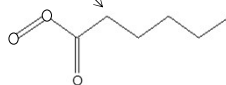
- identyczne właściwości chemiczne jak analizowany związek,
- idealnie kompensuje straty związku w czasie przygotowania próby i analizy,
- kompensuje wpływ matrycy,
- rozróżnienie IS i związku następuje poprzez wybranie protonowanych jonów molekularnych lub głównych fragmentów,

Wyniki są precyzyjne (RSD <10%) i powtarzalne jeżeli chemiczne właściwości IS są podobne do analitu,

1-okten-3-on (jon 70)



$^2\text{H}_3$ 1-okten-3-on (jon 73)



UNIwersytet
PRzyrodniczy
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego

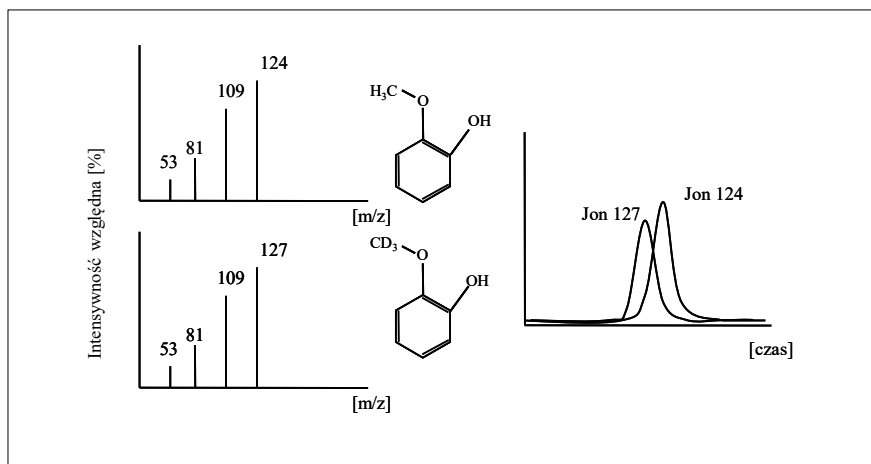


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metoda ze standardem wewnętrznym izotopowanym (Stable Isotope Dilution Assay SIDA)



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metoda ze standardem wewnętrznym izotopowanym (Stable Isotope Dilution Assay SIDA)

Procedura oznaczenia:

1. Weryfikacja obecności jonu molekularnego związku izotopowanego w analizowanej próbce
2. Określenie współczynnika odpowiedzi detektora (response factor) pomiędzy badanym związkiem a izotopowanym – analiza roztworu standardowego z dodatkiem badanego związku i jego izotopowanego wzorca 1:1

R_f – współczynnik odpowiedzi detektora

C_a – stężenie związku analizowanego w roztworze standardowym

C_s – stężenie związku izotopowanego w roztworze standardowym

A_a – powierzchnia piku wybranego jonu związku analizowanego

A_s – powierzchnia piku wybranego jonu związku izotopowanego

$$R_f = \frac{C_a \times A_s}{C_s \times A_a}$$

3. Dodatek związku izotopowanego do próby i analiza

Q – stężenie związku w próbce

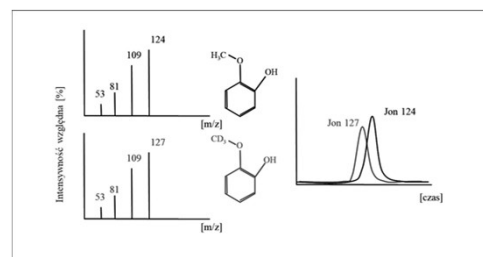
R_f – współczynnik odpowiedzi detektora

C_s – stężenie związku izotopowanego dodanego do próby

A_a – powierzchnia piku wybranego jonu analizowanego związku

A_s – powierzchnia piku wybranego jonu związku izotopowanego

$$Q = R_f \times \frac{C_s \times A_a}{A_s}$$



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego

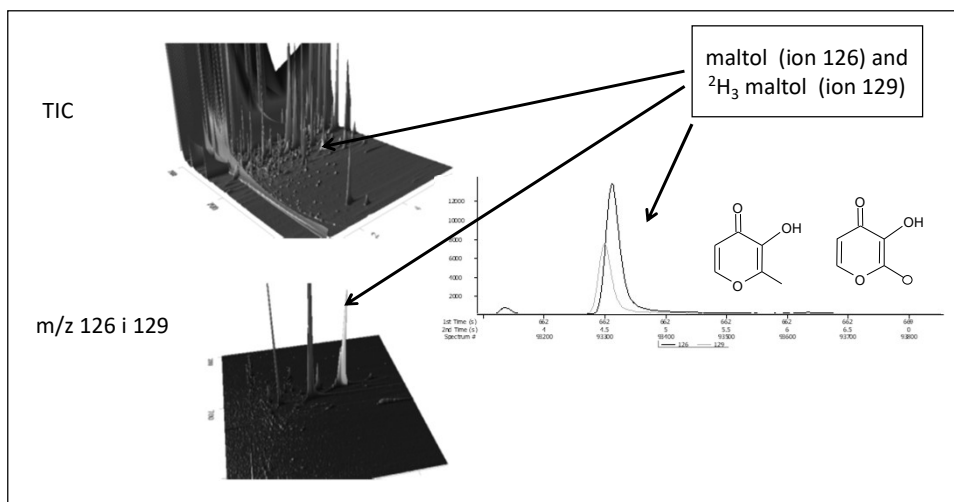


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



SIDA - maltol



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Metoda ze standardem wewnętrznym izotopowanym (Stable Isotope Dilution Assay SIDA)

Zalety:

- najbardziej precyzyjna
- szybka i prosta
- brak wpływu matrycy

Wady:

- droga
- ograniczony dostęp do standardów (zmienia się na korzyść)
- wymaga specjalistycznego sprzętu (MSD)



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Istotne parametry oceny metody ilościowej

Liniowość to zdolność metody do uzyskiwania wyników proporcjonalnych do stężenia analitu w określonym zakresie	Granica wykrywalności, limit detekcji (LOD, ang. Limit of Detection), to najmniejsze stężenie analitu, które można wykryć, ale niekoniecznie oznaczyć ilościowo z akceptowalną precyzją	Granica oznaczalności, limit oznaczalności (LOQ, ang. Limit of Quantitation), to najmniejsze stężenie analitu, które można oznaczyć ilościowo z akceptowalną precyzją i dokładnością.
---	--	--



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

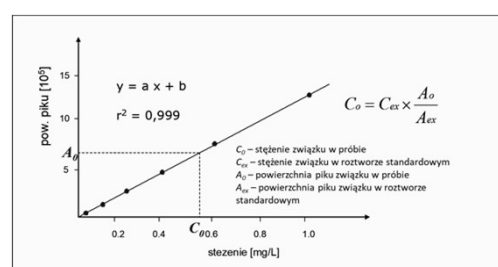


Liniowość i zakres pomiarowy

Liniowość – to przedział zawartości analitu, dla którego sygnał wyjściowy urządzenia pomiarowego jest proporcjonalny do tej zawartości

Wyznacza się na podstawie wykresu kalibracyjnego urządzenia pomiarowego

Zakres pomiarowy – przedział między najniższym a najwyższym stężeniem jakie mogą zostać oznaczone za pomocą danej metody



- 6 poziomów stężeń roztworów wzorcowych, 3 powtórzenia,
- zakres pokrywający stężenie analitu w **próbce ($\pm 50-150\%$)**,
- wyznaczenie parametrów regresyjnych (np. $y=ax+b$, współczynnik kierunkowy prostej b , współczynnik regresji r^2 itp.)



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego

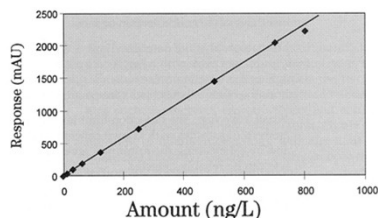


Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

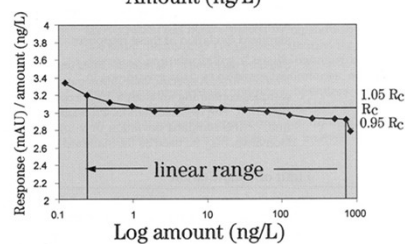


Liniowość, zakres pomiarowy i czułość



Wykres graficzny liniowości kafeiny

A – zależność ilości od powierzchni – krzywa liniowa



B – przedstawienie stężenia na skali logarytmicznej ma szczególne zastosowanie przy szerokim zakresie stężeń



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



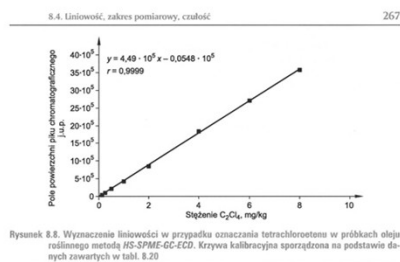
Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Określenie liniowości - przykład

- Tetrachloroeten w oleju roślinnym
- Zakres stężeń 0,00049-8 mg/kg



Tablica 8.22. Wyznaczone równania krzywych kalibracyjnych dla poszczególnych zakresów stężeń tetrachloroetenu [8.18]

Zakres stężeń, mg/kg	Równanie krzywej kalibracyjnej
0,00049-0,00195	$y = 583972x + 39$
0,00195-0,00781	$y = 352987x + 468$
0,00781-0,03125	$y = 410514x + 98$
0,03125-0,25	$y = 380560x + 675$
0,25-8	$y = 451215x - 17316$

Tablica 8.21. Porównania wyjściowych wartości stężeń tetrachloroetenu w próbkach roztworów wzorcowych z wartościami obliczonymi na podstawie krzywej kalibracyjnej

Stężenie C_2Cl_4 , mg/kg		
w stosowanych roztworach wzorcowych μ_x	obliczone na podstawie krzywej kalibracyjnej x_i	$ c $ %, %
8	7,95	0,58
6	6,03	0,44
4	4,11	2,7
2	1,92	3,8
1	0,961	3,9
0,5	0,473	5,4
0,25	0,225	10,0
0,125	0,122	2,1
0,0625	0,0640	2,4
0,0312	0,0409	31
0,0156	0,0269	72
0,00781	0,0194	149
0,00391	0,0162	316
0,00195	0,0148	660
0,00098	0,0136	1290
0,00049	0,0129	2550

* Wartości błędów względnego obliczono, korzystając z zależności (8.2), gdzie: μ_x – stężenie C_2Cl_4 w roztworze wzorcowym, x_i – stężenie C_2Cl_4 obliczone na podstawie krzywej kalibracyjnej.



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



Liniowość c.d.

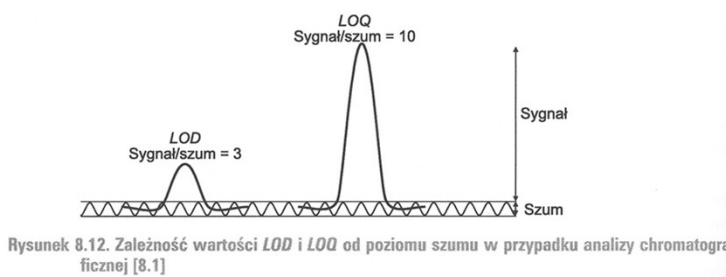
- Roztwory wzorcowe, na podstawie których wyznaczana jest krzywa kalibracyjna, powinny:
 - Obejmować swym zakresem stężeń oczekiwane stężenie analitu w próbce badanej
 - Obejmować swym zakresem stężeń nie więcej niż 3 rzędy wielkości stężeń analitu
 - Równomiernie pokrywać cały zakres stężeń

Granica wykrywalności (LOD) i granica oznaczalności (LOQ)

- LOD (limit of detection) – najmniejsza ilość lub najmniejsze stężenie substancji możliwe do wykrycia
- LOQ (limit of quantitation) – najmniejsza ilość lub najmniejsze stężenie substancji możliwe do ilościowego oznaczenia

274 8. Walidacja procedur analitycznych

Na podstawie SN
 $LOD = 3 \times SN$
 określenie SN dla próbki ślepej,
 lub dla próbki o bardzo niskiej
 zawartości analitu



literatura

- Piotr Konieczka i Jacek Namieśnik. Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych. Wydawnictwo naukowo-techniczne, Warszawa 2007.
- Ludwig Huber. Validation of analytical methods. Interpharm/CRC, Washington 1999.



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską



DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ!

Materiał powstał w ramach projektu „Najlepsi z natury! Podnoszenie kompetencji osób dorosłych przez UPP”, współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Plus, w ramach programu Fundusze Europejskie dla Rozwoju Społecznego 2021-2027, na podstawie umowy nr FERS.01.05-IP.08-0469/23



UNIWERSYTET
PRZYRODNICZY
W POZNANIU



Fundusze Europejskie
dla Rozwoju Społecznego



Rzeczpospolita
Polska

Dofinansowane przez
Unię Europejską

