

Kísérlettervezés alkalmazása tej acetontartalom FIA-eljárással történő meghatározásának optimalizálására*

Baticz Orsolya, Kemény Sándor¹, Vida László² és Tömösközi Sándor

Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem
Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

¹ Vegyipari Műveletek Tanszék

² Kémiai Technológia Tanszék

Érkezett: 2000. november 20.

A kísérletek tervezésének általános értelemben vett célja minden esetben az, hogy a vizsgálat tárgyát képező objektumról közvetlenül vagy közvetve hasznosítható információt szerezzünk. A megismerés tárgya, az objektum, sokféle lehet: egy rendszer, egy folyamat, egy berendezés stb. Azonban bármilyen objektummal álljunk is szemben, a megismerési folyamat – vagyis a kísérletek célszerű megtervezése, azok végrehajtása és kiértékelése – nem egyszerűen matematikai-statisztikai tevékenység, hiszen nem ún. „fekete dobozat” vizsgálunk, hanem olyan rendszereket tételezünk fel, melyek működése sokféle ismert vagy megismerhető, gyakorta általunk is befolyásolható tényező (faktor) hatásának függvényeként értelmezhető. Így minden esetben szükségünk van a műszaki és a matematikai-statisztikai gondolkodás együttes alkalmazására.

Munkánk során a kísérlettervezést optimalizációs céllal alkalmaztuk. Az optimalizandó objektum egy analitikai eljárás, az acetontartalom tejből, gázdifúzióval kombinált áramló injektációs analitikai (flow injection analysis, FIA) módszerrel történő meghatározása volt. Először meg kellett ismerkednünk rendszerünk működésével, ami az analitikai mérőrendszer működését leíró matematikai modell megalkotását jelentette. A rendszer működése nagyon leegyszerűsítve úgy képzelhető el, mintha egy többváltozós matematikai függvény (ún. célfüggvény) lenne: pl.:

$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_{12}x_1x_2 + \dots$, ahol Y az általunk meghatározott függő változó (pl. az analitikai jel intenzitása), x_i független változók vagy faktorok, amelyekről Y értéke függ (pl. hőmérséklet, koncentráció), b_i együtthatók pedig a faktorok hatásának nagyságára jellemző számértékek.

* A XIII. Élelmiszer Minőségellenőrzési Tudományos Konferencián (2000. október 25-26., Székesfehérvár) elhangzott előadás alapján.

Amennyiben e matematikai modellt optimalásra kívánjuk felhasználni, a célfüggvény függő változójának maximumát (vagy pl. ha a reagensfogyasztás a választott függő változó, akkor minimumát) keressük, melyhez a faktorok e szempontból optimális beállítási értékei (faktorok szintjei) tartoznak. A faktorok természetesen nemcsak mennyiségi lehetnek, vannak ún. minőségi faktorok is.

A rendszer valamely választott szempontból optimális beállítási szintjeinek meghatározásához több út is vezet. Az egyik lehetséges és gyakorta alkalmazott megoldás az ún. „lépésről lépésre optimalás”. Ilyenkor egyszerre mindig csak egy faktor beállítási szintjét változtatjuk kísérletről kísérletre, miközben a többi faktor szintjét állandó értéken tartjuk. Ez a megoldás csak nagyon sok kísérlet elvégzésével vezet el biztosan az optimumig, és a szükséges kísérletek számát (a kísérletek száma a faktorok számának exponenciális függvénye) sem lehet előre megállapítani. A másik lehetőség az ún. „egyterves optimalás”, melynél a faktorok összes lehetséges beállítás-kombinációjánál elvégezzük a kísérleteket (ún. „teljes kísérleti tervet” hajtunk végre). Amennyiben pl. 3 két szinten (alsó és felső szint) értelmezett faktorunk van, összesen 2^3 , vagyis 8 kísérletet kell elvégezni, de a siker – amennyiben a lényeges faktorok kiválasztása helyes volt – garantált. Ha több faktorunk van, ráadásul nemcsak két, hanem több szinten, a kombinatorika szabályainak megfelelően természetesen nő az elvégzendő kísérletek száma. Ennek megfelelően a vázolt módszer alkalmazhatóságát korlátozza, ha nagyon sok és/vagy több szinten értelmezett faktossal kell dolgoznunk. A harmadik lehetőség a fokozatos, ún. „kéttterves optimalás”. Ebben az esetben először az összes, első megközelítésben lényegesnek tartott faktossal egy alkalmasan választott, ún. „részfaktortervet” hajtunk végre úgy, hogy a faktorok szintjeit a különböző beállítás-kombinációk esetén egyszerre változtatjuk – így egy-egy elvégzett kísérlet minden változó hatásáról ad információt – és csak bizonyos beállítás-kombinációknál végezzük el a kísérleteket. A részterv eredményeinek függvényében csökkenthető a faktorok száma, vagyis kiválaszthatók azok, amelyek valóban lényeges hatást gyakorolnak a választott célfüggvény függő változójának értékére. Ezután a már kevesebb számú faktossal teljes kísérleti tervet végrehajtva az optimális beállítási szintek kevesebb kísérletből, gyorsan meghatározhatók.

A vázolt eljárások közötti választást minden esetben az idő- és költségráfordítások, valamint a velük nyerhető információtartalom figyelembevételével egyedileg kell mérlegelni. Azt viszont nem szabad figyelmen kívül hagyni, hogy a megalkotott matematikai modell helyességét ellenőrző vizsgálatok elvégzésével is alá kell támasztani.

Kísérleteink célja az volt, hogy a tejelő tehenek energiaegyensúly-megbomlással járó betegségének (ketózis) előrejelzésére alkalmazható acetontartalom nyerstejből való meghatározására szolgáló automatizált FIA módszer optimális beállításait meghatározzuk.

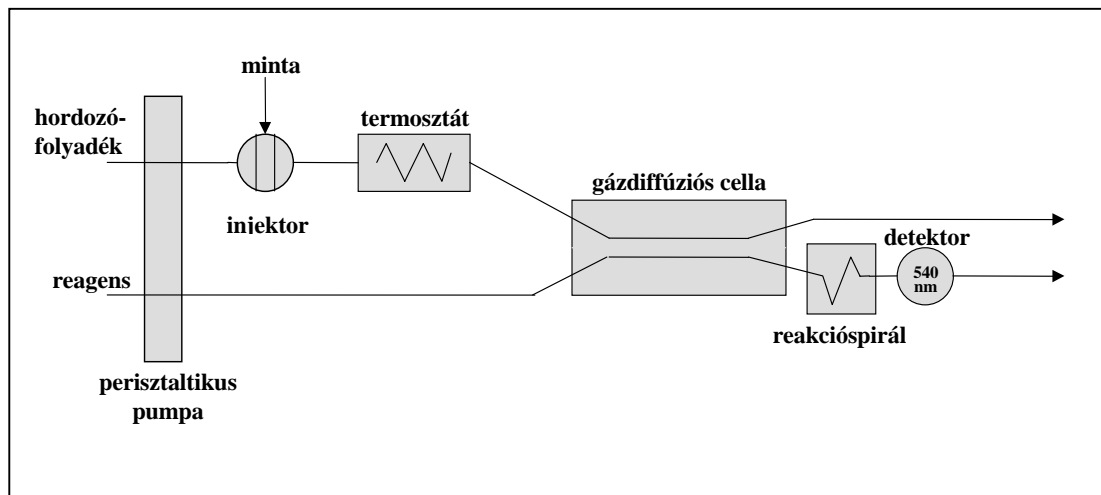
A nyerstej vizsgálati mintákat a gödöllői Állattenyésztési és Teljesítményvizsgáló Kft. bocsátotta rendelkezésünkre. A kísérleti tervek elkészítését, az eredmények matematikai statisztikai feldolgozását, valamint a módszervalidálás során a mérési eredmények statisztikai kiértékelését a Statistica 5.5 for Windows (StatSoft, USA) szoftverrel végeztük el.

FIA-módszer

Kísérleti munkánk során egy áramló injektációs (FIA) elven működő mérési eljárást adaptáltunk [1], fejlesztettünk tovább és validáltunk, amely alkalmas automatikus eljárással a nyerstejek acetón-koncentrációjának meghatározására. A mérőrendszer felépítését az 1. ábra, az alkalmazott reagenseket és az alapbeállításokat az 1. táblázat tartalmazza. A vizsgálati módszer az acetón és a hidroxil-amin között lejátszódó oximálási reakción alapul. Az acetón illékonyasága következtében a hordozófolyadékból a gázdifúziós membránon keresztül a hidroxil-amint tartalmazó reagensáramba diffundál, ahol a lejátszódó kémiai reakcióban az acetonnal ekvivalens mennyiségben keletkező sósav eltolja a reagens pH-ját. A reagens pH-változása sav-bázis indikátor alkalmazásával kolorimetriásan detektálható.

1. táblázat: A FIA-mérőrendszer alapbeállítása

Paraméter	Alapbeállítás	
Injektált mintamennyiség	200 ml	
Hordozófolyadék	2,0 ml/perc	1,2 g l ⁻¹ 30 %-os Brij 35-öt tartalmazó foszfát puffer (0.1 mol l ⁻¹ , pH=7)
Reagens	1,5 ml/perc	100 ml metilnarancs indikátor törzsoldat (0.25 g l ⁻¹) és 150 ml hidroxil-amin törzsoldat (20 g l ⁻¹) desztillált vízzel 1000 ml-re hígítva
Detektálás	540 nm	
Ciklusidő	80 s	
Reakcióspirál	0,5 x 60 cm	
Termosztát	80 °C	



1. ábra: A FIA-mérőrendszer felépítése

GC-módszer

A FIA gyorsvizsgáló módszerrel kapott mérési eredmények referenciamódszerrel történő összehasonlításához gőztérből történő mintavétellel működő (headspace) gázkromatográfiás mérőrendszert alkalmaztunk [2]. A gázkromatográfiás meghatározási módszer körülményeit a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A GC-mérőrendszer alkalmazott paraméterei

Paraméter	Beállítás
Analitikai oszlop	Porapack Q
Oszlophőmérséklet	izoterm, 175 °C
Mintavétel	headspace
Mintavevő hurok	3 ml
Belső standard	etil-metil-kezon
Detektor	FID
Detektor hőmérséklet	120 °C
Hordozógáz	He

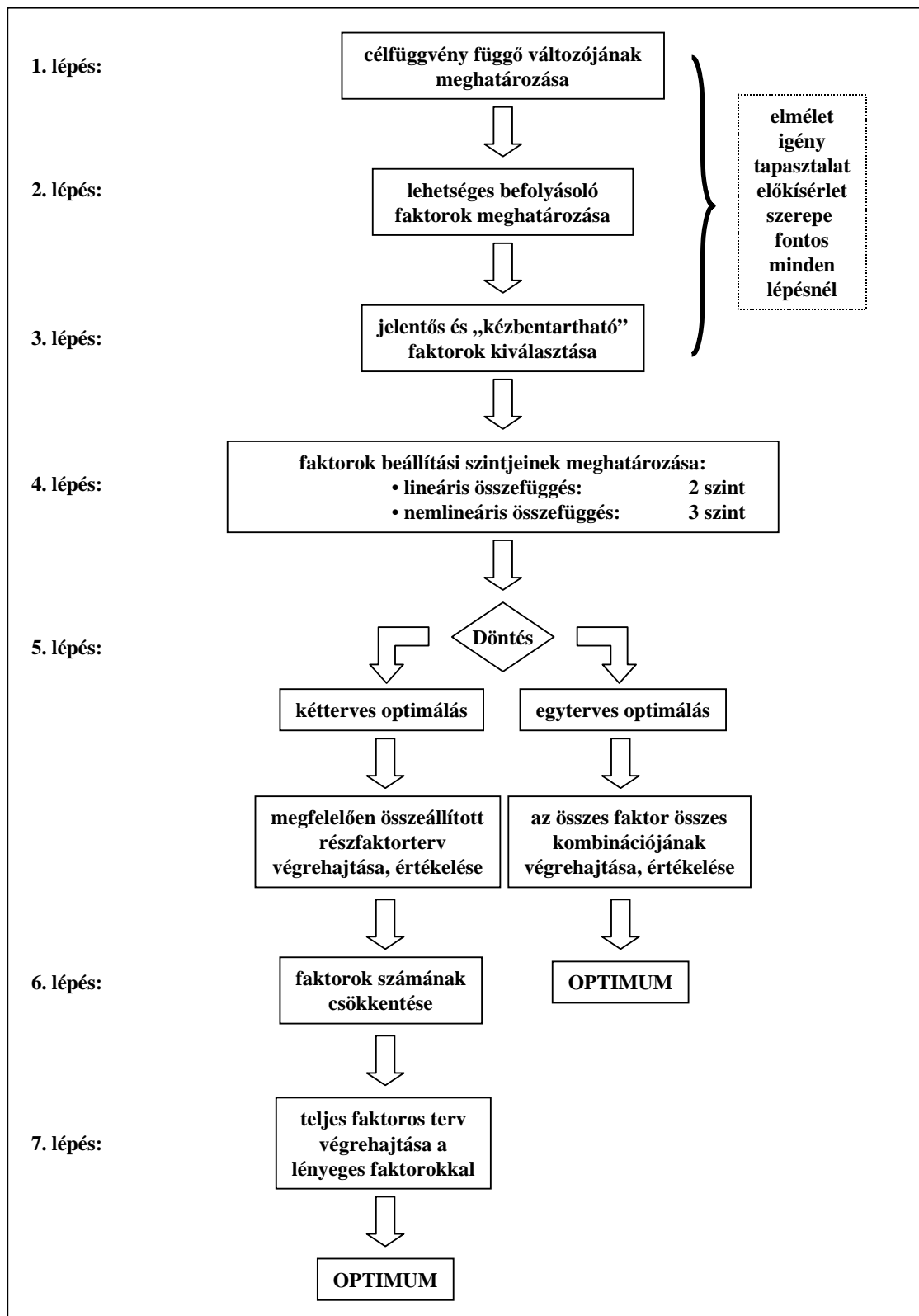
A FIA-módszer optimalálása

Az optimalálási eljárás általános lépéseit a 2. ábrán foglaltuk össze. A konkrét alkalmazási példát az ábrán látható lépéseknek megfelelően mutatjuk be.

1. lépés: A célfüggvény meghatározása

FIA mérőrendszerünk vizsgálatánál célfüggvényként a megfelelő jelalak mellett maximális analitikai jelintenzitás (540 nm-en mérhető abszor-

bancia) elérését (érzékenységnövelés) választottuk, lehetőleg minél rövidebb ciklusidő (kisebb analízisidő és kevesebb reagensfogyasztás) felhasználása mellett.



2. ábra: Az optimalálás általános lépései

2. lépés: Lehetséges befolyásoló faktorok meghatározása

A független változókat faktoroknak nevezik, beállítási értékeiket pedig szinteknek. Azt feltételezzük, hogy e szinteket pontosan be tudjuk állítani, ami gyakorlatilag azt jelenti, hogy beállításunk bizonytalansága elhanyagolható ahhoz az intervallumhoz képest, amelyben értéküket változtatjuk.

Az analitikai rendszerről előzetesen szerzett ismeretekre, előkíséreltekre, valamint elméleti megfontolásokra támaszkodva sorba vettük valamennyi, a célfüggvényre feltételezhetően befolyással bíró faktort, melyek a vizsgálat tárgyát képező FIA-rendszer esetén a következők:

- környezeti hőmérséklet,
- környező levegő relatív páratartalma,
- légnyomás,
- termosztálás hőmérséklete,
- termosztálás ideje,
- minta minősége,
- minta injektálási mennyisége,
- hordozófolyadék kémiai összetétele,
- reagens kémiai összetétele,
- hordozófolyadék térfogatárama,
- reagens térfogatárama,
- gázdifúziós membrán minősége,
- reakcióidő,
- személyzet,
- egyéb előre nem jelezhető hatások.

3. lépés: Jelentős és „kézbentARTHató” faktorok kiválasztása

A következő munkafázisban a fenti faktorok köre elméleti úton került redukálásra: elhagyhatók azok a faktorok, amelyeken nem célszerű változtatni (pl. kémiai összetétel), valamint azok, amelyek a laboratórium felszereltségi szintjén nem tarthatóak kézben (pl. környezeti tényezők), vagyis szintjeiket nem lehetséges beállítani.

Ezután a következő elméleti megfontolásokra támaszkodva végiggondoltuk a maradék faktorok lehetséges hatásait abból a célból, hogy a hatásuk becsléséhez szükséges beállítási szintjeiket meghatározzuk:

- Termosztálás: a hordozófolyadék és így a minta hőmérsékletének növelésével a diffúziósebesség – a diffúziós együttható hőmérsékletfüggése miatt – általában nő. Magasabb termosztálási hőmérsékletet választva tehát valószínű, hogy az analitikai jel intenzitása növekszik. Túl magas hőmérsékleten az oldatban buborékok

- keletkezhetnek, melyek a gázdifúziós membránon keresztül a reagensáramba jutva a detektálást lehetetlenné tehetik.
- Minta minősége: a tejes acetondolat a vizes oldathoz képest eltérő fizikokémiai közeg, ezért várható, hogy a kétféle közegben a diffúzió sebessége különböző lesz, amely a jel alakját, intenzitását befolyásolhatja.
 - Minta koncentrációja: a nagyobb mennyiségű acetont tartalmazó oldat bizonyosan magasabb csúcsot ad.
 - Hordozófolyadék minősége: az előkísérletek során kiderült, hogy az irodalmi hivatkozásban alkalmazott, detergenst tartalmazó foszfát puffer a deklarált 1 hónappal szemben csak 1-2 napig stabil. Az instabil oldat koncentrációarányosan ugyan, de csökkenti a jelintenzitást, alacsony koncentrációtartományokban ($0,5 \text{ mmol l}^{-1}$ alatt) pedig ugyancsak koncentrációarányos, de negatív jelet ad. Ez úgy kerülhető el, hogy a pufferoldat azonos mennyiségű detergenst tartalmazó desztillált vízzel kell majd helyettesíteni.
 - Injektált minta mennyisége: a rendszerbe kerülő minta mennyiségének növelésével a várható jelintenzitás növekszik, azonban túl nagy mennyiségű mintát alkalmazva az analitikai jel torzulása (jelszélesedés, „kettős csúcs” probléma léphet fel) várható, ami magával hozza a szükséges ciklusidő növekedését is.
 - Hordozófolyadék és reagens térfogatáramai: feltehető, hogy a mérőrendszerben e kettő aránya az, ami a leginkább befolyásolja a jelintenzitást és a jelalakot. A kontrollált diszperzitású FIA-rendszerben uralkodó lamináris-közeli áramlási viszonyokat feltételezve, a mintát tartalmazó hordozófolyadék és a reagens a gázdifúziós celláig közelítően dugószerűen áramlik. Ott azonban azonos térfogat áll mindkettő rendelkezésére, amely térfogatokat a gázdifúziós membrán választja el. Ilyen körülmények között a gázdifúzió határfoka elméletileg jobb, ha a hordozófolyadék a reagensáramhoz képest lényegesen nagyobb térfogatárammal rendelkezik. A hordozófolyadékot nagyobb, a reagenst kisebb térfogatárammal áramoltatva a reagens cellában eltöltött tartózkodási ideje nő meg, ami a jelintenzitás növekedését elősegítheti. Túl nagy tartózkodási idő azonban a jelalak torzulását és a periódusidő növekedését eredményezheti.
 - Reakcióspirál hossza: amennyiben a reakcióspirál hosszát növeljük, ugyancsak nő a tartózkodási idő, ami elméletben az analitikai jelet szolgáltató kémiai reakció reakcióidejét növeli. Mivel az áramló oldatos rendszerekben (az analitikai reakciónál megfelelően nagy kezdeti

reakciósebességet feltételezve) a reakciókat sosem hagyjuk eljutni az állandósult (steady state) állapotig, a reakcióspirál hosszának, vagyis a reakcióidőnek a növelése a jelintenzitás növekedéséhez vezet. Túl nagyra választva a tartózkodási időt, az előbb említett problémák itt is megjelenhetnek.

A felsorolásra került faktorok egyedi hatásain (főhatások) kívül természetesen ezek bármilyen kombinációjának hatása (interakciók) is jelentős lehet.

Az előzetes ismeretek, előkíséretek és a fenti megfontolások szerint a jelintenzitás alakulására elméletileg a következő faktoroknak lehet jelentős hatása:

- F1: termosztálás,
- F2: minta minősége,
- F3: minta koncentrációja,
- F4: hordozófolyadék minősége,
- F5: injektált minta mennyisége,
- F6: hordozófolyadék térfogatárama,
- F7: reagens térfogatárama,
- F8: reakcióspirál hossza.

Elvégzendő kísérleteinknél tehát ezek valódi hatását kell tisztázni.

4. lépés: A faktorok beállítási szintjeinek meghatározása

Amennyiben a célfüggvény függő változója és a faktor hatása között lineáris összefüggést tételezünk fel, a faktorokat elég két szinten vizsgálni, míg nemlineáris összefüggés feltételezése esetén minimum 3 szinten szükséges a beállítások vizsgálata. A FIA-mérőrendszerben a rendszer az egyes elemek változtathatósága korlátozott, a kiválasztott faktorok beállítási szintjei csak bizonyos, diszkrét értékeket vehetnek fel. Ennek megfelelően a faktorok általunk választott szintjei a következők:

Kétszintes faktorok:

- F1: termosztálás (2 szint: 50 és 90 °C),
- F2: minta minősége (2 szint: vizes oldat és tejes oldat),
- F3: minta koncentrációja (2 szint: 1 és 5 mmol l⁻¹),
- F4: hordozófolyadék minősége (2 szint: desztillált víz és foszfát puffer).

Háromszintes faktorok:

- F5: injektált mintamennyiség (3 szint: 100, 200 és 300 ml),
- F6: hordozófolyadék térfogatárama (3 szint: 1,2, 1,5 és 2,0 ml/perc),
- F7: reagens térfogatárama (3 szint: 0,8, 1,2 és 1,5 ml/perc),
- F8: reakcióspirál hossza (3 szint: 30•0,5, 60•0,5 és 90•0,5 cm).

5. lépés: Döntés: egyterves vagy kétterves optimálás?

A kiválasztott faktorokkal megvalósítandó „egyterves optimáláshoz” szükséges teljes faktoros kísérleti terv (4 kétszintes és 4 háromszintes faktorról végrehajtható terv) összesen 1296 kísérlet elvégzését kívánna meg. Tekintetbe véve, hogy a felsorolt főhatásokon kívül egyéb (idővel változó és itt figyelembe nem vett) hatások is megjelenhetnek, a kísérletek sorrendjét célszerű random módon választani. Ezt azonban a következő korlátozza:

Az általában 100 másodperc körüli ciklusidőt, a beállításokhoz szükséges szerelési időt, valamint a termosztát felmelegítéséhez és lehűléséhez szükséges időt figyelembe véve a kísérletek csak minimum 2,5 hónap alatt (1 személynek 5 napos munkahéttel számolva napi 8 órás munkaidőben) lennének elvégezhetőek, ami túl hosszú időtartam. Ugyanis a környezeti és egyéb körülmények ez idő alatt jelentősen megváltozhatnak, ami kerülendő, és amelyek nehezen azonosítható hatásokat jelenthetnek.

A teljes faktoros terv helyett részfaktortervet (1/8-os terv: 162 kísérlet) alkalmazva a kísérletek elvégzéséhez szükséges idő kb. 1 hétre csökkenthető úgy, hogy a teljes randomizálás helyett előbb az alacsonyabb, majd a magasabb hőmérsékleten elvégzendő kísérleteket végezzük el úgy, hogy a termosztát felfűtési/lehűlési idejét ne kelljen minden kísérlet előtt kivárni (időbeli korlátozás). Ez természetesen bizonyos információvesztéssel járhat, azonban lényegesen gyorsabban kapunk eredményt.

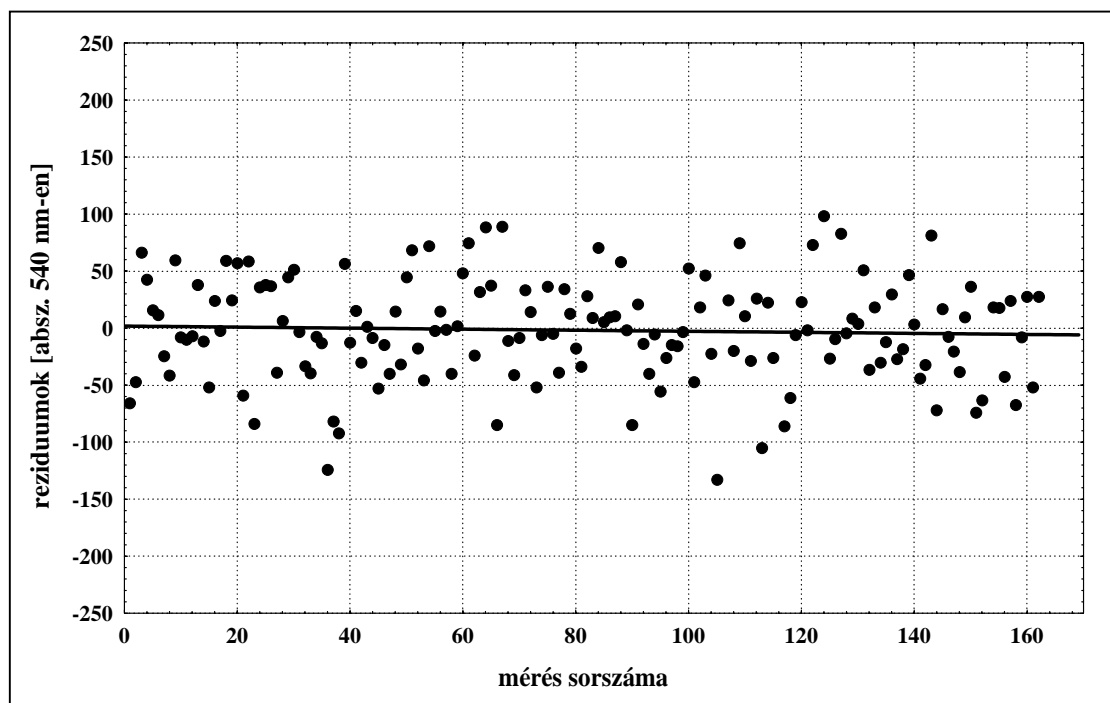
A kiválasztott 1/8-os kísérleti terv előnyei tehát összefoglalva:

- az összes kísérleteknek csak az 1/8-át kell elvégezni (1296 helyett 162 kísérlet),
- faktorok hatásai és kölcsönhatásaik megismerhetőek,
- faktorok száma várhatóan néhány jelentősre csökkenthető.

A kísérletek elvégzése előtt azonban fontos tisztázni, hogy az összeállított részterv végrehajtása milyen információvesztéssel jár: mely hatások vizsgálhatók tiszta formában és melyek azok a hatások, amelyek a faktorok egyszerre történő változtatása, valamint a statisztikai program kiválasztási algoritmusa miatt keveredhetnek egymással. Ezért megvizsgáltuk, hogy az egyes faktorok, illetve kölcsönhatásaik keveredése milyen mértékű lehet. A vizsgálat eredményei szerint egyetlen keveredés sem haladta meg a 11%-ot, ami azt jelenti, hogy az egyik hatásban jelenlevő másik hatás sehol sem nagyobb, mint 11%, vagyis nincs jelentős keveredés.

A tervben meghatározott kísérletek végrehajtása után a reziduumokat (a mért és számított értékek eltérései) a kísérletek sorszámának (1-162)

függvényében vizsgálva a 3. ábrán látható képet kaptuk. A mérések sorrendjében vizsgálva az eltéréseket a pontoknak nincs menete, tehát valószínű, hogy nem jelentkezett a kísérletsorozatban előre nem várt, időfüggő hatás. Ez összecseng a gázdifúziós membrán változását vizsgáló előkísérletekkel, ahol a membránt hosszú időn keresztül túlterhelve sem állapítható meg abszorbancia változás, bár elvileg elképzelhető a membrán öregedésével (tehát az idővel) együtt járó abszorbancia-csökkenés.

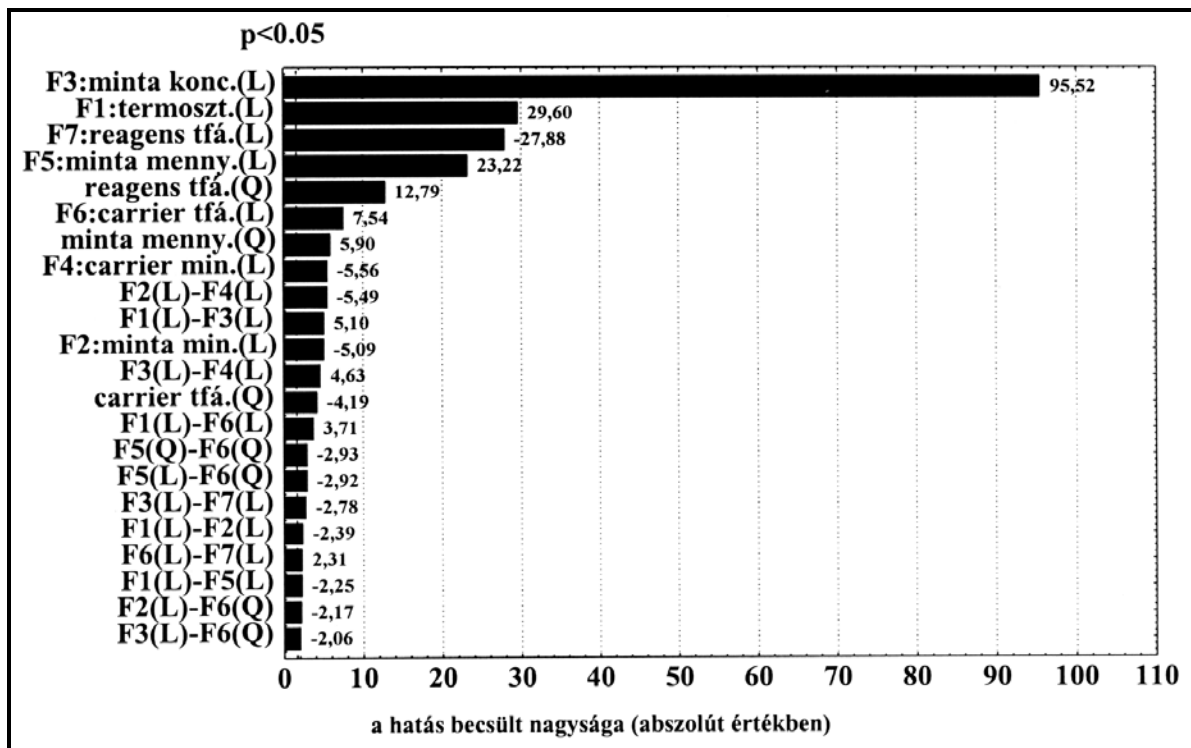


3. ábra: Rezíduumok vizsgálata a mérések sorrendjében az 1/8-os részfaktorterv esetén

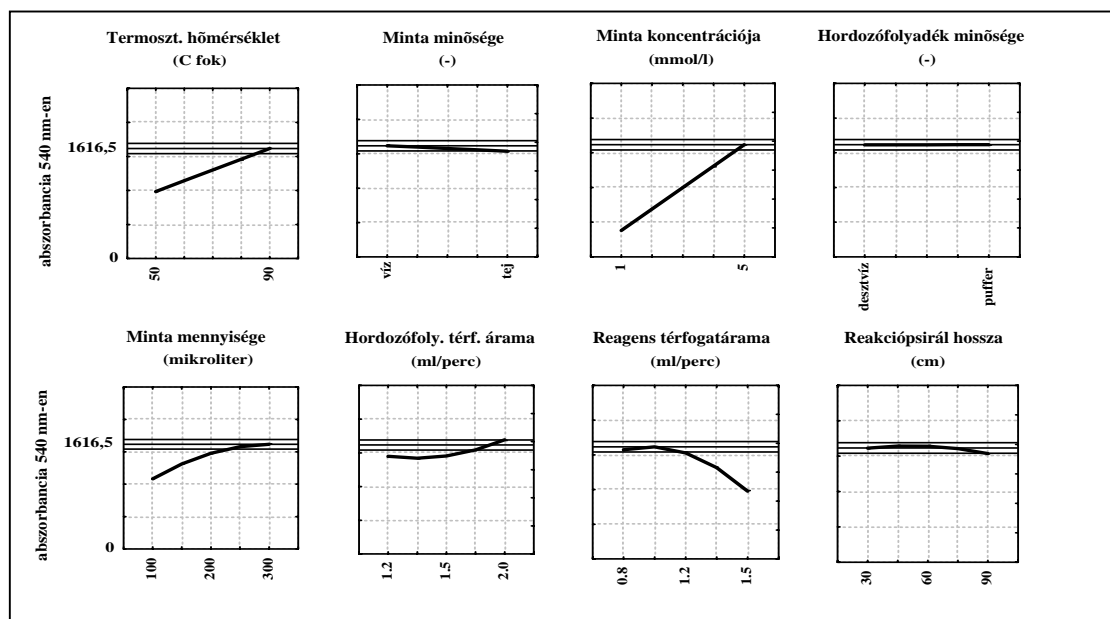
6. lépés: A faktorok számának csökkentése

A hatásokra t-próbát végezve, a szignifikáns hatások és kölcsönhatások kiválaszthatóak voltak az összes vizsgált hatás és interakció közül. A 4. ábrán az egyes szignifikáns hatások – az ún. Pareto-diagramon ábrázolva – abszolút értékeik szerinti sorrendben szerepelnek.

Az 5. ábráról leolvashatók a vizsgált faktorok résztervben megismert hatásai. Az ábrán láthatók szerint a minta és a hordozófolyadék minőségének, valamint a reakcióspirál hosszának nincs jelentős hatása a jelintenzitásra. Amint az várható volt, a mintaoldat koncentrációja és a termosztálási hőmérséklet hatása igen jelentős, és a várakozásnak megfelelő. A hordozófolyadék térfogatárama legyen minél nagyobb, míg a reagens térfogatáramát érdemes alacsony szinten tartani.



4. ábra: Az 1/8-os kísérleti tervben szignifikáns hatások Pareto-diagramja (L: lineáris kölcsönhatás, Q: négyzetes kölcsönhatás)



5. ábra: Az 1/8-os részterv eredményei

7. lépés: A teljes faktoros terv végrehajtása

A részterv végrehajtásával nyert információk alapján kiválaszthatók a lényeges főhatásokért felelős faktorok. Mivel a résztervvel a faktorok hatásának keveredése miatt csak közelítőleg adható meg azok iránya, valamint a többi hatáshoz és interakcióhoz viszonyított nagysága, szükség volt a kiválasztott faktorok – immár

információvesztés nélküli – hatásának tisztázására. Ez egy teljes faktoros terv végrehajtásával végeztő el. A termosztálás és a mintakoncentráció hatásáról a részterv alapján egyértelműen bebizonyosodott, hogy egyenes arányban állnak az analitikai jel intenzitásával, így ezeket a továbbiakban már nem kellett vizsgálni. Az analitikai jel további növelését megcélózva és a FIA lehetőségeit teljesen kihasználva, határozhatók meg a térfogatáramok beállítási szintjei. A tervben alkalmazott beállítások a következők voltak:

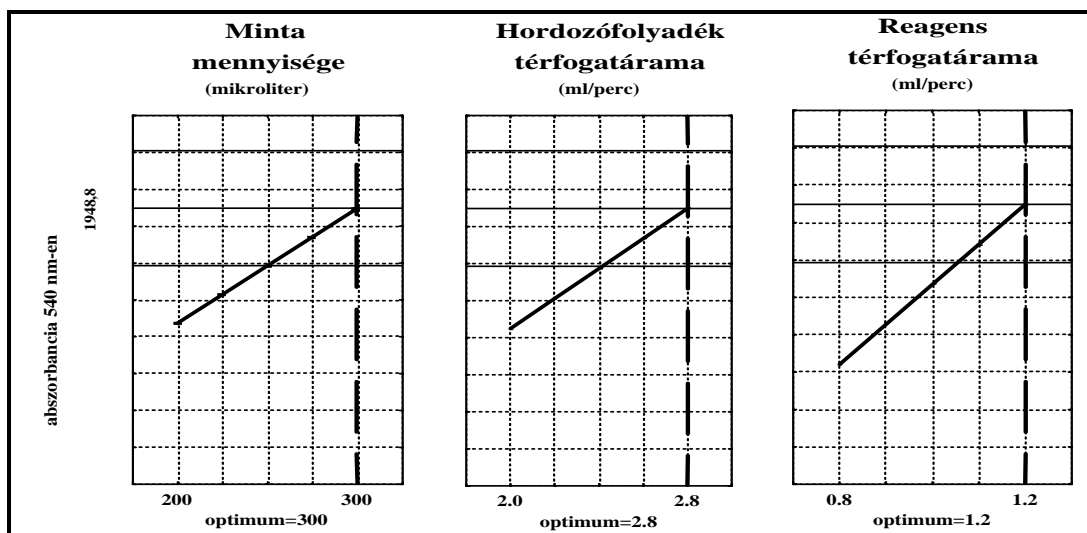
Állandó beállítások:

- termosztálás (90 °C),
- minta minősége (vizes oldat),
- minta koncentrációja (5 mmol l⁻¹),
- hordozófolyadék minősége (desztillált víz),
- reakcióspirál hossza (30×0,5cm).

A vizsgált faktorok:

- F1: injektált minta mennyisége (2 szint: 200 és 300 ml),
- F2: hordozófolyadék térfogatárama (2 szint: 2,0 és 2,8 ml/perc),
- F3: reagens térfogatárama (2 szint: 0,8 és 1,2 ml/perc).

A vizsgálatokat 2 ismétléssel teljes randomizálás mellett végeztük el az 5 mmol l⁻¹-es standard oldattal. A kísérleti terv kiértékelése a részfaktortervnel bemutatott eljárásnak megfelelően történt. A 6. ábra a FIA-mérőrendszer maximális jelintenzitáshoz tartozó (szaggatott vonallal jelzett) optimális paraméter-beállításait mutatja.



6. ábra: Az optimális FIA paraméter-beállítások

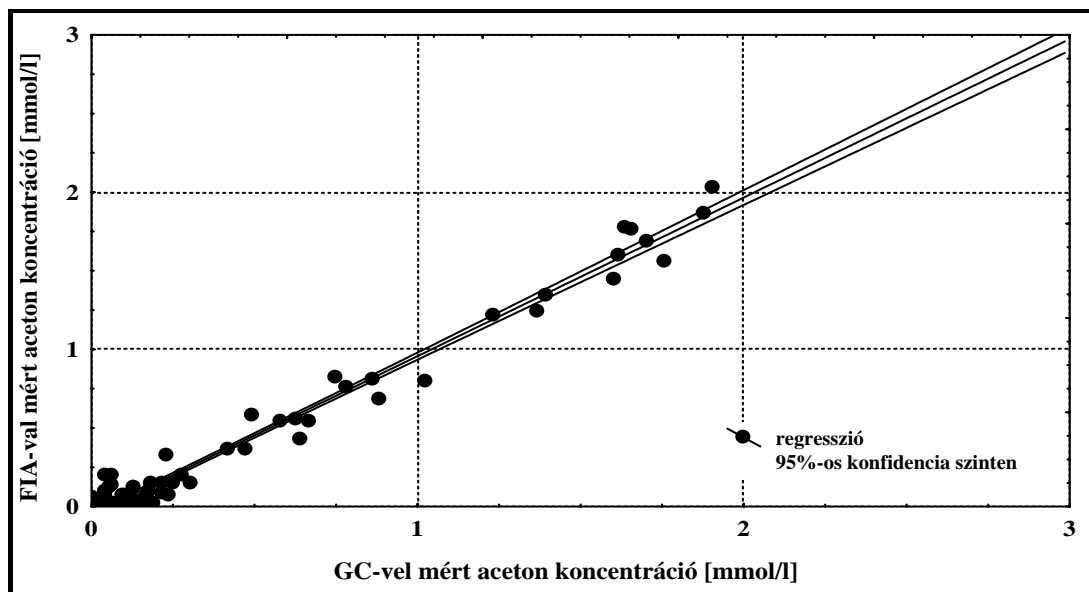
8. lépés: Ellenőrző mérések végzése és 9. lépés: Módszervalidálás

Az optimált FIA mérőrendszer paramétereit az 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat: Az optimált FIA-mérőrendszer paramétereit

Paraméter	Optimális beállítás	
Injektált mintamennyiség:	300 ml	
Hordozófolyadék:	2,8 ml/perc	1,2 g l ⁻¹ 30 %-os Brij 35-öt tartalmazó foszfát puffer (0.1 mol l ⁻¹ , pH=7)
Reagens:	1,2 ml/perc	100 ml metilnarancs indikátor törzsoldat (0,25 g l ⁻¹) és 150 ml hidroxil-amin törzsoldat (20 g l ⁻¹) desztillált vízzel 1000 ml-re hígítva
Detektálás:	540 nm	
Ciklusidő:	70 s	
Reakcióspirál:	0.5 x 30 cm	
Termosztát:	90 °C	

A 5. táblázat a FIA és a GC módszerek módszervalidálási eredményeit tartalmazza. A 7. ábrán a FIA-val és a GC-vel mért eredmények korrelációja látható.



7. ábra: A FIA-val és a GC-vel mért aceton koncentrációk összehasonlítása nyerestej mintákra (korrelációs koefficiens: 0,991)

A kiválasztott és végrehajtott „kétterves optimálás” nyújtotta előnyök röviden a következőkben foglalhatók össze:

- az „egyterves optimálás”-hoz viszonyítva a szükséges költségek, idő kb. egynolcadára csökkent,
- a „lépésről lépésre” optimáláshoz képest a költség- és időszükséglet a töredékére redukálódott,
- az irodalmi FIA-beállítással (alapbeállítás) összehasonlítva mintegy 20 %-os érzékenységjavulás érhető el a ciklusidő több mint 10 %-os csökkenése mellett.

5. táblázat: A módszervalidálások eredményei

Vizsgált paraméter	FIA	GC
mennyiségi meghatározás határa (mmol•l ⁻¹)	0,03	0,01
lineáris tartomány (mmol•l ⁻¹)	0-10	0-10
kimutatási határ (mmol•l ⁻¹)	0,01	0,005
kalibráció	minden mérési sorozat előtt	csak kalibráció-ellenőrzés
érzékenység (kalibrációs egyenes meredeksége)	225,9 ± 4,74 (abszorbancia/mmol l ⁻¹)	0,453 (területarány/mmol l ⁻¹)
az analitikai meghatározás hibája (SD %)	-	<1
reprodukálhatóság (SD %)	<2,2	<2,0
szelektivitás	szelektív	szelektív
pontosság (átlagos visszanyerés %)	103,8	100,5
mintaelőkészítés	csak homogenizálás	csak homogenizálás
időszükséglet (perc/minta)	1,5	15
költség (USD/minta)	0,2	5

A két módszerrel kapott nyerstejvizsgálati eredmények igen jól korreláltak egymással; a különböző analitikai módszerrel mért eredmények között szignifikáns eltérés nem mutatkozott. Ebből az a következtetés vonható le, hogy a FIA-módszer alkalmas alternatívája a pontos, precíz és megismételhető, de lényegesen drágább és időigényesebb kromatográfiai eljárásnak.

A gyakorlatban eddig alkalmazott optimálási technikákhoz képest az idő- és költségigény töredékét használtuk fel a vizsgált analitikai eljárás optimális beállításának meghatározásához.

IRODALOM

- [1] Von Diekmann, L., Pabst, K. és Gravert, H. O.: Routinebestimmungen des Acetons in Milch in der Fließinjektionsanalyse. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, **38** (1986)
- [2] Baticz, O., Vida, L. és Tömösközi, S.: Determination of acetone in cow's raw milk by flow injection and gas chromatographic methods. Acta Alimentaria, **30** (2001)