

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar



Diplomamunka

Czilli Orsolya

2024

Miskolci Egyetem

Anyag- és Vegyészmérnöki Kar

Kémiai Intézet

**GC-FID módszer fejlesztése és validálása
nitrobenzol hidrogénezés követésére**

Diplomamunka

Készítette: Czilli Orsolya

Konzulens: Dr. Muránszky Gábor

2024.

Igazolás

Alulírott Czilli Orsolya (Neptun kód: AUDLGF, született: Sátoraljaújhely, 2000.10.28) igazolom, és büntetőjogi felelősségem tudatában kijelentem, hogy a leadott szakdolgozat a saját munkám.

Miskolc,

.....

Czilli Orsolya, hallgató

Az igazolást átvettem.

Miskolc,

Dr. Viskolcz Béla, intézetigazgató

A szerzői jogok részleges átadásáról szóló nyilatkozat

Alulírott Czilli Orsolya (Neptun kód: AUDLGF, született: Sátorlajújhely, 2000,10.28.) ezúton nyilatkozom, hogy a dolgozatom nem tartalmaz tudományos etikát, valamint vállalatok és intézmények érdekeit sértő bizalmas információkat. Dolgozatom az Egyetemi Könyvtár részére mind elektronikus, mind nyomtatott formában átadható és annak tartalma a Szerző nevének és Dolgozat címének feltüntetésével nyilvános helyre feltölthető.

Miskolc,

.....

Czilli Orsolya

hallgató

Az igazolást átvettem:

Miskolc,

Prof. Dr. Viskolcz Béla

intézetigazgató



MISKOLCI
EGYETEM

ANYAG- ÉS VEGYÉSZMÉRNÖKI KAR
KÉMIAI INTÉZET

Diplomamunka feladatkiírás

Czilli Orsolya Vegyészmérnök MSc nappali tagozatos hallgató részére

Dolgozat címe:

GC-FID módszer fejlesztése és validálása nitrobenzol hidrogénezés követésére

Elvégzendő feladatok:

- Mutassa be a 2,4-DNT gyártás technológiáját, a gázkromatográf és a lángionizációs detektor működési elvét, állítson össze a dolgozat témájához kapcsolódó szakirodalmi összefoglalót
- Ismertesse a validási folyamat menetét és a vizsgált teljesítmény jellemzőket.
- Foglalja össze a mérési eredményeit, mutassa be a nitrobenzol hidrogénezésre kidolgozott analitikai módszert
- Ismertesse a módszer validálás eredményeit

A Diplomamunka leadási határideje: 2024. december 2.

A Diploma terjedelme: minimum 50, maximum 60 A/4 oldal.

Belső konzulens: Dr. Muránszky Gábor, egyetemi docens

Miskolc, 2024. április 22.




Prof. Dr. Viskolcz Béla
intézetigazgató

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni konzulensemnek, a Miskolci Egyetem Anyag-és Vegyészmérnöki Kar Kémiai Intézetben oktató egyetemi docensének, Dr. Muránszky Gábornak, a diplomamunkám során nyújtott segítséget, támogatást, figyelmet és időt. Köszönettel tartozom még kollégámnak, aki szintén a Kémiai Intézetben dolgozik MSc-s hallgatóként, aki egyben a csoporttársam is, Szegedi Máté Péternek, a reprodukálhatósági vizsgálat során nyújtott segítségért és támogatásért. Nem utolsó sorban szeretném megköszönni Dr. Viskolcz Béla intézetigazgatónak a lehetőséget arra, hogy a Kémiai Intézetben végezhettem el a diplomamunkámhoz szükséges méréseket. Végül szeretnék köszönetet mondani az Intézet összes dolgozóinak, akik mindig nagy figyelemmel, segítőkészséggel álltak felém munkám során.

Tartalom

Absztrakt	4
1. Bevezetés	1
2. Irodalmi áttekintés	3
3. A lángionizációs detektorral szerelt gázkromatográf	9
4. Validálás	15
4.1 Linearitás vizsgálat	16
4.2 Precizitás vizsgálat.....	16
4.3 Ismételhetőség vizsgálat	17
4.4 Reprodukálhatóság vizsgálat	17
4.5 Pontosság vizsgálat	17
4.6 Kimutatási határ vizsgálat.....	17
4.7 Meghatározási határ vizsgálat.....	18
4.8 Robusztusság vizsgálat	18
4.9 Rendszeralkalmasság vizsgálat.....	19
5. Módszerátírás.....	20
6. Kísérleti rész	23
6.1 Kromatográfiás körülmények	23
6.2 Kalibrálás és linearitás vizsgálat.....	24
6.3 Ismételhetőség vizsgálat	26
6.4 Reprodukálhatóság vizsgálat	26
6.5 Robusztusság vizsgálat	27
6.5.1 Áramlási sebesség változtatása	28
6.5.2 Detektor hőmérsékletének változtatása.....	28
6.5.3 Injektor hőmérsékletének változtatása	29
7. Eredmények	30
7.1 Kalibrálás és linearitás vizsgálat.....	30
7.2 Ismételhetőség vizsgálat	33
7.3 Reprodukálhatóság vizsgálat	37
7.4 Robusztusság vizsgálat	40
7.4.1 Detektor hőmérsékletének változtatása.....	41
7.4.2 Injektor hőmérsékletének változtatása	42

7.4.3 Áramlási sebesség változtatása	43
7.5 Szimmetria faktorok.....	45
7.5.1 Ismételhőtség vizsgálat során kapott szimmetria faktor	45
7.5.2 Reprodukálhatóság vizsgálat során kapott szimmetria faktor	46
7.5.3 Áramlási sebesség változtatásával kapott szimmetria faktor.....	46
7.5.4 Detektor hőmérséklet változtatásával kapott szimmetria faktor	48
7.5.5 Injektálási hőmérséklet változtatásával kapott szimmetria faktor	49
8. Összefoglalás	50
9. Hivatkozások.....	52

Rövidítésjegyzék

2,4-TDA: 2,4-diamintoluol

4M2NA: 4-metil-2-nitroanilin

2,4-DNT: 2,4-dinitrotoluol

2,6-DNT: 2-,6-dinitrotoluol

4M3NA: 4-metil-3-nitroanilin

2M5NA: 2-metil-5-nitroanilin

2M3NA: 2-metil-3-nitroanilin

MDI: Metil-difenil-diizocianát

TDI: toluol-diizocianát

DNAT: 2,2'-dinitro-4,4'-azoxitoluol

4HA2NT: 4-hidroxilamon,2-nitrotoluol

2A4NT: 2-amino-4-nitrotoluol

4A2NT: 4-amino,2-nitrotoluol

MeOH: Metanol

GC: gázkromatográf

HPLC: folyadékkromatográf

FID: lángionizációs detektor

GC-MS: gázkromatográfia-tömegspektrometria

80/20 DNT: 80%-ban 2,4-DNT-ből, 20%-ban 2,6-DNT-ből készül

rpm: percenkénti fordulatszám

TCD: hővezető-képesség érzékelő detektor

NPD: nitrogén-foszfor detektor

ECD: elektronbefogó detektor

FPD: lángfotometriás detektor

XCD: kemilumineszcens detektor

MSD: tömegszelektív detektor

LOD: kimutatási határ

LOQ: meghatározási határ

Absztrakt

A diplomamunkám fő célja a 2,4-dinitrotoluol (2,4-DNT) hidrogénezésének követésére használt jelenlegi GC-MS (tömegspektrometriás gázkromatográfia) módszer átírása GC-FID (lángionizációs detektorral szerelt gázkromatográf) rendszerre és ezen felül az új módszer validálása is terveim között szerepelt. A módszerátíráson belül módszerfejlesztést hajtottam végre, melynek során különböző beállítási paramétereket változtattam a megfelelő eredmény eléréséig. Ilyen például a kolonna hőmérséklet, detektor hőmérséklet, injektor hőmérséklet, injektálási térfogat és a futási idő. Ezeket szakirodalmi adatokkal, ezen belül is publikációkkal, szabadalmakkal, kutatásokkal, órai tananyaggal, valamint a GC-MS-ről átvitt beállításokkal támasztottam alá. Első lépésben egy kalibrációs sort (0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l) készítettem és azon kísérleteztem, amint ez megfelelő eredményeket produkált, validálási vizsgálatokat készítettem. Ezen belül linearitás-, ismételhetőség-, reprodukálhatóság-, robusztusság-, rendszeralkalmasság-vizsgálatokat folytattam. Mindegyik vizsgálatnál 3 koncentrációban (0,5; 5 és 50 mmol/l) 5-5 db mérést végeztem azért, hogy bizonyítsam a módszer alkalmasságát a FID rendszeren. A választott koncentrációk a kalibrációs oldatsoron belül a legalacsonyabb, a középső, valamint a legmagasabb koncentrációjú oldatok voltak. Az összes validálási protokollnál sikerült megfelelő eredményt elérnem, így a diplomamunkám befejeztével elmondhatom, hogy a 2,4-dinitrotoluol módszerét sikeresen átírtam GC-MS-ről, GC-FID rendszerre, valamint a validálási vizsgálatok is sikeresen zárultak.

1. Bevezetés

A halványsárga színű, kristályos, szilárd 2,4-dinitrotoluol (2,4-DNT) egy széles körben használt szerves vegyület, melyet színezékek, pigmentek, gyógyszerek, festékek, robbanóanyagok, valamint műbőr előállításához egyaránt alkalmaznak. Rákkeltő, mutagén tulajdonságokkal rendelkezik, ezáltal az Egyesült Államok Környezetvédelmi Ügynöksége elsőbbségi szennyező anyagnak minősítette. A DNT hosszú tartózkodási idővel rendelkezik a vízben, így amennyiben a megfelelő lebontás előtt bekerül a talajvízbe, káros hatással van a vízi környezetre és az emberi egészségre, akár teljesen elszennyezheti a környezetet. A 2,4-dinitrotoluol (2,4-DNT, IUPAC név: 1-metil-2,4-dinitrobenzol, CAS-szám: 121-14-2, összegképlet: $C_7H_6N_2O_4$, moláris tömeg: 182,13 g/mol) a dinitrotoluolok közé tartozó fő alkotó, a 2,4,6-trinitrotoluol (TNT) ipari szintézise során keletkezik, így a trinitrotoluol, vagyis a TNT prekursoraként ismert, de főleg toluol-diizocianát prekursoraként állítják elő. A trinitrotoluol egy nagyon széles körben használt robbanóanyag, melyet színezékek, festékek előállítása mellett a katonai szektorban is előszeretettel használtak. [1-4]

Diplomamunkámat a 2,4-DNT szakirodalmi kutatása után a módszerátírással folytattam a GC-tömegspektrometriás készülékről a GC-lángionizációs detektorral rendelkező készülékre. Vizsgálataimat a Miskolci Egyetem Kémiai Intézetében végeztem a kromatográfiás laborban a GC-FID gázkromatográfon (Agilent 8890) Dr. Muránszky Gábor egyetemi docens felügyelete mellett. Első lépésben kalibráló oldatokat készítettem a 2,4-TDA, 4M2NA, 2M3NA, 2,4-DNT, 4M3NA, 2M5NA alkotókból 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l-es koncentrációkban (Ez megfelelt a linearitás vizsgálatnak is). Ezt úgy készítettem el, hogy egy 20 ml-es lombikba mértem be a komponenseket annak megfelelően, hogy $0,05 \text{ mol/dm}^3$ -es oldatot kapjak, majd ezt hígítottam tovább a különböző koncentrációk eléréséhez. A szakirodalom tanulmányozása után készítettem egy módszert és futtattam egy kalibrációt a kromatográfon a GC-MS-ről átvett nagyjából azonos beállítási paraméterekkel. A módszer beállításait addig változtattam, amíg egy $R^2=0,99$ feletti korrelációs koefficiens nem kaptam az analitikai függvény tekintetében. Azt követően, hogy ez sikerült, elkezdtem a validálási vizsgálatokat, mely rendszerezett vizsgálatok segítségével alátámasztja, hogy a módszer teljesítményjellemzői megfelelnek-e az analitikai módszer által előírt követelményeknek. Ezen belül linearitást, ismételhetőséget, robusztusságot,

rendszeralkalmasságot és reprodukálhatóságot mértem. A kalibráción belül hat féle koncentrációban készítettem oldatokat, hogy a terület függvényében egy lineáris görbét kapjak minden komponens esetében. Az ismételhetőség során három koncentrációban (0,5; 5; 50 mmol/l) 5-5-5 db mérést végeztem, hogy megvizsgáljam a közel azonos időpontban, egymás után felszúrt mérések eredményeinek hasonlóságát. A célom az volt, hogy a mérések során kapott koncentráció közel legyen az elméleti koncentrációhoz, valamint az egymás után felszúrt mérések koncentrációi is szintén jól viszonyuljanak egymáshoz. A reprodukálhatóság volt a következő vizsgálat, melynek során egy csoporttársammal összedolgozva készítettünk el külön-külön 3-3 koncentrációban 5-5-5 db mérést, melyeket a kiértékelés után összehasonlítottam. Itt a célom az volt, hogy minél közelebb legyenek az eredményeink, ezzel kiküszöbölve az emberi hibából adódó pontatlanságot, valamint bizonyítani azt, hogy több ember is képes a mérésre. Természetesen ezt a vizsgálatot más eszközzel, más laborban is el lehetett volna végezni. A robusztussági vizsgálat során változtattam az áramlási sebességet (1,5 ml/percről 1,3 ml/percre és 1,7 ml/percre), a detektor hőmérsékletet (360°C-ról 350°C és 370°C-ra), az injektor hőmérsékletét (280°C-ról 270°C és 290°C-ra) és a változtatott beállításokkal végeztem el szintén három koncentrációban 5-5-5 db mérést. Az áramlási sebesség változtatásánál először új kalibrációt kellett készítenem, ugyanis az áramlási sebesség változtatásával a komponens csúcsok más időpillanatban jelentek meg, így ezek retenciósideje eltér a kiindulási módszerben tapasztaltaktól. A robusztusság vizsgálat során a célom szintén az volt, hogy minimális változtatásokkal is megfelelően működjön a rendszer. Nem utolsó sorban pedig rendszeralkalmassági vizsgálatot is végeztem, ahol a szimmetria faktort elemeztem, melynek 0,75 és 1,6 között kell lennie az előírások szerint. [1-4] [38]

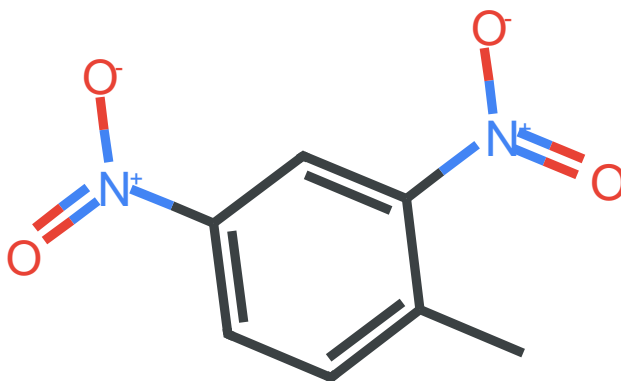
2. Irodalmi áttekintés

A diplomamunkámban felhasznált szerves vegyület a 2,4-DNT halványsárga színű, kristályos szilárd, széles körben használt szerves vegyület, a nitrobenzol vegyületek családjába tartozik, melyet színezékek, pigmentek, műanyagok, gyógyszerek, festékek, robbanóanyagok, vagy műbőr előállításához egyaránt alkalmaznak, valamint rákkeltő, mutagén tulajdonságokkal is rendelkezik. A DNT hosszú tartózkodási idővel rendelkezik a vízben, így amennyiben a megfelelő lebontás előtt bekerül a talajvízbe, káros hatással van a vízi környezetre és az emberi egészségre, akár teljesen elszennyezheti az egész környezetet. A 2,4-dinitrotolul (2,4-DNT, IUPAC név: 1-metil-2,4-dinitrobenzol, CAS-szám: 121-14-2, összegképlet: $C_7H_6N_2O_4$, moláris tömeg: 182,13 g/mol) a dinitrotoluolok közé tartozó fő alkotó, a 2,4,6-trinitrotoluol (TNT) ipari szintézise során is keletkezik. A trinitrotoluol egy nagyon széles körben használt robbanóanyag, melyet a színezékek, festékek előállítása mellett a katonai szektorban is előszeretettel használtak. A 2,4-DNT katalitikus hidrogénezése egy nagyon fontos, az egyik leggyakrabban alkalmazott eljárás a vegyiparban nagy mennyiségű toluiléndiamin (TDA) előállítása során. A folyékony kiindulási anyagok hidrogénezését a vegyiparban legfőképp szuszpendált katalizátor jelenlétében, vagy szilárd-ágyon hajtják végre. A hidrogénező reakció egy nagyon gyors és exoterm folyamat, amit általában kevert tartályreaktorban, csőköteges reaktorban, autoklávokban vagy reaktorkaszádokban végeznek. Katalizátorként főleg alumíniumot és nikkelt (Raney-nikkelt) használnak ezekben az eljárásokban, ami adott esetben adalékolva lehet különböző fémekkel, pl. vassal vagy krómmal. A hidrogénezési eljárásban általában olyan hidrogént alkalmaznak, melynek tisztasága 99,99% térfogatszázaléknál nagyobb, így a lehető legkisebb mennyiségű inert gáz kerül a hidrogénező reaktorba. [1-4] [25-26]

A 2,4 DNT-t sokféleképpen elő lehet állítani, ebből mégis kizseretnék egyet emelni. A dinitrotoluol egy heterogén, erősen exoterm reakció során jön létre, a toluol vegyes savban történő kétlépcsős nitrálásának végtermékeként. Jelenleg a 80/20 DNT előállítása egy üst típusú kétlépcsős nitrálási eljárás alkalmazásával valósul meg, de ez hosszú reakcióidőt, a reakció során felszabaduló nagy hőmennyiség okozta biztonsági problémákat, alacsony folyamatbiztonságot és gyenge termékszelektivitást tesz csak lehetővé. Ehhez képest egy másik, új eljárás szerint mikroreaktorban végzik ezt a reakciót, melynek előnye a nagy tömegátadási együttható, a jobb reakciósebesség és

a rövidebb reakcióidő. A reakciófolyamat tömeg- és hőátadási-képességei a mikroreaktor hatékonyságának és véges térhatásának felhasználásával javíthatók, ennek köszönhetően javul a termékszelektivitás és a folyamat biztonsága. Mindemellett a mikroreaktor kevesebb anyag mellett, biztonságosan és jól szabályozható formában valósul meg, valamint nagyobb fajlagos felülettel, nagyobb hőcsere hatékonysággal, orientációval, elrendezéssel, a reaktáns molekulára gyakorolt korlátozó hatással rendelkezik, és javítja a termék szelektivitását. Egy kínai szabadalom szerint egy olyan rendszert biztosítanak a 80/20 DNT folyamatos előállítására, ami toluol segítségével egy mikroreaktoron keresztül történik. Kétlépcsős eljárásból áll, ahol az első egy mikroreaktort tartalmaz, ami nem más, mint egy mikrohőcserélővel ellátott többcsatornás mikrokeverő reaktor. A második lépcső pedig hőcserélő berendezést és töltőanyagot (háromszög alakú spirális rozsdamentes acélt) is tartalmaz. A két reaktor hőmérsékletét a hőcserélő berendezés (hűtőközeg-keringető) szabályozza, valamint ezeket egymás után sorba kapcsolják egy szekvenciális gyűjtőedénnyel. Ez a hőcserélő egy lamellás hőcserélő, ahol a csatorna szélessége 1-2 mm nagyságú, hidraulikus átmérője pedig nem több, mint 0,1-3 mm. Első lépésként elkészítik a vegyes savoldatot. A második lépésben a toluol és a kevert sav (salétromsav és kénsav) 75°C-on egy többcsatornás- és egy csőreaktorban reagál egymással, a felszabaduló hőt a reaktoron keresztül hőcserével eltávolítják, az anyagokat összekeverik, majd a gyűjtőedénybe folyik a reakciófolyadék, vízzel és lúggal mossák, végül kinyerik a dinitrotoluol terméket. Fontos megemlíteni, hogy a dinitrotoluol a vegyiparban a poliuretán egyik nagyon fontos nyersanyaga, ahol elsősorban toluol-diizocianát előállítására használják. Az izocianátok az izociánsav különböző észtereinek gyűjtőneve, melyeket alifás és aromás izocianátokra lehet bontani, közülük az aromások felhasználási mennyisége jelenleg a legnagyobb. Ilyen például a vegyiparban az MDI (metil-difenil-diizocianát) és a TDI (toluol-diizocianát). Két nitrocsoport található a dinitrotoluol szerkezetében, melyek a benzolgyűrűn eltérő helyzetben állnak, ennek köszönhetően háromféle TDI állítható elő. A legkiemelkedőbb a piacon az a DNT, ami 80%-ban 2,4-DNT-ből, valamint 20%-ban 2,6-DNT-ből készül, amit az iparban 80/20 DNT néven ismernek. A kidolgozott reakcióban a résztvevő kiindulási molekulák meghatározott orientációval és elrendezéssel rendelkeznek, de a mikroreaktor jelentős mértékben korlátozza a reaktánsok és a reakció közbeni termékeinek mozgását, így az orientáció, elrendezés és a korlátozó hatás meghatározza majd a reakció irányát és sebességét. A toluol és a mononitrotoluol (MNT) konverziós aránya több mint 99,9%, a dinitrotoluol hozama több mint 99%, ahol a 2,4-DNT és a 2,6-DNT százalékos aránya

több mint 96% és a 2,4-DNT/2,6-DNT teljesen megfelel a vállalkozások 80/20 termékszabványainak. Előnyei közé tartozik a magas nyersanyagátalakítási-arány, magas termékhozam, stabil folyamat, optimalizálás, nagy tömegátadási együttható, javított reakciósebesség, rövidebb reakcióidő, rövidebb tartózkodási idő, kevesebb mellékreakció, jobb reakció szelektivitás, nagyobb biztonság, nagy fajlagos felület, valamint a nagy hőcsere hatékonyság. Az első ábra a 2,4-DNT szerkezetét mutatja be. [1-5]

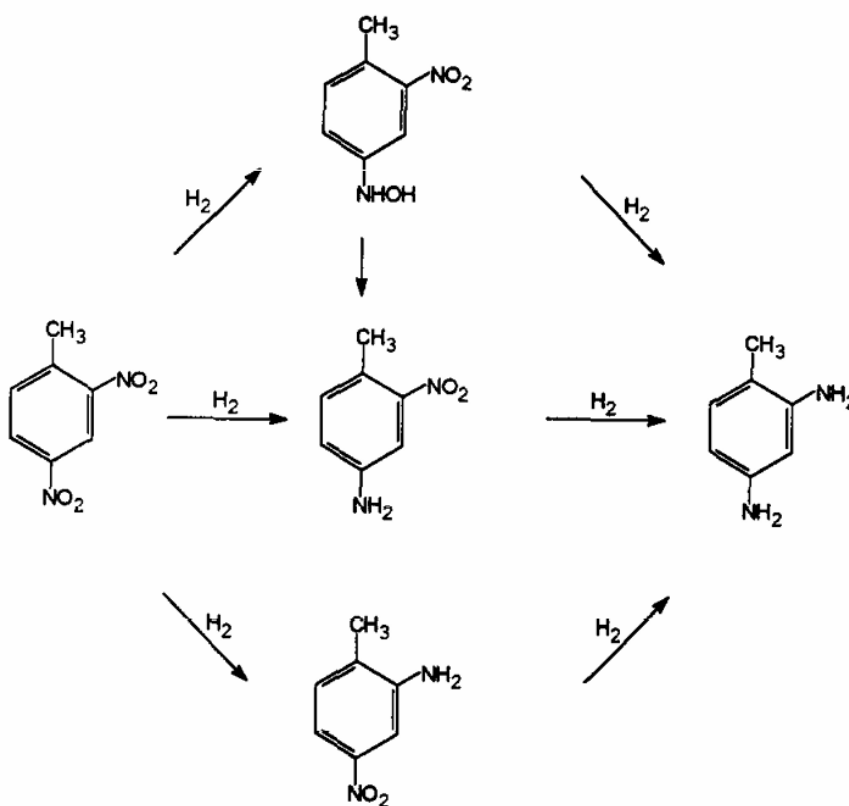


1. ábra: 2,4-dinitrotoluol szerkezete [28]

A DNT hidrogénezése összetett reakciómechanizmussal jellemezhető, amely részleges hidrogénezést és kondenzációs vegyületeket is magában foglal. G. Neri, M.G. Musolino, C. Milone, A.M. Visco, és A. Di Mario szakirodalmukban leírták a 2,4-DNT katalitikus hidrogénezését 5%-os Pd/C katalizátort alkalmazva. Fő cél a köztitermékek azonosítása, ami a 4HA2NT (4-hidroxilamin,2-nitrotoluol), és még két másik fontos intermedier a 4A2NT (4-amino,2-nitrotoluol) és a 2A4NT (2-amino,4-nitrotoluol). Ezen folyamatot a 2,4-toluol-diamin előállítására használják a vegyiparban, amely a poliuretán előállításához használt toluoldiizocianát képződésének köztes terméke. A reakcióköztitermékek kimutatását tanulmányozták ebben a cikkben, melynek során a gázkromatográf használata nehézségekbe ütközött, ugyanis néhány

közttermék bomlik a gázkromatográfban (pl.4HA2NT), mivel az injektorban magas hőmérsékletet alkalmaznak a magas forráspontú vegyületek elpárologtatásához. Így sajnos több köztterméket nem tudnak azonosítani gázkromatográffal, más megoldásra is szükség van. G. Neri és társai rájöttek arra, hogy a kimutatáshoz és az elemzés rövid időn belüli elvégzéséhez, a gázkromatográfia (GC) és a folyadékkromatográfia (HPLC) kombinációjára is szükség lehet. A reakciót egy 100 ml-es ötnyakú lombikban végzik, melyhez egy visszafolyó hűtő és egy termoelem is tartozik, ahol az állandó hőmérsékletet szilikonolaj keringetésével tartják fenn. A katalizátort 25 ml etanolhoz adják és 323 Kelvinen 1 órán keresztül hidrogén áram mellett redukálják, majd a lombik egyik ágán hozzáadják a 25 ml 0,1 mólos DNT-t (97%-os tisztaság), ami hexadekánt tartalmaz belső standardként. A reakcióelegyet 500 rpm (percenkénti fordulatszám) sebességgel kevertetik, atmoszférikus nyomáson, hidrogén áramlás mellett. A reakció előrehaladását a reakcióelegyből vett minta elemzésével követik egy lángionizációs detektorral felszerelt gázkromatográffal, melyet én is használtam a diplomamunkám során. A kvantitatív elemzést a kromatográfiás csúcsok területének elektronikus integrátorral történő kiszámításával végzik. A reakcióminták további elemzését pedig UV detektorral felszerelt folyadékkromatográffal végzik, acetonitril-víz eluens felhasználásával fordított fázisú oszlopon. A hidrogénezés során a GC 5 fő csúcsot észlel, 2,4-diamintoluol (TDA), 2,4- dinitrotoluol (DNT), 4-amino,2-nitrotoluol (4A2NT), 2-amino-4-nitrotoluol (2A4NT) és a 6,3 perces retenciós idejű csúcsot, amit a 4-hidroxilamon,2-nitrotoluol (4HA2NT) GC készülékben történő lebomlásának tulajdonították. A hexadekánnal történő mennyiségi elemzés negatív tömegegyenletet mutatott, ami a GC lángionizációs detektor által nem kimutatható termékeknek köszönhető, mivel a kromatográfiás oszlop erősen visszatartotta őket. A 4HA2NT lebomlik a GC injektorban, melynek során 4A2NT és egy azonosíthatatlan csúcs keletkezik, ami megfelel a 6,3 perces csúcsnak. A tudományos munkában leírják, hogy hasonló körülmények között a nitrobenzol hidrogénezése során keletkező hidroxilaminobenzol a GC-ben nitrobenzolra és anilinre bomlik. Ebből arra lehet következtetni, hogy ebben a tanulmányban is lehet az azonosíthatatlan csúcs egy nitrozo vegyület. A mennyiségi elemzésből az is kiderül, hogy több valószínűleg nagy molekulatermékekről is szó lehet, pl. 2,2'-dinitro-4,4'-azoxitoluol (DNAT) is képződhet. A 4HA2NT bomlása során keletkező 4A2NT problémákat okoz a reakciótermékek kvantitatív meghatározásában, és az analitikai eredmények korrekciója szükséges a valós 4A2NT-koncentráció meghatározásához. Több mint 10 óra elteltével az azonosíthatatlan 6,3 perces retenciós idővel rendelkező csúcs eltűnt. A DNT, TDA és

2A4NT mennyisége változatlan maradt, a 4A2NT/2A4NT arány csökkent. Ez azért lehetséges, mert a 4HA2NT nagy molekulatömegű vegyületekké alakul át, amelyek nem mutathatók ki ilyen analitikai körülmények között. Több információ megszerzése céljából HPLC-vel történő elemzést is végeztek a szakirodalom szerint. A GC-vel azonosított paramétereken kívül még 2 további komponenst is azonosítottak, a 4HA2NT, a másik 2 csúcs pedig a DNAT cisz-transz izomerek. Ha a mintát azonnal befecskendezik a HPLC-be, a DNAT mennyisége nagyon kicsi lesz, 1% alatti. Levegővel való érintkezés után a 4HA2NT koncentrációja csökken, DNAT csúcsai növekednek, a 4HA2NT lebomlása miatt.



2. ábra: Reakcióút a DNT TDA-vá történő hidrogénezésére [27]

Következtetések: A 2,4-DNT 2,4-TDA-vá történő hidrogénezése egy összetett reakciómechanizmus, melyben csak három releváns intermedier, a 4HA2NT, 4A2NT és a 2A4NT vesz részt.

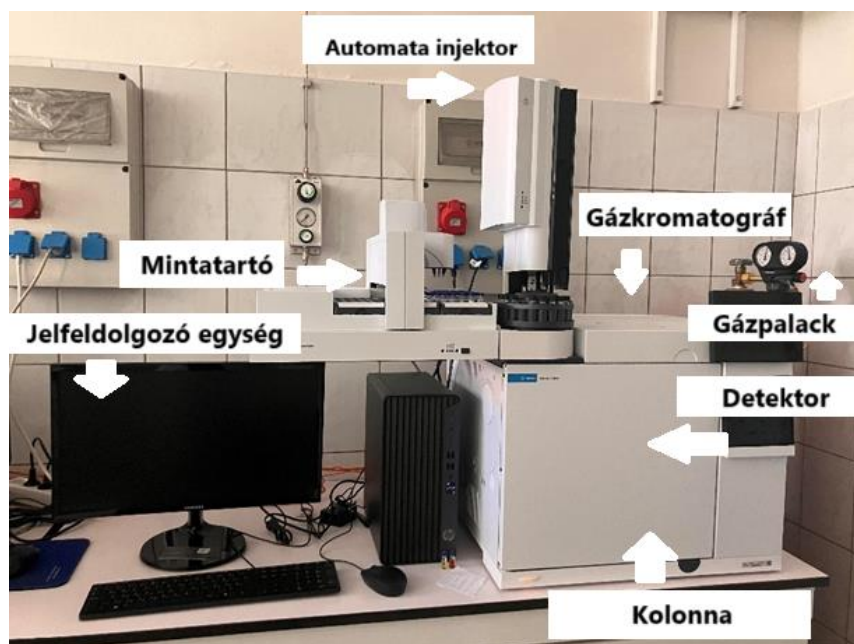
A reakció során nem keletkeznek kondenzációs termékek. Ehelyett a hidroxilamin bomlása során a GC készülékben és a reakciómintákban levegőn való reagálás után a DNAT azoxivegyületet találták.

A 4HA2NT bomlása a gázkromatográfban problémákat okoz a reakciótermékek mennyiségi elemzésében. Az eljárást, amelyet a 4HA2NT zavarása nélküli GC-analízis elvégzésére fejlesztettek ki, tesztelték és HPLC-vel végzett elemzéssel igazolták.

A kapott eredmények alapján a 2. ábrán keresztül bemutatott reakcióút javasolt a DNT TDA-vá történő hidrogénezésére. [27]

3. A lángionizációs detektorral szerelt gázkromatográf

Diplomamunkámban a 3. ábrán feltüntetett lángionizációs detektorral rendelkező gázkromatográfot (Agilent 8890) használtam a módszerátírás és validálási méréseim során.



3. ábra: Lángionizációs detektorral szerelt gázkromatográf [saját ábra]

A kromatográfia a nagyhatékonyságú, dinamikus elválasztási módszerek gyűjtőneveként ismert a szakirodalomban. A gázkromatográfiát nagyon széles körben alkalmazzák a vegyiparban, célja a többkomponensű termikusan stabil, illékony, szerves és szervetlen vegyületek, gáz, gőz vagy folyadékelegyek összetevőinek megfelelő módon történő elválasztása. Másképpen egy ismeretlen vegyület vagy elegy összetételének meghatározására szolgáló mérési módszer. Az elválasztásban jelenlévő fázisokból egyik a mozgófázis, vagy másnéven mobilfázis (vivőgáz), ami mozgásban van, a másik pedig az állófázis, ami helyhez kötött (szilárd vagy folyadék halmazállapotú), természetesen ez a fázis nem mozog. Fontos, hogy csak olyan vegyületek esetében alkalmazható, melyek bomlás nélkül elpárologtathatóak, ugyanis, ha mégis bomlik az adott anyag, a kapott eredmények nem fogják tükrözni a vizsgált anyag valódi összetételét. Alkalmas gyógyszerek összetételének, kozmetikumok adalékanyagainak, kábítószernek, vegyi anyagok, valamint szénhidrogének és származékainak meghatározására. A gázkromatográf használata során első

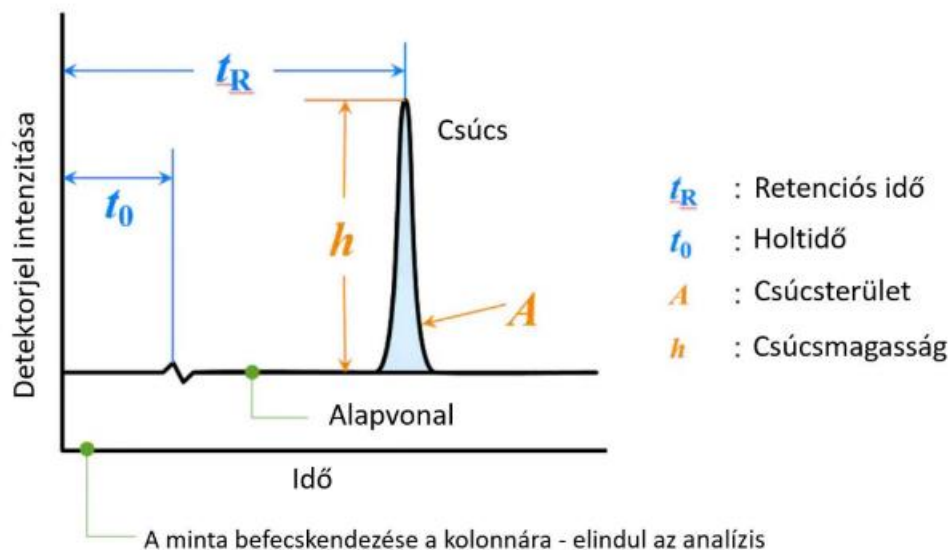
lépésként fel kell oldani a mintát egy olyan oldószerben, ami biztosan nem ér át egyszerre a kolonnán a minta egyetlen fontos komponensével sem, majd el kell készíteni fiolákba a mintákat és bejuttatni az injektorba. amely történhet automatikusan vagy kézi fecskendezéssel is egy szilikon tömítést átszúrva. Az injektorban a minta elpárologtatása zajlik, majd az analitikai oszlopra való juttatása a vivőgáz (inert gáz) segítségével, ami folyamatosan áramlik egy csövön keresztül. A vivőgáz általában nagynyomású palackban helyezkedik el, megválasztása az éppen használt detektor típusától függ, de leggyakrabban hidrogén, hélium, nitrogén vagy argon, mely nyomáscsökkentőn keresztül jut be a rendszerbe. A mozgófázis és a benne található minta komponensek a kolonnába jutnak, melynek két csoportja van: töltetes és kapilláris oszlopok. Ez a rész végzi az elválasztást. A töltet lehet szilárd, vagy szilárd hordozó felületén megkötött fázis, ahol a mechanikai szilárdságot az acél- vagy üvegsző biztosítja, melybe a szilárd halmazállapotú állófázis van betöltve. A kapilláris oszlopok vékony kvarckapillárisok, melynek mechanikai hajlékonyságát a kívülről védő poliimid réteg adja. Belső falán pedig a megosztófázis található, ami szerint beszélhetünk gáz-folyadék megoszlási kromatográfiáról, valamint gáz-szilárd adszorpciós kromatográfiáról. Az elválasztást befolyásoló tényezők, a vivőgáz minősége, sebessége, hőmérséklet, oszlop hossza, belső átmérője, állófázis típusa és vastagsága. A kolonna a légtermosztátban helyezkedik el, ahol az intenzív levegő-ventilláció biztosítja az egyenletes hőeloszlást és pontos hőmérsékletet. A detektorok az oszlopról eluálódó anyagok mennyiségével arányos elektromos jelet adnak. [29-33] Általános GC detektorok:

- lángionizációs detektor (FID)
- hővezető-képesség érzékelő detektor (TCD)
- nitrogén-foszfor detektor (NPD)
- elektronbefogó detektor (ECD)
- lángfotometriás detektor (FPD)
- kemilumineszcens detektor (XCD)
- tömegszelektív detektor (MSD) [10]

Az adatfeldolgozó egység ezt a jelet értelmezi és értékelhető információvá alakítja át. A detektorból érkező jeleket a számítógép feldolgozza, amiből egy kromatogramot kapunk (detektorjel az idő függvényében). A modern adatfeldolgozó rendszerek már alkalmasak az adatok gyűjtésére, feldolgozására, valamint tárolására is egyaránt. A detektor által előállított és továbbított

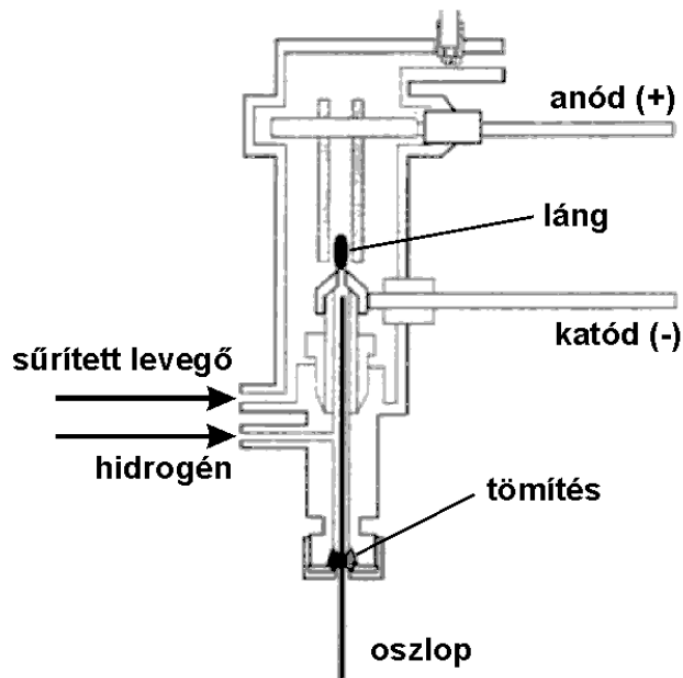
jel lehetővé teszi az elválasztott komponensek kvantitatív és kvalitatív meghatározását. A kromatogramon megjelenő csúcsok jellemzésére használt legfontosabb paraméterek: (4. ábra) [6] [13] [29-33]

- t_R : retenciós idő, amely a minta adagolásától egészen a csúcs intenzitás maximumáig eltelt idő
- t_0 : holtidő, amely a nem visszatartott anyagok esetében az injektortól a detektorig való átjutásához szükséges.
- h : csúcsmagasság, a csúcs maximuma és az alapvonal között lévő függőleges szakasz
- A : csúcsterület, amely a csúcs és az alapvonal által bezárt terület. [13]



4. ábra: A kromatográfiás csúcsok jellemzésére szolgáló legfontosabb paraméterek [13]

A gázkromatográfiában az egyik leggyakrabban használt detektortípus a lángionizációs detektor, amely a gázáramban lévő analitokat méri. Diplomamunkám során lángionizációs (FID) detektort alkalmaztam, melynek vázlatos felépítését az 5. ábra mutatja be.



5. ábra: Lángionizációs detektor vázlatos felépítése [30]

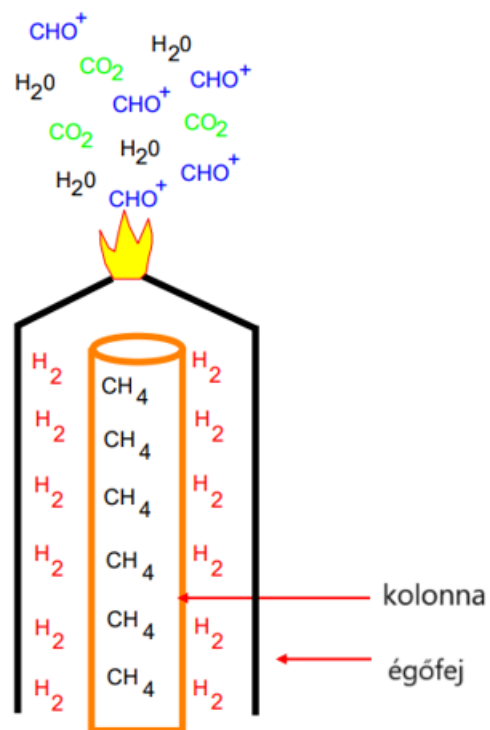
Az első lángionizációs detektorokat egyidejűleg és egymástól függetlenül fejlesztették ki 1957-ben McWilliam és Dewar egy Új-Zélandi kutatólaboratóriumban. Előszeretettel használják sokoldalúsága, megbízhatósága, gyors adatgyűjtési sebessége, alacsony zajszintje, alacsony karbantartási igénye, robusztus felépítése, széles dinamikatartománya, linearitása, észlelési tartománya miatt. Nagy az érzékenysége minden olyan anyagra, mely szén-tartalmaz (kivéve szervesetlen szénvegyületek, hangyasav és formaldehid). Ezt a detektortípust gyakran alkalmazzák a vérben vagy más víz alapú mintákban lévő etanol és más illékony anyagok GC-analízise során, hulladéklerakóból származó gázok ellenőrzésére, belső égésű motorok kibocsátásának mérésére helyhez kötött vagy hordozható műszerekben, valamint az iparban szénhidrogéngázok koncentrációjának mérésére. Hátrányai közé tartozik, hogy a detektor jel gyenge vagy egyenlő a nullával inert gázok, erősen halogénezett vegyületek, pl. H_2S , CCl_4 vagy NH_3 esetében, valamint az is, hogy a láng oxidálja az összes oxidálható vegyületet, amely keresztül halad a detektoron. Az időegységre jutó ionok mérése miatt tömegérzékeny, de nem koncentrációérzékeny, ezért a detektor választ kevésbé befolyásolják a vivőgáz áramlási sebességének változásai. A lángionizációs detektálás érzékenysége függ a hordozógáz áramlási sebességétől, az égést tápláló

gáz áramlási sebességétől, az égőfej és a kollektor relatív helyzetétől, valamint kismértékben a detektor hőmérsékletétől is. [7-12] [33-37]

A GC-FID (6. ábra) detektorok lángot használnak fel a széntartalmú szerves vegyületek ionizálására, melyet levegővel és hidrogénnel keverve állítanak elő. A hidrogén erősen gyúlékony és súlyos robbanást okozhat, ezért soha nem szabad kikapcsolni a hidrogénáramlást anélkül, hogy a detektor talapzatához oszlopot vagy üres szerelvényt csatlakoztatnánk. A szerves vegyületek égésének következtében elektronok és ionok keletkeznek (negatív polarizáló feszültséget alkalmazva), melyek a lángon keresztül vezethetik az elektromosságot (7. ábra). A lángban a szénhidrogének égése során keletkező elektronokat az elektromos tér hatására összegyűjtik, és a keletkező áramot egy elektrométerrel feszültséggé (elektromos jellé) alakítják. A lángionizációs detektor működése tehát a szerves vegyületek lángban történő égése során keletkező ionok kimutatásán alapul, amelyeket hidrogén és levegő generál, ezen ionok kimutatására két elektródát használnak, amelyek potenciálkülönbséget biztosítanak. A pozitív elektród a fűvókafej, ahol a láng keletkezik, a másik pedig a negatív elektród, amely a láng fölött helyezkedik el. Ezt az áramot egy elektrométerrel mérik, amelyet megfelelő feszültséggé erősítenek és egy integrátorba vezetnek. A végső adatok megjelenítésének módja a számítógépes szoftveren alapul és a jelenlévő csúcsok száma jelzi, hogy minimum hány összetevő van a keverékben. A kromatogramon a retenciós idő függvényében ábrázoljuk a mért detektor jelet. A retenciós idő pedig nem más, mint az, hogy mennyi idő alatt haladnak át az analitok az oszlopon és érik el a detektort. Az egyes komponensek mennyiségét pedig a csúcsmagasság vagy a csúcs területe tükrözi. A szabványos FID fűvókák kilépési átmérője 0,5-0,7 mm, ami a legtöbb módszerhez megfelelő. Az érzékenység növelése érdekében kapilláris oszlopokhoz kisebb, kb. 0,3 mm belső átmérőjű fűvókát használnak. Töltött oszlopok esetén a vivőgázáram általában nagyobb, mint 8-10 ml/perc, ami nagyon fontos a detektor érzékenysége szempontjából. Ha az áramlás 40 ml/perc alatt van, a hidrogénáramot nem kell megváltoztatni, ha már nagyobb, akkor stabil láng eléréséhez szükség van a hidrogénáram növelésére. [7-12] [33-37]



6. ábra: Lángionizációs detektor [10]



7. ábra: Lángionizációs detektor működése [10]

4. Validálás

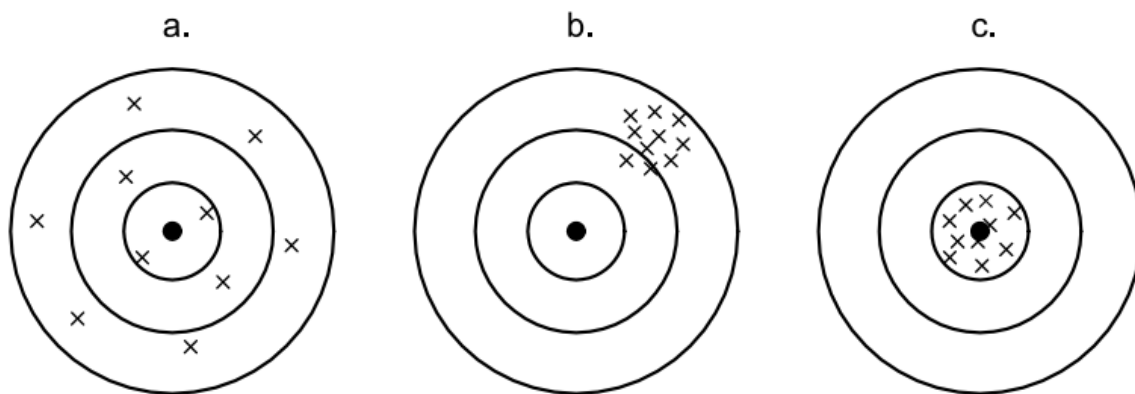
Más néven megfelelés vizsgálatnak is nevezzük, amely során minden analitikai módszer esetében el kell végezni a módszer validálását a megfelelő minőségi és mennyiségi elemzésekhez. Egy adott analit elemzésére szolgáló módszer kifejlesztése a mátrix típusától, a koncentrációtartománytól és az elemzés céljától is függ. A módszer kidolgozását követően meg kell állapítani annak érvényességét. Az ISO/ICE 17025 előírja, hogy validálni szükséges a nem szabványos és a laboratórium által kifejlesztett, vagy a tervezett alkalmazási körön kívül eső módszereket is. A validálás rendszerezett vizsgálatok segítségével alátámasztja azt, hogy a módszer teljesítmény-jellemzői kielégítik-e az analitikai módszer által előírt követelményeket. Egyben a minőségbiztosítási rendszer része is, tulajdonképpen egy eljárás annak bizonyítására és dokumentálására, hogy az adott elemzési eljárás bármilyen körülmények között olyan eredményt ad, amely megfelel az eredménnyel szemben előzetesen támasztott minőségi és mennyiségi követelményeknek. Ehhez szükség van objektív bizonyítékokra is, hogy az adott szándék szerinti használathoz vagy alkalmazáshoz előírt követelmények teljesültek-e, amit az MSZ EN ISO 9000:2001 szabvány 3.8.5. fejezete foglal össze. Ezt a követelményt úgy lehet elérni, ha a laboratórium műszaki hátterét, mérőeszközeit, berendezéseit, dolgozóinak munkáját, munkautasításait, és működtetését nemzetközi tapasztalatok alapján kidolgozott elveknek megfelelően alakítják ki. Validálni természetesen nem csak egy módszert lehet, hanem akár mérőberendezés működését, vagy akár egy gyártási folyamatot is. A validáláshoz feltétlenül szükség van az adott reagáló molekulákra, analitikai mérlegre, mérőeszközökre, ezek megfelelő kalibrálására, karbantartására, adott hőmérsékleten való tartására. Ezen vizsgálat során tanulmányozzuk a módszer teljesítményjellemzőit és igazolni tudjuk azt, hogy az adott módszer alkalmas az analitikai feladatát ellátni. Minden ilyen analitikai mérésnek az a feladata, hogy megfelelő eredményt kapjunk, ami akkor valósulhat meg, ha torzítatlanul, tehát pontosan a valódi értéket mérjük, megfelelő precizitással. A validálási folyamatot új rendszer bevezetésénél, igazolt módszer új feladatra való kiterjesztésekor, új mérést végző személy, vagy műszer esetén és nem utolsó sorban akkor kell elvégezni, ha a módszer nem bizonyul megfelelőnek az ellenőrzés során. Többek között végeznek a validálás során rendszeralkalmasság- és linearitás-, reprodukálhatóság-, ismételhetőség-, kimutatási- és meghatározási határ-, robusztusság-, pontosság-, precizitás-vizsgálatokat is. [14-23]

4.1 Linearitás vizsgálat

Egy módszer lineáris tartománya az a koncentrációtartomány, amelyben a mért jel és az analit koncentrációja között egyenes arányosság áll fenn, tehát ebben a tartományban az adott görbe egyenesnek tekinthető. Ezen koncentráció a mérési tartományt lefedő koncentrációt jelenti. A legkisebb négyzetek módszerével kiszámítható az eredményekből a regressziós egyenes a reagáló anyag koncentrációjának függvényében. A követelmény a maradékok véletlenszerű szóródása a nulla vonal körül, így ennek megfelelően a korrelációs koefficiensnek 0,99 felettinek kell mutatkoznia. A linearitás vizsgálatot érdemes több koncentrációban mérni, hogy minél több pontot kapjunk, ami biztosabb eredményt ad. A kalibrációs görbe elkészítésekor legalább 3 standardot kell elkészíteni, hogy megfelelő korrelációs koefficiens értéket kapjunk. Ha a kalibráció sikeres, akkor lehet csak a mintákat elemezni a mérőberendezéseken. [15-17] [24]

4.2 Precizitás vizsgálat

A módszer vagy másnéven elemzés akkor nevezhető precíznek, ha kicsi a véletlen hibája, tehát ha a mérési eredmények szórása megfelel a támasztott követelményeknek. Általában a korrigált tapasztalati szórással kifejezhető, értéke függ a komponens koncentrációjától. Igazolása ugyanazon mintaoldat injektálásának és elemzésének többszöri megismétlésével lehet. A megfelelő precizitás eléréséhez alkalmazható a belső standard, vagy nagyobb mintakonzentráció.



8. ábra: A precizitás és pontosság szemléltetése [14]

A 8. ábrán az **a.** jelölésű ábra helyes, de nem precíz, a **b.** jelölésű precíz, de nem helyes, végül a **c.** ábra helyes, valamint precíz is egyaránt, ez a megbízható. [14] [17]

4.3 Ismételhetőség vizsgálat

Az ismételhetőségi vizsgálat a precizitásnak egy alfaja, melynek lényege az, hogy az elemzést azonos személy, azonos anyagokkal, azonos laboratóriumban, azonos műszerrel, azonos mérőeszközökkel, azonos sorozatból, független bemérésekből ugyanazon a napon rövid időintervallumban legalább 5x megismétli, és ezen mérések szórását kell kiszámítani. Ha a szórás megfelel az előírt kritériumoknak, akkor a mérés megismételhető. (Ez átlagosan a valós koncentrációk 2% alatti RSD értékét jelenti) [14] [15] [17]

4.4 Reprodukálhatóság vizsgálat

A reprodukálhatósági vizsgálat a precizitás másik fajtája, ahol szintén legalább 5x kell megismételni a méréseket. Különbség köztük az ismételhetőségi vizsgálattal, hogy itt különböző laborban, különböző mérőeszközökkel, különböző személyekkel (pl. puffer- vagy standardoldat készítés) hosszú időintervallumban végezzük a vizsgálatokat, csakis a módszer az, ami azonos, ami nem változik. Ezzel bizonyítható az, hogy nem csak azonos feltételek mellett megbízható az adott módszer, hanem átvihető a laboratóriumok és a meghatározást végző személyek között, így a módszer nem kíván speciális körülményeket. A mérések kiértékelése szórással határozható meg, ha az eltérés nagy a reprodukálhatóság és ismételhetőség között, kutatni kell a hiba feltárásának okát, ami lehet akár kezelő, vegyszer, mérőeszköz, berendezés stb. [14] [15] [17]

4.5 Pontosság vizsgálat

Ennél a vizsgálatnál a valódi értéket kell összehasonlítani a kapott értékkel, mely többféleképpen is vizsgálható. Ha ez a két érték megegyezik, vagy közel esik egymáshoz, akkor kimondható, hogy az elemzési módszer helyes. Vizsgálható referenciaanyaggal, mintaerősítéssel, vagy kísérő standard hozzáadásával is egyaránt. Számítása a standardra mért koncentráció és a standard valódi koncentrációjának a hányadosa szorozva 100-al, melyet %-ban kapunk meg – vagyis a visszanyerés. [14] [17]

4.6 Kimutatási határ vizsgálat

A kimutatási határ vizsgálat rendkívül fontos a kis koncentrációjú minták elemzéséhez, valamint különböző szennyezők meghatározásához. Definíció szerint az a legkisebb koncentráció, amit még megbízhatóan meg lehet határozni, vagyis melynek mérése során kapott válaszjel már

egyértelműen megkülönböztethető a háttértől. Angol nevén Limit of detection, vagyis rövidítve LOD-ként emlegetjük. [15]

Kiszámítása:

$$LOD = \frac{3 \cdot s}{S} \quad [15]$$

s- a vakoldatok standard deviációja

S- az analitikai érzékenység [15]

4.7 Meghatározási határ vizsgálat

Szintén nagyon fontos a szennyezők meghatározásához, valamint a minták elemzésénél a limit of quantification, vagyis az LOQ, ami azt a legkisebb mennyiséget jelenti, ami még megfelelő precizitással, megbízhatósággal és helyességgel határozható meg. Ezesetben a válaszjel várható értékének egyenlőnek kell lennie a vakminta válaszjelinek várható értéke plusz a válaszjel szórásának tízszeresével. Ez a szám nem minden esetben 10, függ az adott feladattól, hibahatáraitól. [15]

Kiszámítása:

$$LOQ = \frac{10 \cdot s}{S} \quad [15]$$

s- a vakoldatok standard deviációja

S- az analitikai érzékenység [15]

4.8 Robusztusság vizsgálat

A validálási vizsgálatok részei közé tartozik még a robusztusság, melynek célja kideríteni azt, hogy az analitikai paraméterek kismértékű változtatása befolyásolja-e, - ha igen mennyire - befolyásolja az adott analitikai módszert, vagyis mennyire ellenálló. Ezt a zavartűrési vizsgálatot célszerű már a módszer fejlesztésének korai szakaszában elvégezni, hogy minél hamarabb kiderüljön, hogy az adott módszer milyen változtatási kritériumokat enged meg magának. Változtatható például az injektálási térfogat, detektálási hullámhossz, detektálási hőmérséklet,

kolonna hőmérséklet, és egyéb más paraméterek attól függően, hogy gáz- vagy folyadékkromatográfot használunk. A módszer akkor robusztus, ha a mérési eredményt nem, vagy csak nagyon kismértékben, elhanyagolhatóan befolyásolja a változtatás. Általában a relatív standard deviáció százalékos értékével megállapítható. [14] [15-17]

4.9 Rendszeralkalmasság vizsgálat

A rendszeralkalmassági vizsgálat során különböző elválasztási paraméterek vizsgálatát végzik el, pl. felbontás (R_s), szimmetria faktor (A_s), valamint az elméleti tányérszám (N). Ezek a paraméterek szoftveres elemzéssel meghatározhatók, melyeknél az elfogadási kritériumok:

$$R_s > 1,45; 1,60 > A_s > 0,75; N > 5000$$

A rendszeralkalmassági paraméterek számításához az alábbi összefüggések használatosak:

$$\text{Felbontás: } R_s = \frac{t'_{R_2} - t'_{R_1}}{\frac{W_2 + W_1}{2}}$$

$$\text{Szimmetria faktor: } A_s = \frac{AW_{0,05} - BW_{0,05}}{2AW_{0,05}}$$

$$\text{Elméleti tányérszám: } N = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_h} \right)^2 [38]$$

t_R = retenció idő

$t'_{R_2}; t'_{R_1}$ = két egymás mellett eluálódó vegyület retenció ideje

W_h = a csúcsmagasság felénél mért csúcsszélesség

$AW_{0,05}$ = a csúcsmagasság 5%-ánál mért jobboldali csúcsszélesség

$BW_{0,05}$ = a csúcsmagasság 5%-ánál mért baloldali csúcsszélesség [38]

5. Módszerátírás

A lángionizációs detektorral szerelt gázkromatográfra történő módszerátírás első lépéseként elkészítettem a vizsgált komponensekből, a 2,4-TDA, 4M2NA, 2,4-DNT, 2M3NA, 4M3NA és 2M5NA külön-külön 0,5 mol/dm³ koncentrációjú oldatát 25 ml-es lombikokba. A bemérés komponensenként változott a moláris tömegek függvényében (1. táblázat), majd jelre töltöttem mintaoldóval a lombikokat (HPLC tisztaságú metanollal) és jól összeráztam, hogy teljesen homogén oldatokat kapjak.

1. táblázat: A módszerátírás során bemért tömegek

Komponens	Bemért tömeg (g)
2,4-DNT	0,2236
4M3NA	0,1923
2M3NA	0,1906
4M2NA	0,1904
2M5NA	0,1919
2,4-TDA	0,1529

A kalibrációs oldatokat a 9. ábra szemlélteti, ahol szépen látszik a különböző komponensek színeinek különbsége. A kalibrációs oldatokra a csúcsok azonosíthatósága végett volt szükségem.



9.ábra: Kalibrációs oldatok elkészítése

Amikor elkészítettem ezeket az oldatokat, 1,5 ml-es fiolákba töltöttem ki, majd egymás után injektáltam a mintákat a kromatográfiás készülékre, hogy azonosítsam a csúcsokat. Először a GC-MS-ről átvitt paramétereket használtam fel, majd folyamatosan változtattam addig, amíg megfelelő eredményt értem el.

A változtatott paramétereket a következő táblázat tartalmazza (2. táblázat). Négy alkalommal változtattam a beállítási paramétereket úgy, hogy minél megfelelőbb eredményeket kapjak. A legpontosabb, legmegfelelőbb eredményeket a 4. beállítással rendelkező paraméterek hozták, így azzal végeztem a kalibrációt és a validálási vizsgálatokat.

2. Táblázat: Módszerátírás paramétereit

Módszerátírás	1.beállítás	2.beállítás	3.beállítás	4.beállítás
Split	50:1	100:1	200:1	300:1
Áramlási sebesség	1,3 ml/perc	1,7 ml/perc	1,5 ml/perc	1,5 ml/perc
Injektálási térfogat	1 µl	1 µl	0,5 µl	0,5 µl
Detektor hőmérséklet	340 (°C)	350 (°C)	370 (°C)	360 (°C)
Injektor hőmérséklet	270 (°C)	280 (°C)	280 (°C)	280 (°C)
Futási idő	15 perc	20 perc	30 perc	25 perc

6. Kísérleti rész

Ebben a fejezetben betekintést nyújtok az általam elvégzett validálási folyamatokba. Munkám során pontosan dokumentáltam, hogy hogyan, milyen paraméterekkel, milyen bemérésekkel végeztem el a kutatást. A vizsgálat során kapott eredményeket a 8. fejezetben részletesen taglalom.

6.1 Kromatográfiás körülmények

A validálási vizsgálat során az újonnan kifejlesztett módszer kromatográfiás körülményeit vettem alapul.

Kromatográfiás körülmények:

Készülék: Agilent 8890 GC System

Kolonna: Agilent DB-5 kolonna, 30 m x 0,32 mm x 0,25 μ m

Eluens: Metanol

Detektálás: FID

Split arány: 300:1

Áramlási sebesség: 1,5 ml/perc

Injektálási térfogat: 0,5 μ l

Detektor hőmérséklet: 360°C

Injektor hőmérséklet: 280°C

Futási idő: 25 perc

Mintaoldó: Metanol

6.2 Kalibrálás és linearitás vizsgálat

Amikor sikerült elérni a csúcsok azonosíthatóságát a módszerátírás során, megkezdődhetett a validálási folyamat, a validáláshoz használt törzsoldatot úgy mértem össze, hogy az összes komponensre nézve 50 mmol/l-es legyen a koncentráció, ez lett a mixem. (10. ábra)



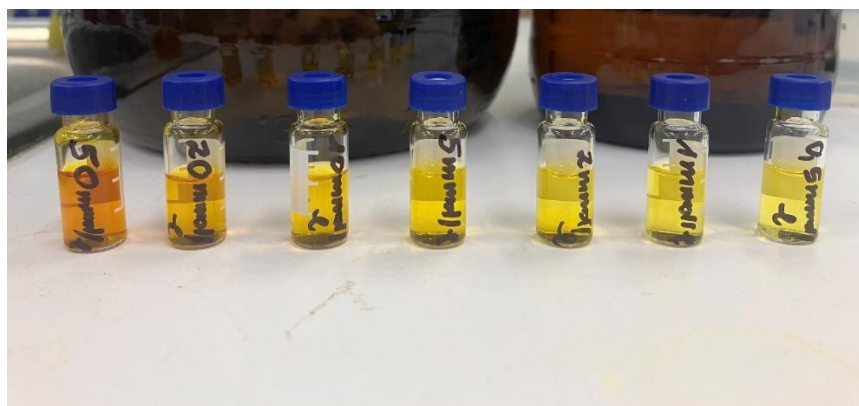
10. ábra: Kalibrációs oldat

A 3. táblázat tartalmazza a kalibrációs oldatokhoz (egyben linearitási vizsgálathoz) kapcsolódó beméréseket, mind a mixből, mind a metanol térfogatából (ami a mintaoldó), valamint a nitrobenzoltól is, amely ebben az esetben a belső standard szerepét töltötte be. A nitrobenzoltól minden koncentráció esetében 2 μ l-t mértem be kb. 1 ml mintához. A beméréseim tehát 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l-es koncentrációval rendelkeznek, annak érdekében, hogy több, összesen hét kalibrációs sor tag esetében is vizsgálni tudjam a validálási paramétereket. Mindezt a törzsoldatból (mix) hígítottam a 3. táblázatnak megfelelően. Látható a 11. ábrán, hogy a leghígabb oldatom a legvilágosabb színű sárgás, ugyanis ez tartalmazza a legtöbb mintaoldót és a legkevesebb törzsoldatot, az oldat töményedésével párhuzamosan az oldat színe is egyre sötétebb

barna árnyalatot vett fel, mert ez már a legkevesebb metanolt, de a legtöbb törzsoldatot tartalmazza.

3. Táblázat: A kalibrációs oldatok elkészítése

Koncentráció (mmol/l)	MIX térfogata	Metanol térfogata	Nitrobenzol térfogata
50	1 ml	-	2 µl
20	400 µl	600 µl	2 µl
10	200 µl	800 µl	2 µl
5	100 µl	900 µl	2 µl
2	40 µl	960 µl	2 µl
1	20 µl	980 µl	2 µl
0,5	10 µl	990 µl	2 µl



11. ábra: Különböző koncentrációjú 2,4-DNT oldatok

6.3 Ismételhetőség vizsgálat

Az ismételhetőség vizsgálat során az elkészített törzsoldatból (mix) 0,5; 5 és 50 mmol/l-es koncentrációjú oldatokat készítettem 1,5 ml-es fiolákba. Ezt úgy készítettem el, hogy egy 20 ml-es lombikba bemértem a szükséges mennyiségű törzsoldatot, majd a mintaoldóval jelre állítottam, ami ezesetben metanol volt és mindezt homogenizáltam. A vizsgálatot azért végeztem el, hogy bebizonyítsam a többszöri injektálással kapott eredmények megfelelőségét. A hígabbtól a töményebb elegyek felé haladtam, így elsőként a 0,5 mmol/l-es oldatot, majd az 5 mmol/l-eset, végül az 50 mmol/l-es oldatot szúrtam fel a lángionizációs detektorral rendelkező gázkromatográfra. Mindhárom oldatot 5x injektáltam egymás után a párhuzamos eredmények elérése végett. Az injektálást követően az oldatot a hűtőbe tettem, hogy újra felhasználható és stabil maradjon. A szükséges beméréseket a 4. táblázat mutatja be.

4. Táblázat: Ismételhetőség vizsgálat során felhasznált koncentrációjú oldatok elkészítése

0,5 mmol/l	5 mmol/l	50 mmol/l
10 µl törzsoldat	100 µl törzsoldat	1 ml törzsoldat
990 µl metanol	900 µl metanol	0 ml metanol

6.4 Reprodukálhatóság vizsgálat

A reprodukálhatóság vizsgálat elvégzése során szerettem volna bizonyítani, hogy különböző laboratóriumokban, különböző szakemberekkel, különböző készülékeken is elvégezhető az adott vizsgálat ugyanazon eredményekkel. A vizsgálat elsődleges célja természetesen az, hogy a módszer átvihető legyen a laboratóriumok, kromatográfiás készülékek, valamint a vizsgálatot végző személyek között. A reprodukálhatóság során Szegedi Máté Péter kollégámtól kaptam segítséget, melynek során külön-külön elkészítettük 3-3 koncentrációban az oldatainkat, majd szintén 5x injektáltuk őket, hasonlóan az ismételhetőség vizsgálatához. Miután a kromatogramjaink elkészültek, kiértékeltem őket és összehasonlítottam. Ennél a vizsgálatnál ugyanazokat a bemérési

arányokat és oldat elkészítési protokollt használtuk, amit az ismételhetőség vizsgálat során, ez látható az 5. táblázatban.

5. táblázat: Reprodukálhatóság vizsgálat során felhasznált koncentrációjú oldatok elkészítése

0,5 mmol/l	5 mmol/l	50 mmol/l
10 µl törzsoldat	100 µl törzsoldat	1 ml törzsoldat
990 µl metanol	900 µl metanol	0 ml methanol

6.5 Robusztusság vizsgálat

A robusztusság vizsgálat során különböző paramétereket változtattam annak érdekében, hogy kiderítsem, az analitikai paraméterek kismértékű változtatása befolyásolja-e a módszert és ha igen, mennyire. Ezen belül vizsgáltam az áramlási sebességet, majd elemeztem a detektor hőmérsékletének változtatásával járó eredményeket, és végül az injektor hőmérsékletét módosítottam a lentebb látható táblázatnak (6. táblázat) megfelelően.

Az 1. robusztussági kísérlet alatt az áramlási sebességet változtattam 1,5 ml/percről 1,3 ml/percre, majd szintén az áramlási sebességet változtattam (2. változtatás), de ezúttal nem alacsonyabb, hanem magasabb irányba, 1,7 ml/perc sebességre. Az 1-2. változtatás alatt fix értéken hagytam a detektor és az injektor hőmérsékletét (360°C és 280°C). A 3. változtatás során a detektor hőmérsékletét vittem lejjebb 10°C-kal, 350°C-ra az eredeti 360°C-ról, majd növeltem 370°C-ra (4. változtatás). Ezesetben az áramlási sebesség és az injektor hőmérséklete maradt az eredeti beállítások szerint. Az utolsó változtatási paraméter az injektor hőmérséklete volt szintén két irányban, $\pm 10^\circ\text{C}$, 270°C és 290°C-ra, ahol a detektor hőmérsékletét az eredeti 360°C fokon hagytam, valamint az áramlási sebességen sem változtattam, az eredeti beállítás szerint hagytam 1,5 ml/perc sebességnél. A robusztussági vizsgálat során változtatott paramétereket és értékeket a 6. táblázat mutatja be.

6. táblázat: A robusztussági vizsgálat során változtatott paraméterek

Paraméterek	Eredeti	1.változtatás	2.változtatás	3.változtatás	4.változtatás	5.változtatás	6.változtatás
Áramlási sebesség (ml/perc)	1,5	1,3	1,7	1,5	1,5	1,5	1,5
Detektor hőmérséklet (°C)	360	360	360	350	370	360	360
Injektor hőmérséklet (°C)	280	280	280	280	280	270	290

6.5.1 Áramlási sebesség változtatása

A robusztusság vizsgálat során az áramlási sebességet változtattam az eredeti 1,5 ml/percről először 1,3 ml/percre, végül 1,7 ml/percre. Arra voltam kíváncsi, hogy a módosítás mennyire befolyásolja a módszeremet. Ezesetben készítenem kellett egy új kalibrálót az 1,3 és az 1,7 ml/perc sebességhez, ugyanis áramlás változtatásánál a komponensek retenciós idejei megváltoznak. A változtatott módszerekhez elkészítettem a kalibrációs sort (ugyanazokkal a bemérésekkel, amit a legelső kalibrációnál használtam), majd amikor ez sikeres volt, felszúrhattam a mintáimat szintén 5-5 párhuzamos alkalmazásával.

6.5.2 Detektor hőmérsékletének változtatása

A robusztusság vizsgálat során először az alacsonyabb hőmérséklettel dolgoztam, 360°C-ról 350°C-ra változtattam meg a detektor hőmérsékletét. Ezek után a hőmérséklet 370°C-ra való növelésével vizsgáltam a paramétereket.

6.5.3 Injektor hőmérsékletének változtatása

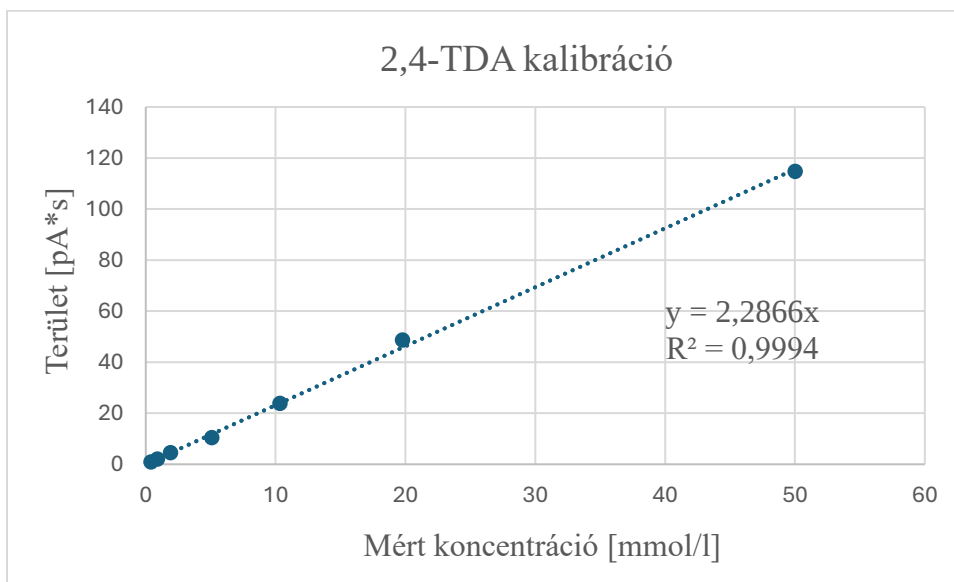
A robusztussági vizsgálat során az utolsó változtatott paraméterem az injektor hőmérséklete volt. Az eredeti módszer szerint ez a hőfok 280°C , de én szerettem volna megnézni, hogyan viselkedik egy alacsonyabb, valamint egy magasabb hőmérsékleten is, hogy mennyire robusztus a módszerem. Mindezeket szem előtt tartva a 270°C és a 290°C -ot választottam és ennek megfelelően végeztem el a párhuzamos méréseket.

7. Eredmények

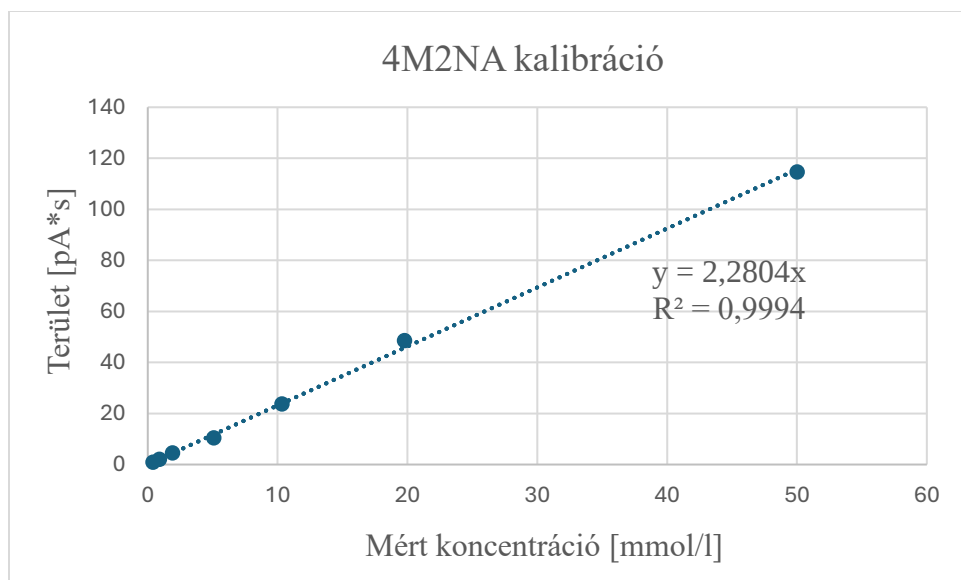
Ebben a részben a 2,4-DNT hidrogénezésének nyomon követésére fejlesztett analitikai módszer validálása során elvégzett vizsgálatok eredményei kerülnek kifejtésre. A GC-FID rendszerre felszúrt minták kromatogramjait elemeztem, kiszámítottam az eredményeket, kiértékeltem, végül levontam a következtetéseket, melyek bebizonyították, hogy a validálási folyamat sikeres volt.

7.1 Kalibrálás és linearitás vizsgálat

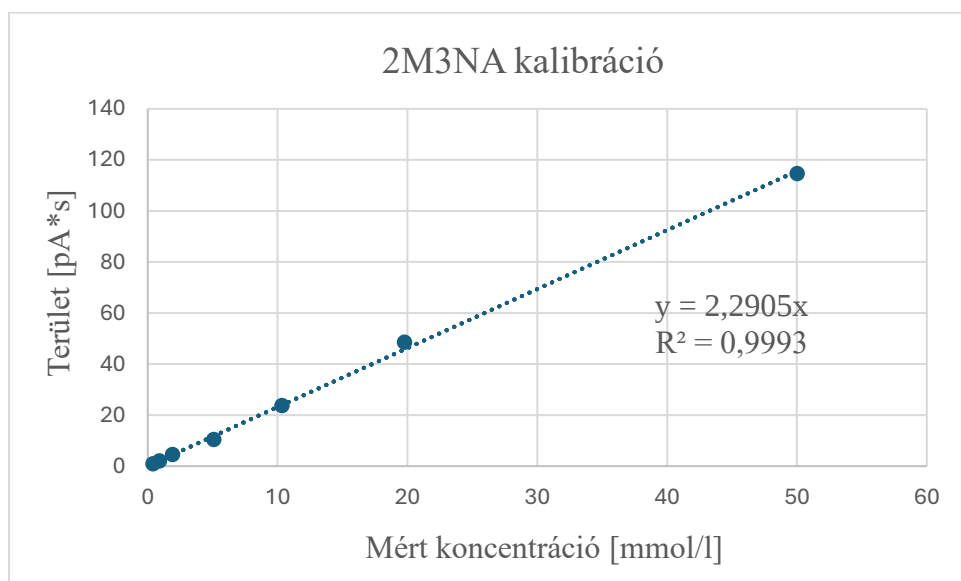
A kalibrálás (egyben linearitás vizsgálat) során 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l-es koncentrációban szúrtam fel minden komponensből a GC-FID rendszerre, azért, hogy minél lineárisabb egyenest kapjak a terület és a mért koncentráció függvényében. Az eredmények alapján jól látható, hogy a korrelációs együttható értéke minden komponens esetén 0,99 feletti, így a kalibráció és a linearitás vizsgálat sikeresnek mondható. A 12. ábrán a 2,4-TDA, a 13-on a 4M2NA, majd a 2M3NA, 15-en a 2,4-DNT, a 16. ábrán 4M3NA és az utolsón pedig a 2M5NA kalibrációs és a linearitás vizsgálat során kapott diagramja látható.



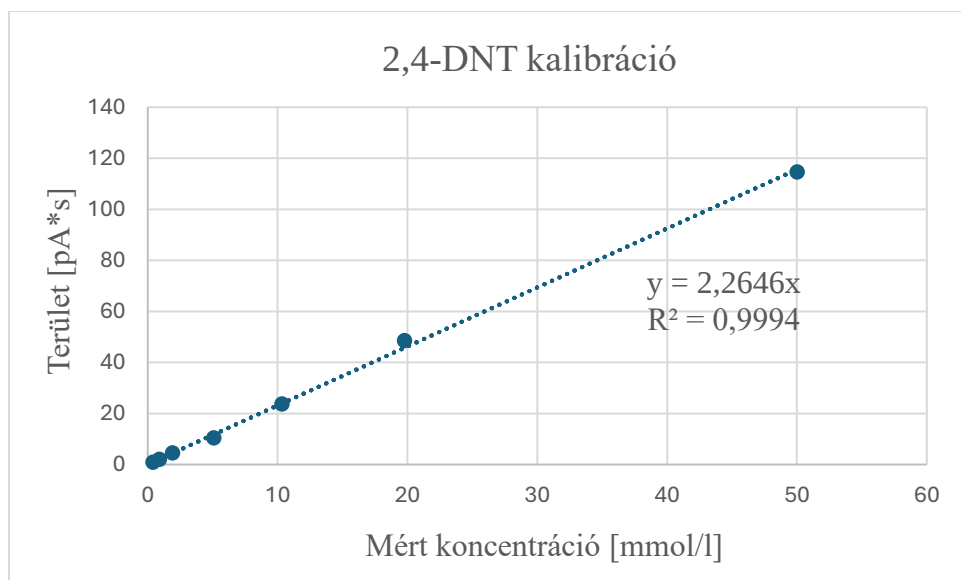
12. ábra: A 2,4-TDA kalibrációs diagramja



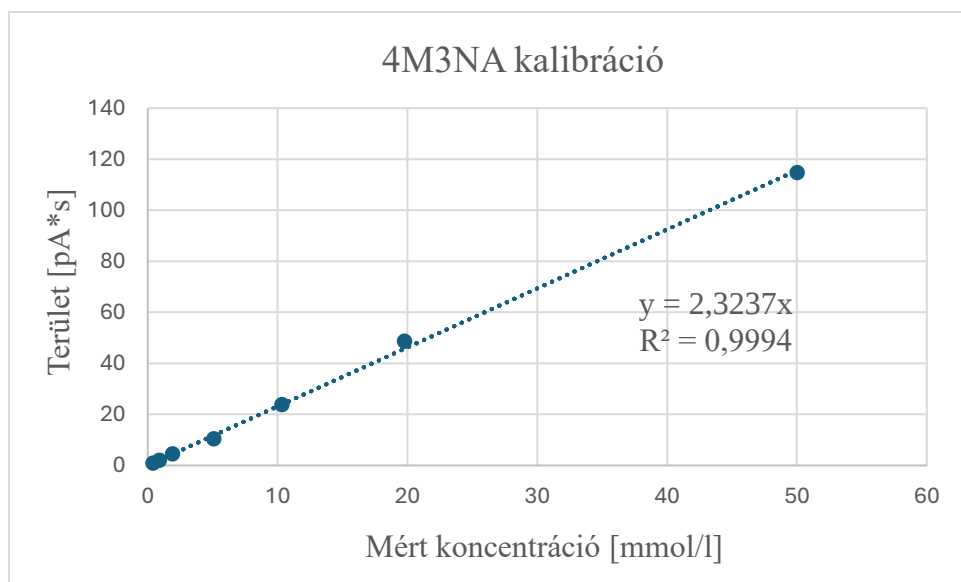
13. ábra: A 4M2NA kalibrációs diagramja



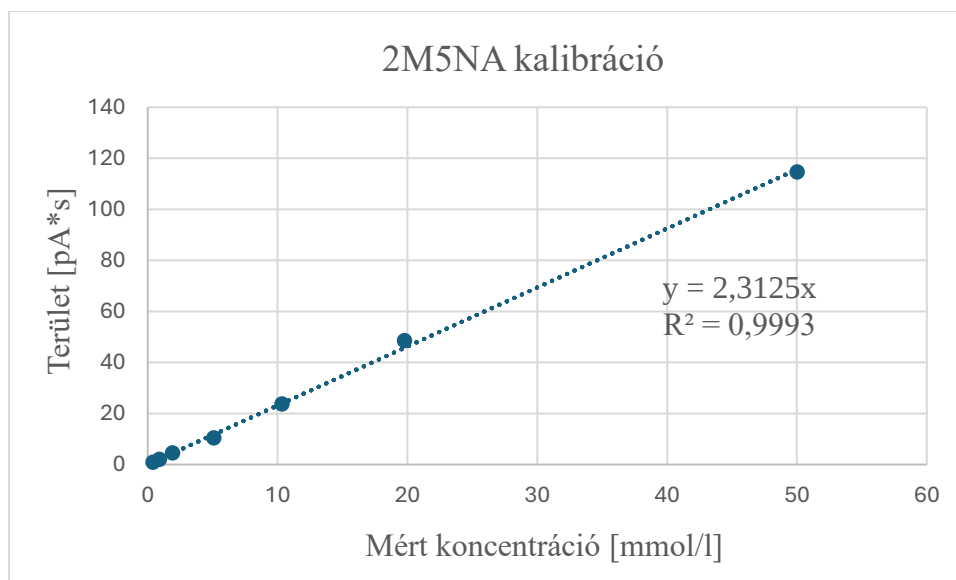
14. ábra: A 2M3NA kalibrációs diagramja



15. ábra: A 2,4-DNT kalibrációs diagramja



16. ábra: A 4M3NA kalibrációs diagramja



17. ábra: A 2M5NA kalibrációs diagramja

7.2 Ismételhetőség vizsgálat

A 7. táblázat a 0,5 mmol/l, a 8. az 5 mmol/l, végül a 9. táblázat az 50 mmol/l koncentrációjú oldatok eredményeit tartalmazza, melyeket az ismételhetőség vizsgálat során kaptam. Az eredmények alapján jól látható, hogy még kis koncentrációnál magasabb a relatív standard deviáció értéke, de ahogy fokozatosan töményedik az oldat, egyre kisebb lesz az eltérés mértéke, az RSD%. Míg a leghígabb esetében akár a 6,5%-ot is meghaladja a tényleges koncentrációk egymáshoz képesti RSD%-a, addig a legtöményebbnél még a 0,3%-ot sem éri el. Ennek oka az lehet, hogy a hígabb mintáknál sokkal nagyobb az emberi, valamint az analitikai mérőeszközök pontatlanságának lehetősége a nagyon minimális mennyiségek bemérése miatt.

7. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat (0,5 mmol/l)

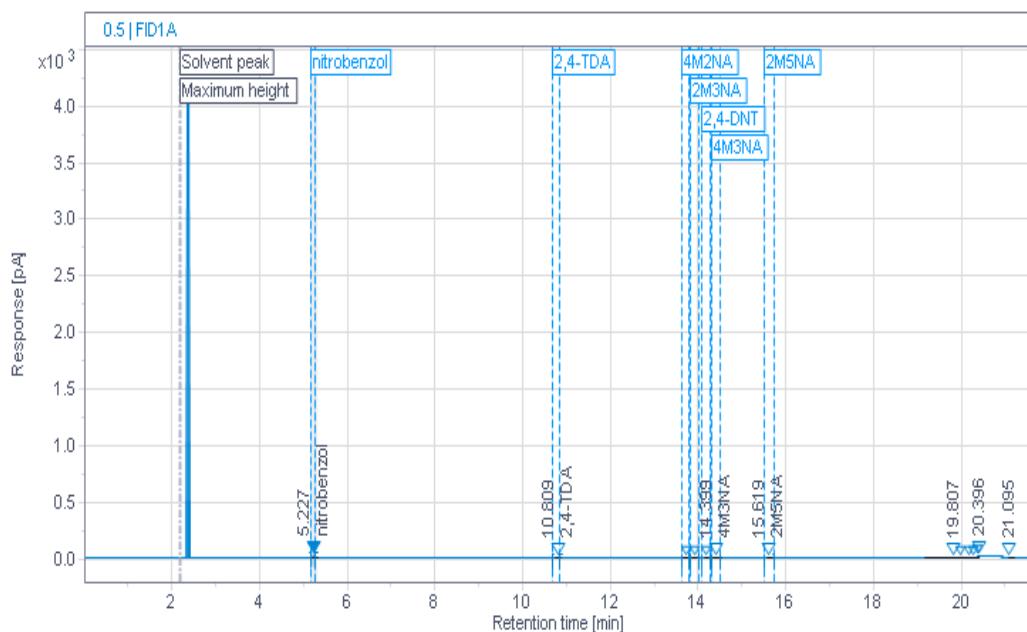
	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,486	0,425	0,413	0,417	0,477	0,435
0,5	0,433	0,405	0,440	0,406	0,414	0,457
0,5	0,431	0,417	0,466	0,423	0,432	0,441
0,5	0,429	0,416	0,440	0,419	0,436	0,429
0,5	0,409	0,406	0,455	0,425	0,430	0,445
átlag	0,438	0,414	0,443	0,418	0,438	0,441
szórás	0,029	0,008	0,020	0,007	0,023	0,011
RSD%	6,56	2,02	4,50	1,77	5,36	2,41

8. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat (5 mmol/l)

	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
5	5,046	5,046	5,072	5,053	5,060	5,074
5	5,039	5,059	5,068	5,047	5,072	5,074
5	5,049	5,074	5,065	5,048	5,052	5,048
5	5,049	5,065	5,065	5,041	5,046	5,078
5	5,067	5,071	5,082	5,06	5,076	5,074
átlag	5,050	5,063	5,070	5,050	5,061	5,070
szórás	0,010	0,011	0,007	0,007	0,013	0,012
RSD%	0,20	0,22	0,14	0,14	0,25	0,24

9. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat (50 mmol/l)

	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
50	48,662	48,708	48,703	48,635	48,635	48,724
50	48,477	48,519	48,523	48,436	48,474	48,545
50	48,377	48,465	48,43	48,284	48,35	48,42
50	48,524	48,569	48,565	48,429	48,511	48,552
50	48,454	48,510	48,500	48,365	48,477	48,534
átlag	48,500	48,554	48,544	48,430	48,490	48,555
szórás	0,110	0,094	0,101	0,130	0,102	0,109
RSD%	0,22	0,19	0,21	0,27	0,21	0,22



18. ábra: Ismételhetőség vizsgálat során kapott kromatogram a 0,5 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetében

A fenti ábra (18. ábra) a 0,5 mmol/l koncentrációjú oldat kromatogramját mutatja be a retenció idő (perc) és a detektorjel (pA) függvényében. A kromatogramon, valamint a 10. táblázatban is jól látható, hogy a komponensek területei még nagyon minimálisak, szinte alig láthatóak ($<0,5 \cdot 10^3$), ami a kis koncentrációval magyarázható. A kromatogram végén minimális szennyeződések figyelhetők meg, ami nem befolyásolja az eredményt.

A 10., 11., és 12. táblázatban jól látható, hogy a 0,5; 5; 50 mmol/l koncentrációjú oldatok esetében a mért koncentrációk közelítenek az elméleti koncentrációhoz, valamint a szimmetria faktorok minden komponensnél 1,6 alatti értéket mutatnak, ami azt jelenti, hogy a méréseimmel megfelelő eredményeket értem el.

10. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat során kapott eredmények a 0,5 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetén

#	Name	RT (min)	Area (pA·s)	Height (pA)	Concentration	S/N	Symmetry
1	nitrobenzol	5.227	28.497	15.299	20.000 mmol/l		0.97188
2	2,4-TDA	10.809	0.866	0.290	0.486 mmol/l		1.05754
3	4M2NA	13.726	0.756	0.274	0.425 mmol/l		0.84993
4	2M3NA	13.923	0.740	0.271	0.413 mmol/l		0.83942
5	2,4-DNT	14.196	0.734	0.271	0.417 mmol/l		0.99777
6	4M3NA	14.399	0.864	0.281	0.477 mmol/l		0.99735
7	2M5NA	15.619	0.788	0.268	0.435 mmol/l		0.85134

11. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat során kapott eredmények az 5 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetén

#	Name	RT (min)	Area (pA·s)	Height (pA)	Concentration	S/N	Symmetry
1	nitrobenzol	5.223	34.626	18.570	20.000 mmol/l		0.96534
2	2,4-TDA	10.796	10.983	4.309	5.046 mmol/l		0.88341
3	4M2NA	13.724	10.975	4.079	5.046 mmol/l		1.00327
4	2M3NA	13.921	11.095	4.109	5.072 mmol/l		0.99735
5	2,4-DNT	14.192	10.870	4.133	5.053 mmol/l		0.94806
6	4M3NA	14.398	11.197	4.190	5.060 mmol/l		0.93577
7	2M5NA	15.616	11.217	4.147	5.074 mmol/l		1.00200

12. táblázat: Ismételhetőség vizsgálat során kapott eredmények a 50 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetén

#	Name	RT (min)	Area (pA·s)	Height (pA)	Concentration	S/N	Symmetry
1	nitrobenzol	5.223	35.077	18.859	20.000 mmol/l		0.97007
2	2,4-TDA	10.803	113.305	44.754	48.662 mmol/l		1.15678
3		12.999	0.589	0.202			0.64120
4	4M2NA	13.730	113.088	41.204	48.708 mmol/l		1.12745
5	2M3NA	13.931	113.559	41.591	48.703 mmol/l		1.22556
6	2,4-DNT	14.202	112.179	41.775	48.635 mmol/l		1.18913
7	4M3NA	14.411	115.072	42.202	48.635 mmol/l		1.26495
8	2M5NA	15.630	114.687	42.025	48.724 mmol/l		1.31649

A táblázatok is jól szemléltetik, hogy a mért koncentrációk elég közel állnak az elméleti koncentrációkhoz, tehát az ismételhetőség vizsgálatról elmondható, hogy sikeres volt.

7.3 Reprodukálhatóság vizsgálat

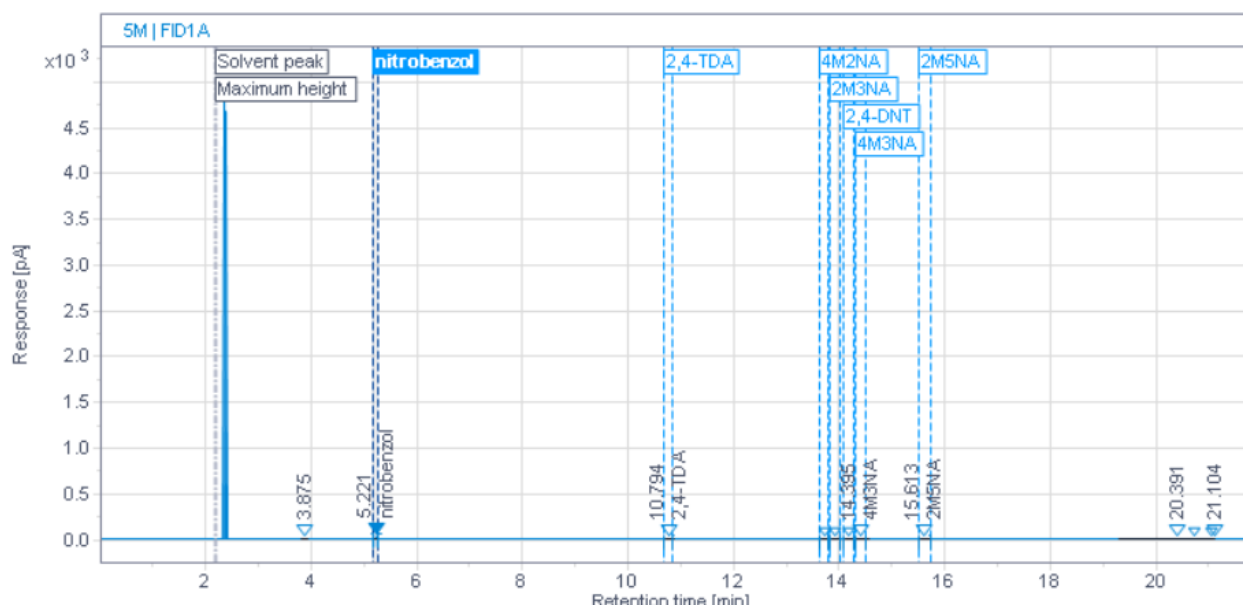
Ebben a fejezetben a reprodukálhatóság vizsgálat eredményeinek kiértékelését mutatom be. A 13. táblázat a 0,5 mmol/l, a 14. táblázat az 5 mmol/l, valamint a 15. táblázat pedig az 50 mmol/l koncentrációjú vegyület eredményeit tartalmazza a reprodukálhatóság vizsgálat során. Az eredmények alapján jól látható, hogy a segítő kolléga (Máté) és az én méréseim eredményei közel esnek egymáshoz, a kettőnk mérései közötti eltérés %-ban megadva 0-tól 2,03%-ig terjed, ami szinte tökéletesnek mondható. Az eredmények alapján elmondhatom, hogy a módszer átvihető a mérést végző személyek között, az eltérés mértéke nagyon minimális, szinte elhanyagolható.

13. táblázat: A reprodukálhatóság vizsgálat eredményei (0,5 mmol/l)

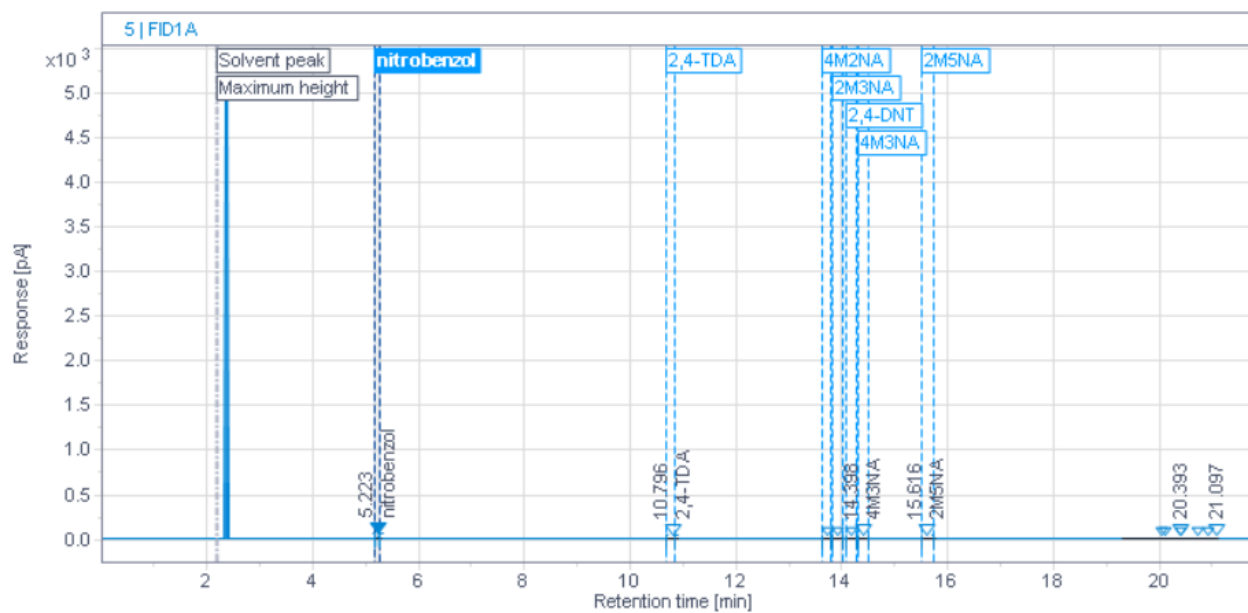
Elméleti koncentráció (mmol/l)	Mért koncentráció (mmol/l)					
	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,486	0,425	0,413	0,417	0,477	0,435
0,5	0,433	0,405	0,440	0,406	0,436	0,457
0,5	0,431	0,417	0,466	0,423	0,432	0,441
0,5	0,429	0,416	0,440	0,419	0,436	0,429
0,5	0,409	0,406	0,455	0,425	0,430	0,445
átlag	0,438	0,414	0,443	0,418	0,442	0,441
0,5 Máté	0,426	0,417	0,436	0,407	0,424	0,431
0,5 Máté	0,452	0,416	0,439	0,416	0,421	0,434
0,5 Máté	0,420	0,411	0,426	0,406	0,426	0,449
0,5 Máté	0,422	0,404	0,434	0,425	0,444	0,435
0,5 Máté	0,431	0,421	0,435	0,400	0,462	0,435
átlag	0,430	0,414	0,434	0,411	0,435	0,437
eltérés	0,007	0,000	0,009	0,007	0,007	0,005
eltérés (%)	1,83	0,00	2,03	1,67	1,58	0,91

14. táblázat: A reprodukálhatóság vizsgálat eredményei (5 mmol/l)

Elméleti koncentráció (mmol/l)	Mért koncentráció (mmol/l)					
	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
5	5,046	5,046	5,072	5,053	5,060	5,074
5	5,039	5,059	5,068	5,047	5,072	5,074
5	5,049	5,074	5,065	5,048	5,052	5,048
5	5,049	5,065	5,065	5,041	5,046	5,078
5	5,067	5,071	5,082	5,060	5,076	5,074
átlag	5,050	5,063	5,070	5,050	5,061	5,070
5 Máté	5,086	5,042	5,022	4,999	5,012	5,042
5 Máté	5,075	5,043	5,012	5,075	4,865	5,222
5 Máté	5,068	5,048	5,037	5,096	4,978	5,120
5 Máté	5,067	5,096	5,078	5,078	5,023	5,098
5 Máté	5,012	5,032	5,069	4,985	5,100	5,065
átlag	5,062	5,052	5,044	5,047	4,996	5,109
eltérés	0,012	0,011	0,027	0,003	0,066	0,040
eltérés (%)	0,24	0,22	0,52	0,06	1,28	0,77



19. ábra: Reprodukálhatóság vizsgálat során kapott kromatogram az 5 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetében (Máté mérése)



20. ábra: Reprodukálhatóság vizsgálat során kapott kromatogram az 5 mmol/l-es koncentrációjú oldat esetében (saját mérésem)

A 19. és 20. ábra az 5 mmol/l-es koncentrációjú reprodukálhatóság vizsgálat kromatogramjait mutatja be a saját méréseim, és Máté esetében. Jól látható, hogy a két kromatogram nagyon

hasonló, mind a területek, mind a retenciós idők és a táblázatok alapján a koncentrációk tekintetében egyaránt.

15. táblázat: A reprodukálhatóság vizsgálat eredményei (50 mmol/l)

Elméleti koncentráció (mmol/l)	Mért koncentráció (mmol/l)					
	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
50	48,662	48,708	48,703	48,635	48,635	48,724
50	48,477	48,519	48,523	48,436	48,474	48,545
50	48,377	48,465	48,430	48,284	48,350	48,420
50	48,524	48,569	48,565	48,429	48,511	48,552
50	48,454	48,510	48,500	48,365	48,477	48,534
átlag	48,499	48,554	48,544	48,430	48,489	48,555
50 Máté	49,322	49,313	49,477	49,317	49,436	49,508
51 Máté	49,336	49,362	49,393	49,213	49,369	49,403
52 Máté	49,428	49,533	49,549	49,330	49,508	49,519
53 Máté	49,361	49,492	49,454	49,169	49,428	49,475
54 Máté	49,441	49,545	49,522	49,256	49,490	49,551
átlag	49,378	49,449	49,479	49,257	49,446	49,491
eltérés	0,879	0,895	0,935	0,827	0,957	0,936
eltérés (%)	1,78	1,81	1,89	1,68	1,94	1,89

A táblázatok alapján is jól látható, hogy a bemért koncentrációk nagyon hasonlóak, visszahozzák mindhárom esetben az elméleti koncentrációt. Az egymáshoz képesti koncentrációk százalékos eltérése minimális, 0,5 mmol/l koncentrációjú oldatnál maximum 2,03 % az eltérés mennyisége, 5 mmol/l-nél 0,06%-tól közel 1,28%-ig terjed, végül az 50 mmol/l koncentrációjú oldatok esetében maximum 1,94% az eltérés. A mérések sikeresek voltak, így elmondhatom, hogy a módszer biztonsággal átvihető a mérést végző személyek között.

7.4 Robusztusság vizsgálat

A robusztusság vizsgálat során változtattam a detektor hőmérsékletet, az injektor hőmérsékletet, valamint az áramlási sebességet is egyaránt. Ebben a részben ezen vizsgálatok eredményei kerülnek kiértékelésre és bemutatásra.

7.4.1 Detektor hőmérsékletének változtatása

A 16. táblázat esetében jól látható, hogy a legkisebb koncentráció esetében a legmagasabb a relatív standard deviáció százalékos értéke, közel 8%, de még ez is megfelelő eredménynek tekinthető, míg a legmagasabb koncentráció esetében az RSD értéke még a 2,5 %-ot sem éri el (pontosan 2,46%). Ezesetben kijelenthető, hogy nagyobb koncentrációk esetében sokkal pontosabb eredményt kaphatunk, így tehát a módszer robusztus, minimális detektor hőmérsékletváltoztatások nem befolyásolják számottevően az eredményeket. A detektor hőmérsékletének változtatásával kapott valós koncentrációkat a 16-18. táblázat tartalmazza.

16. Táblázat: A 0,5 mmol/l-es oldat mért koncentrációi a robusztusság vizsgálat során

0,5 mmol/l-es oldat	mért koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
detektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
360	0,438	0,414	0,443	0,418	0,438	0,441
350	0,452	0,445	0,470	0,436	0,460	0,468
370	0,480	0,480	0,490	0,451	0,496	0,500
RSD%	4,77	7,42	5,07	3,76	6,34	6,14

17. Táblázat: Az 5 mmol/l-es oldat mért koncentrációi a robusztusság vizsgálat során

5 mmol/l-es oldat	mért koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
detektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
360	5,050	5,063	5,070	5,050	5,061	5,070
350	5,089	5,105	5,102	5,045	5,107	5,111
370	5,336	5,353	5,345	5,269	5,356	5,356
RSD%	3,00	3,03	2,90	2,51	3,07	2,99

18. Táblázat: Az 50 mmol/l-es oldat mért koncentrációi a robusztusság vizsgálat során

50 mmol/l-es oldat	mért koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
detektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
360	48,499	48,554	48,544	48,430	48,490	48,555
350	49,347	49,573	49,532	49,427	49,483	49,523
370	47,168	47,200	47,195	47,380	47,160	47,221
RSD%	2,27	2,46	2,42	2,11	2,41	2,39

7.4.2 Injektor hőmérsékletének változtatása

A következő változtatott paraméter az injektor hőmérséklet volt, amely az eredeti módszerben 280°C. Először kisebb, 270°C-on végeztem méréseket, majd 10°C-kal magasabb, 290°C-on vizsgáltam a módszert. A 19. táblázatban összehasonlítottam a három hőmérséklet által kapott koncentrációkat a 0,5 mmol/l-es oldat esetében. Nagyon jól szemlélteti a táblázat, hogy hasonló eredményeket kaptam minden komponensnél, például a 2,4 TDA-nál 280°C-on 0,438 mmol/l, 270°C-on 0,443 mmol/l, végül 290°C-on a, 0,430 mmol/l értéket kaptam. A 20. táblázatban az 5 mmol/l-es oldat esetében szintén látható, hogy az eltérések közötti differencia mértéke nem olyan magas, hogy az ne lenne elfogadható. Itt például a 4M2NA esetében 280°C-on 5,063 mmol/l, 270°C-on 5,298 mmol/l és 290°C-on 5,498 mmol/l eredményeket kaptam. Végül a 21. táblázat tartalmazza a legnagyobb koncentráció, az 50 mmol/l-es értékeket. Ezesetben is minden érték RSD%-a minimális volt, így a robusztussági vizsgálat ezen részét sikeresen zártam.

19. Táblázat: A 0,5 mmol/l-es oldat mért koncentrációi az injektor hőmérséklet változtatás során

0,5 mmol/l-es oldat	tényleges koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
injektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
280	0,438	0,414	0,443	0,418	0,438	0,441
270	0,443	0,434	0,459	0,402	0,454	0,452
290	0,430	0,421	0,447	0,382	0,444	0,443
RSD%	1,54	2,42	1,89	4,48	1,89	1,26

20. Táblázat: Az 5 mmol/l-es oldat mért koncentrációi az injektor hőmérséklet változtatás során

5 mmol/l-es oldat	tényleges koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
injektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
280	5,050	5,063	5,070	5,049	5,061	5,069
270	5,274	5,298	5,294	5,200	5,314	5,290
290	5,476	5,498	5,503	5,376	5,509	5,490
RSD%	4,05	4,13	4,1	3,14	4,25	3,99

21. Táblázat: Az 50 mmol/l-es oldat mért koncentrációi az injektor hőmérséklet változtatás során

50 mmol/l-es oldat	tényleges koncentráció komponensekre bontva (mmol/l)					
injektor hőmérséklet (°C)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
280	48,501	48,552	48,544	48,431	48,494	48,552
270	50,632	50,801	50,740	50,470	50,690	50,761
290	51,125	51,340	51,282	51,218	51,232	51,301
RSD%	2,78	2,94	2,89	2,88	2,89	2,90

7.4.3 Áramlási sebesség változtatása

Az utolsó változtatott paraméter a robusztusság vizsgálat során az áramlási sebesség volt, ami az eredeti módszerbeállítás szerint 1,5 ml/perc. Mivel ez volt az eredeti paraméter, így a kalibráció is ehhez a beállításhoz készült el, de ha módosítom az áramlási sebességet, akkor új kalibrációra van szükség, ugyanis a komponensek retenció idejei megváltoznak, nem lesznek felismerhetőek, mert nem ahhoz a retenció időhöz lettek bekalibrálva. Így tehát a modifikált 1,3 és 1,7 ml/perc áramlási sebességgel először egy kalibrációs sort készítettem. Ezt ugyanúgy tettem meg, ahogy az eredeti beállításnál, csak az áramlási sebességet változtattam meg. Az eredményeket a 22. és 23. táblázatok szemléltetik.

22. táblázat: A kalibrációs sorra mért koncentrációk az áramlási sebesség változtatása során (1,3 ml/perc)

áramlási sebesség 1,3 ml/perc	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,515	0,516	0,532	0,465	0,524	0,518
1	0,949	0,946	0,955	0,909	0,966	0,956
2	1,909	1,939	1,930	1,853	1,935	1,913
5	4,909	4,917	4,910	4,854	4,929	4,941
10	9,853	9,851	9,859	9,840	9,856	9,853
20	20,143	20,137	20,134	20,182	20,128	20,130
50	49,986	49,986	49,987	49,981	49,987	49,987

23. táblázat: A kalibrációs sorra mért koncentrációk az áramlási sebesség változtatása során (1,7 ml/perc)

áramlási sebesség 1,7 ml/perc	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,458	0,448	0,485	0,603	0,473	0,467
1	1,038	1,021	1,086	0,997	1,044	1,057
2	2,028	2,002	2,041	1,997	2,016	2,036
5	5,186	5,181	5,189	5,155	5,206	5,199
10	9,479	9,495	9,483	9,451	9,467	9,473
20	20,274	20,271	20,263	20,306	20,275	20,271
50	49,975	49,974	49,976	49,971	49,975	49,975

Az áramlási sebesség kalibrációs sorának felvétele után elkezdtem a validálást az 1,3 ml/perc és 1,7 ml/perc változtatási paraméterekkel. A 24. és 25. táblázat tartalmazza a mért koncentrációkat, ahol szintén 5-5 mérést végeztem mind a 0,5; 5 és az 50 mmol/l-es koncentrációk esetében. A diplomamunkám ezen részében az 5 mmol/l-es oldatok eredményei kerülnek bemutatásra, de mindhárom eset megfelelt a kritériumoknak. A táblázatok alapján jól látható, hogy a relatív standard deviáció értéke kifejezetten alacsony. Az 1,3 ml/perc esetben 0,17% a 4M2NA és a 2,4-DNT is, ezt követi 0,18%-al a 2M3NA, majd a 2,4-TDA 0,22-vel, végül a 4M3NA és a 2M5NA 0,26 és 0,38 RSD%-al.

24. táblázat: 1,3 ml/perc áramlási sebesség esetén kapott koncentrációk

áramlási sebesség 1,3 ml/perc	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
5	5,142	5,168	5,126	5,136	5,155	5,138
5	5,147	5,163	5,149	5,151	5,144	5,16
5	5,132	5,162	5,139	5,138	5,173	5,143
5	5,150	5,152	5,142	5,156	5,155	5,125
5	5,123	5,146	5,131	5,141	5,138	5,108
átlag	5,139	5,158	5,137	5,144	5,153	5,135
szórás	0,011	0,009	0,009	0,009	0,013	0,020
RSD%	0,22	0,17	0,18	0,17	0,26	0,38

25. táblázat: 1,7 ml/perc áramlási sebesség esetén kapott koncentrációk

áramlási sebesség 1,7 ml/perc	mért koncentráció (mmol/l)					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
5	4,634	4,628	4,64	4,542	4,628	4,643
5	4,629	4,629	4,63	4,536	4,619	4,647
5	4,616	4,615	4,633	4,583	4,62	4,615
5	4,620	4,631	4,637	4,582	4,629	4,628
5	4,639	4,644	4,634	4,583	4,641	4,635
átlag	4,628	4,629	4,635	4,565	4,627	4,634
szórás	0,010	0,010	0,004	0,024	0,009	0,013
RSD%	0,21	0,22	0,08	0,53	0,19	0,27

7.5 Szimmetria faktorok

7.5.1 Ismételhetőség vizsgálat során kapott szimmetria faktor

A szimmetria faktorokat is vizsgáltam a validálási protokoll alatt. A megfelelőséghez a szimmetria faktor értékének 0,75 és 1,6 között kell lennie. A 26. táblázat az ismételhetőség vizsgálat során kapott szimmetria faktorokat mutatja be (átlagban az 5-5 mérésé), ahol jól látható, hogy mindegyik komponens esetében a jellemző érték 0,8 és 1,3 közötti.

26. Táblázat: Ismételhetség vizsgálat során kapott szimmetria faktorok

	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,874	0,943	0,927	0,894	0,824	0,884
5	0,915	1,003	0,979	0,999	1,000	0,988
50	1,173	1,172	1,220	1,203	1,252	1,305

7.5.2 Reprodukálhatóság vizsgálat során kapott szimmetria faktor

A következő táblázat (27.) már a reprodukálhatósági vizsgálat során kapott szimmetria faktorokat mutatja be Máté mérései során. Szintén itt is 0,75 és 1,6 közöttiek a kapott értékek, melyek megfelelőnek számítanak a kromatográfiában. Megfigyelhető a táblázat alapján az, ahogyan növekszik a koncentráció, úgy arányosan nő a szimmetria faktor értéke is. Például a 2,4 TDA esetében 0,5 mmol/l koncentrációnál még csak 0,882; 5 mmol/l-nél már nagyobb valamivel, 0,955; végül a legmagasabb, 50 mmol/l koncentrációjú oldat esetében már 1,155 a szimmetria faktor értéke.

27. Táblázat: Reprodukálhatóság vizsgálat során kapott szimmetria faktorok

	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,882	0,890	0,935	0,889	0,950	0,910
5	0,955	0,985	0,972	0,983	0,949	0,957
50	1,155	1,151	1,195	1,164	1,242	1,318

7.5.3 Áramlási sebesség változtatásával kapott szimmetria faktor

A 28. táblázat az 1,7 ml/perc és 1,3 ml/perc áramlási sebesség esetén mért kalibráló sor szimmetria faktorainak átlagát ábrázolja, ahol a legalacsonyabb érték 0,984, a legmagasabb pedig 1,047 volt, ami szintén a kritériumba tartozik (0,75-1,6). Ezekbe az értékekbe beletartoznak a 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l-es koncentrációjú oldatok szimmetria faktorai egyaránt.

28. Táblázat: Áramlási sebesség változtatása során elkészített kalibráló sor szimmetria faktorainak átlaga

	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
átlag 1,3 ml/percnél	0,984	1,019	1,013	1,032	1,028	1,020
átlag 1,7 ml/percnél	0,990	1,047	1,031	0,994	1,049	1,023

A 29. táblázat mutatja az 1,3 ml/perc esetén mért szimmetria faktorok eredményeit. A táblázat alapján jól látható, hogy határértéken belül (0,75-1,6) vannak a kapott eredményeim, így ezen vizsgálati rész sikeres volt. Megfigyelhető például a 2,4-TDA esetében, hogy a koncentráció növekedésével a szimmetria faktorok is nőnek, vagy másik példa a 2M3NA esetében 0,5 mmol/l-nél 0,933; 5 mmol/l-nél 0,986; végül a legtöményebb oldatnál, az 50 mmol/l koncentrációnál 1,185 értékeket kaptam. A táblázatban mindegyik koncentrációnál az 5 mérés átlaga látható.

29. Táblázat: Áramlási sebesség változtatásával kapott szimmetria faktor 1,3 ml/perc esetén

	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,923	0,859	0,933	0,878	0,946	0,852
5	0,954	0,978	0,986	0,902	0,951	0,956
50	1,102	1,123	1,185	1,152	1,166	1,236

A 30. táblázatban láthatóak az 1,7 ml/perc esetén mért szimmetria faktorok eredményei, ahol az értékek 0,806 és 1,333 között változtak, így ezen vizsgálati rész is sikeres volt. Egy példán keresztül ábrázolva a 4M2NA esetében 0,875; 0,964; végül 1,113-as eredményeket kaptam a szimmetria faktorok tekintetében.

30. Táblázat: Áramlási sebesség változtatásával kapott szimmetria faktor 1,7 ml/perc esetén

	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,942	0,875	0,877	0,806	0,806	0,859
5	0,963	0,964	0,953	0,901	0,907	0,978
50	1,122	1,113	1,232	1,032	1,136	1,333

7.5.4 Detektor hőmérséklet változtatásával kapott szimmetria faktor

A 31. táblázat szintén a robusztussági vizsgálat során kapott értéket mutatja be, méghozzá a detektor hőmérsékletének változtatásával, ami ez esetben 360°C helyett 350°C. Ebben az esetben a szimmetria faktorok átlagai láthatóak 0,5; 5 és 50 mmol/l koncentráció esetén, melyek 0,75 és 1,6 közötti értéket mutatnak, így a vizsgálat eleget tesz a feltételeknek.

31. Táblázat: 350°C-os detektor hőmérséklete során kapott szimmetria faktorok

<i>det.hőm.350°C</i>	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,867	0,941	1,014	0,930	0,892	0,952
5	0,958	0,955	0,956	0,976	0,975	0,941
50	1,144	1,245	1,181	1,209	1,243	1,235

A 32. táblázatban a 370°C-os detektor hőmérsékletének változtatásával kapott szimmetria faktorok átlagai láthatóak egészen 0,853-tól 1,312 értékig, ami szintén követelményen belüli.

32. Táblázat: 370°C-os detektor hőmérséklete során kapott szimmetria faktorok

<i>det.hőm.370°C</i>	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,853	0,987	0,971	0,897	0,894	0,948
5	0,960	0,933	0,974	0,943	0,979	0,988
50	1,174	1,170	1,218	1,206	1,234	1,312

7.5.5 Injektálási hőmérséklet változtatásával kapott szimmetria faktor

A 33. táblázat a 270°C-os injektálási hőmérséklet során kapott szimmetria faktorokat ábrázolja, ahol a legalacsonyabb érték a 2,4-TDA esetén mutatkozott, 0,76-es faktor értékkel, a legmagasabb pedig a 2,4-DNT esetében volt, 1,278-as értékkel. A táblázat az átlagokat mutatja, ahol a legkisebb a 0,850; a legmagasabb pedig az 1,277 szimmetria faktor volt. A 34. táblázat a 290°C-os változtatás során kapott értékeket mutatja, ahol látáhatóan az értékek kritériumon belüliek, így ez a vizsgálat is sikeres volt.

33. Táblázat: 270°C-os injektor hőmérséklet során kapott szimmetria faktorok

<i>inj.hőm.270°C</i>	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2, 4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,850	0,862	0,935	0,941	0,948	0,891
5	0,916	0,996	0,945	0,949	0,961	0,991
50	1,160	1,198	1,247	1,223	1,229	1,277

34. Táblázat: 290°C-os injektor hőmérséklet során kapott szimmetria faktorok

<i>inj.hőm.290°C</i>	szimmetria faktor					
Elméleti koncentráció (mmol/l)	2,4 TDA	4M2NA	2M3NA	2,4 DNT	4M3NA	2M5NA
0,5	0,902	0,911	0,947	0,893	0,978	0,885
5	0,927	0,969	0,969	0,969	0,970	0,954
50	1,185	1,170	1,215	1,220	1,258	1,311

8. Összefoglalás

Kutatási munkám során céлом volt a 2,4-dinitrotoluol hidrogénezésének követésére használt jelenlegi GC-MS módszerről GC-FID rendszerre történő módszer átírása és fejlesztése, valamint az eljárás validálása.

A módszerátírás lényege az volt, hogy az eredeti GC-MS paramétereket átvittem az új lángionizációs detektorral rendelkező gázkromatográfra, majd addig módosítottam a beállítási paramétereket, míg a legmegfelelőbb eredményeket nem értem el a vizsgálatok során. Változtattam a kromatográfiás körülményeket, ezáltal az injektor hőmérsékletét 280°C-ra, a detektor hőmérsékletét 360°C-ra, áramlási sebességet 1,5 ml/percre, az injektálási térfogatot 0,5 µl-re, végül a futási időt 25 percre. A detektálást FID detektorral végeztem el, mintaoldóként pedig nagy tisztaságú (HPLC tisztaságú) metanolt alkalmaztam és készülékként egy Agilent 8890 GC rendszer állt rendelkezésemre. Így kialakult az új módszer, új beállítási paraméterekkel, melyekkel megfelelő eredményt produkáltam, ezáltal a módszerátírás sikeresen megtörtént.

A módszerátírás után validálási vizsgálatokat végeztem azért, hogy az eljárás teljesítményjellemzői kielégítik-e az analitikai módszer által előírt követelményeket. Ez egyben egy minőségbiztosítási rendszer része is, tulajdonképpen egy eljárás annak bizonyítására és dokumentálására, hogy az adott elemzési metódus bármilyen körülmények között olyan eredményt ad, amely megfelel az eredményekkel szemben előzetesen támasztott minőségi és mennyiségi követelményeknek. A validálási vizsgálatok során elsősorban kalibrációs sort készítettem 0,5; 1; 2; 5; 10; 20 és 50 mmol/l-es koncentrációkban - ez jelentette egyben a linearitás vizsgálatomat is - hogy azonosítsam a jelenlévő komponensek csúcsait, mely sikeresen visszahozta megfelelő értékekkel a komponenseket. Ezt követően ismételhetőség vizsgálatot folytattam, ahol három koncentrációt kiválasztottam, a 0,5; 5 és 50 mmol/l-es koncentrációkat, és ezeket az oldatokat szúrtam fel a kromatográfiás készülékre, 5-5-5 alkalommal annak bizonyítására, hogy azonos személy, azonos anyagokkal, azonos laboratóriumban, azonos műszerrel, azonos mérőeszközökkel, azonos sorozatból, független bemérésekből ugyanazon a napon belül rövid időintervallumban azonos mérési eredményeket kapjon. Az ismételhetőség vizsgálatom sikeresnek bizonyult. Ezt követte a reprodukálhatósági vizsgálat, ahol egy kollégámtól, Szegedi Máté Pétertől kaptam segítséget. Az elvégzett mérések azt hivatottak bizonyítani, hogy nem csak

azonos feltételek mellett megbízható az adott módszer, hanem átvihető laboratóriumok és meghatározást végző személyek között is, így a módszer nem kíván speciális jellemzőket. A mérés során az ismételhetőség vizsgálatához hasonlóan 0,5; 5 és 50 mmol/l-es koncentrációban végzett ő, és én is 5-5-5 db mérést. A validálási vizsgálat sikeresnek bizonyult. A következő vizsgálatom a robusztussági vizsgálat volt, melynek célja kideríteni azt, hogy az analitikai paraméterek kismértékű változtatása befolyásolja-e, ha igen mennyire, az adott analitikai módszert, vagyis mennyire ellenálló. Ezen belül változtattam az áramlási sebességet 1,5 ml/percről 1,3 ml/percre, valamint 1,7 ml/perce. Itt elsőként egy új kalibrálót kellett készítenem, ugyanis az áramlás változtatásával elcsúszhatnak a komponensek retenciós idejei. Miután a kalibrálás sikeres volt, itt is az előzőekhez hasonlóan három koncentrációban szúrtam fel mintákat egymás után többször. A robusztusságon belül a másik paraméter, amelyet változtattam, a detektor hőmérséklet volt, amit 360°C-ról 350°C-ra és 370°C-ra változtattam, szintén 5-5-5 db méréssel. Az utolsó vizsgálati paraméter ezen belül pedig az injektor hőmérséklet volt, amit 280°C-ról 10°C-kal alacsonyabban, azaz 270°C-on és 10°C-al magasabban, azaz 290°C-on vizsgáltam. A robusztussági vizsgálatok közül mind sikeres volt. Az utolsó validálási vizsgálatom a szimmetria faktor meghatározása volt, melynek a szakirodalmi kutatásaim alapján [38] elfogadhatónak tartott értékének 0,75 és 1,60 között kell lennie. Ezt az értéket minden változtatás ellenében mutatta a GC-FID rendszer a kromatogram értékelésénél, így láthattam, hogy minden komponens esetében minden validálási vizsgálat megfelelt az előírt kritériumoknak.

Összefoglalásul megállapítható tehát, hogy kutatómunkám sikeres volt. Teljesítettem a kutatás kezdetén megfogalmazott célomat mely, a 2,4-dinitrotoluol (2,4-DNT) hidrogénezésének követésére használt jelenlegi GC-MS módszer átírása GC-FID rendszerre és ezen felül az új módszer validálása volt. A kutatómunka során kapott eredményeket számos méréssel támasztottam alá, melyek a jövőbeni kutatások alapjául is szolgálhatnak.

9. Hivatkozások

- [1] Sila, J.; Eungyeong, P.; Shuang, G.; Yeonju, P.; Jongmin, P.; Hyuk, S., Y.; Ju, H., P.; Lei, C.; Young, M., J.; Process monitoring of photocatalytic degradation of 2,4-dinitrotoluene by Au-decorated Fe₃O₄@TiO₂ nanoparticles: surface-enhanced Raman scattering method. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, Volume 275, 5 July 2022, 121155 (2022.)
- [2] Xiaodong, L.; Jialun, S.; Zongquan, S.; Yuqin, L.; Wenwen, Z.; Bin, W.; Fujun, M.; Qingbao, G.; Degradation of 2,4-dinitrotoluene using ferrous activated persulfate: Kinetics, mechanisms, and effects of natural water matrices. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, Volume 9, Issue 5, October 2021, 106048 (2021.)
- [3] Xiaodong, L.; Jialun, S.; Zongquan, S.; Wenwen, Z.; Fujun, M.; Qingbao, G.; Insights into the impacts of chloride ions on the oxidation of 2,4-dinitrotoluene using ferrous activated persulfate: Removal efficiency, reaction mechanism, transformation pathway, and toxicity assessment. *Chemosphere*, Volume 317, March 2023, 137887 (2023.)
- [4] Sema, A.; Berkant, K.; Fleming, M.; Dissolution thermodynamics and preferential solvation of 2,4-dinitrotoluene in (ethanol + water) mixtures. *Journal of Molecular Liquids*, Volume 330, 15 May 2021, 115675 (2021.)
- [5] 发明专利申请; System and method for continuously preparing 80/20DNT by utilizing microreactor. CN117282375A. Google Patents (2023.) (szabadalom)
- [6] Kromatográfiai alapok: a kromatográf felépítése, gázkromatográfia (GC), nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia (HPLC); <https://www.enfo.hu/sites/default/files/kromatgrafia.pdf> (2024.10.25.), (on-line hivatkozás)
- [7] <https://www.agilent.com/en/product/gas-chromatography/gc-detectors/flame-ionization-detector> (2024.10.25), (on-line hivatkozás)
- [8] Milos, Novotny; in *Encyclopedia of Physical Science and Technology* (Third Edition) (2003.)

- [9] https://en.wikipedia.org/wiki/Flame_ionization_detector (2024.11.02.), (on-line hivatkozás)
- [10] Eliminating the Fear Factor, Flame Ionization Detector, Agilent Technologies, Agilent CrossLab From Insight to Outcome, DE.6789930556 (2024.11.02.), (on-line hivatkozás)
- [11] Biology with Animations; <https://www.youtube.com/watch?v=PV4NYBUaUrQ> (2024.11.03.), (on-line hivatkozás)
- [12] Eurolab Laboratory Services, Kémiai vizsgálatok (2024.10.30.), (on-line hivatkozás)
- [13] https://www.shimadzu.com/an/service-support/technical-support/analysis-basics/basic/what_is_hplc.html (2024.10.30.), (on-line hivatkozás)
- [14] Analitikai kémia I., Analitikai kémia környezetmérnököknek, elemzési módszerek teljesítményjellemzői, Műegyetem (1782.)
- [15] Dr. Gáspár Attila: Elválasztási módszerek validálása (Oktatási segédanyag műszeres analitika gyakorlathoz)
- [16] Horváthné Drégelyi-Kiss Ágota főiskolai tanársegéd; Analitikai módszerek validálása, érvényesítése Segédlet Méréselmélet című tárgyhoz Környezetmérnök hallgatók részére; BMF Bánki Donát Gépész és Biztonságtechnikai Mérnöki Kar Anyag- és Gépgyártástechnológia Intézet (2008.)
- [17] Vámos István: Statisztika az analitikai laborban; Elméleti összefoglaló és példatár vegyipari technikusok számára (2017.) (példatár)
- [18] Adel, B. S.; Abdulrahman, R., A.; Mohammed, A., A.; Abdulrahman, M., A.; Fahd, A., A.; Sowailam, A., A.; Validation of a Method for the Measurement of Caffeine in Water by HPLC UV; Chemistry Department, National Measurement and Calibration Center (NMCC), Saudi Standards, Metrology and Quality Organization (SASO), Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia; Green and Sustainable Chemistry (2023.)
- [19] Michael T.; Stephen, L.; R.; E.; Roger, W.; Harmonized Guidelines for single laboratory validation of methods of analysis; Pure Appl. Chem., Vol. 74, No. 5, pp. 835–855, (2002.)

- [20] Magnusson, B. and Omemark, U.; Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods; A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Second Edition (2014.)
- [21] ISO (International Organization for Standardization). Standards Catalogue, 67: Food Technology (2024.10.30.), (on-line hivatkozás)
- [22] Breno, M.M.; Victor, C.; Allan, M.J.; Mariana, M.F.; Raquel, O.V.; Roberto, P.; Validation of Analytical Methods in a Pharmaceutical Quality System: An Overview Focused on HPLC Methods. *Química Nova*, 43, 1190-1203 (2020.)
- [23] General Requirements for the Competence of Testing and Calibration. ISO/IEC 17025 (2017.)
- [24] Joachim Pum: A practical guide to validation and verification of analytical methods in the clinical laboratory. Chapter six; Bioscientia Institut für Medizinische Diagnostik GmbH, MVZ Jena, Germany; *Advances in Clinical Chemistry*, Volume 90; ISSN 0065-2423 (2019.)
- [25] Peter, Z.; Oliver, B.; Gunter, G.; Joern, M.; Method for hydrogenating liquid organic compounds; HU229940B1.pdf (2015.), (szabadalom)
- [26] Philippe Marion: Nitrált aromás vegyületek folyamatos hidrogénezése alacsony alumíniumtartalmú katalizátorral; HU230415B1.pdf (2016.), (szabadalom)
- [27] Neri, G.; Musolino, M. G.; Milone, C., Visco, A. M., & Di Mario, A.; Mechanism of 2,4-dinitrotoluene hydrogenation over Pd/C; *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 95(3), 235–241. doi:10.1016/1381-1169(94)00002-6 (1995.)
- [28] 熊江林王锐吴灵英刘玉兰; A kind of detection method of 2,4-DNT toxicity; Google Patents; CN109085331A (2018.), (szabadalom)
- [29] <https://technologia.chem.elte.hu/hu/zoldkemialabor/GCalap.pdf> (2024.11.02.), (on-line hivatkozás)

[30] <https://tamop412a.ttk.pte.hu/files/kemia7/www/ch07s02.html> (2024.10.22.), (on-line hivatkozás)

[31] <http://gyemantmisi.atw.hu/szerveslabor/tetelek/gc.pdf> (2024.10.21.), (on-line hivatkozás)

[32] Clarissa, C.; Cynthia, C.; Katelynn, A. P. U.; Observation of chromatographic differences by non-specialist viewers for one-dimensional gas chromatography and comprehensive two-dimensional gas chromatography output; Forensic Chemistry Volume 41; 100620 (2024.)

[33] Matthias, G.; Roland, B.; Comparison of carrier gases for the separation and quantification of mineral oil hydrocarbon (MOH) fractions using online coupled high performance liquid chromatography-gas chromatography-flame ionisation detection; Journal of Chromatography A Volume 1726; 464946 (2024.)

[34] Mir, A. F.; Zahra, F.; Mehri, B. A.; Mohammad, R. A. M.; Determination of releasing plasticizers from dental floss using ultrasound-assisted extraction-dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-flame ionization detector; Microchemical Journal Volume 195; 109363 (2023.)

[35] Oscar C.-M.; Ricardo, L.; Ignacio, O.; Vicente, F.; A two-run heart-cut multidimensional gas chromatography method using flame ionization and mass spectrometry for automated and robust determination of nearly complete wine aroma-volatile profiles; Journal of Chromatography A Volume 1713; 464501 (2024.)

[36] <https://reefrecovery.org/hu/a-l%C3%A1ngioniz%C3%A1ci%C3%B3s-detektor/> (2024.10.21.), (on-line hivatkozás)

[37] <https://www.airproducts.hu/applications/flame-ionization-detector#:~:text=A%20l%C3%A1ngioniz%C3%A1ci%C3%B3s%20detektor%20%28FID%29%20haszn%C3%A1lata%20a%20petrolk%C3%A9miai%2C%20a,molekul%C3%A1k%20oxid%C3%A1l%C3%A1s%C3%A1hoz%2C%20%C3%A9s%20elektromosan%20t%C3%B6lt%C3%B6tt%20r%C3%A9szecsk%C3%A9ket%20%28ionokat%29%20termelnek> (2024.11.14.), (on-line hivatkozás)

[38] Bencsik Ottó: Fonalas gombák másodlagos metabolit-termelésének tanulmányozása (Doktori értekezés), Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar Mikrobiológiai Tanszék, (2017.)