

LATVIJAS UNIVERSITĀTE
ĶĪMIJAS FAKULTĀTE

ANALIZĒJAMO ŠĶĪDUMU PAGATAVOŠANA AR
GRAVIMETRISKO ATŠĶAIDĪTĀJU

MAĢISTRA DARBS

Autore: Daiga Mieriņa

Studenta apliecības Nr.: dm16030

Darba vadītājs SIA “*Faneks*” : Dr.habil.chem. Viktors Šatcs

Darba vadītājs Latvijas Universitātē: Dr.chem.prof. Arturs Vīksna

RĪGA

2018

ANOTĀCIJA

Analizējamo šķīdumu pagatavošana ar gravimetrisko atšķaidītāju. Mieriņa D., zinātniskie vadītāji, Dr.habil.chem. Viktors Šatcs, Dr.chem. prof. Arturs Vīksna. Maģistra darbs, 68 lappuses, 34 attēli, 29 tabulas, 29 literatūras avoti, 3 pielikumi. Latviešu valodā.

Literatūras daļā ir apkopota informācija par volumetriskas paraugu pagatavošanas kļūdu rašanās faktoriem un gravimetriskas paraugu pagatavošanas efektivitāti, sniegts neliels ieskats par mūsdienu tirgū pieejamajiem gravimetriskajiem dozatoriem.

Ekspimentālajā daļā paraugu pagatavošanā izmantoja *SIA Faneks* ražoto gravimetrisko atšķaidītāju "*Verity V2*". Lai salīdzinātu gravimetriskā atšķaidītāja veiktspēju ar analītisko iekārtu izvirzītajām specifikācijām (linearitāti, pareizību un atkārtojamību), gravimertiski pagatavoja paraugus, šķīdinot cietu vielu 50 mL, kā arī atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 un 50 mL. Veikta blīvuma noteikšana ar "*Verity V2*" acetnitrila-ūdens binārajam maisījumam.

Darbā izmantotas elektroniskās datu bāzes un interneta resursi. Apskatītie literatūras avoti ir angļu un vācu valodās, kas izdoti no 1950. līdz 2017. gadam.

GRAVIMETRISKA ŠĶĪDUMU PAGATAVOŠANA, LINEARITĀTE, PAREIZĪBA,
ATKĀRTOJAMĪBA, BLĪVUMA MĒRĪJUMI

ANNOTATION

Gravimetric samples preparation by using analytical gravimetric diluent. Mieriņa D., supervisor leading scientists, Dr.habil.chem. Viktors Šatcs, Dr.chem.prof. Arturs Viksna. Master's thesis, 68 pages, 34 figures, 29 tables, 29 literature references, 3 attachments. In Latvian.

The work contains information about volumetric solution preparation, the causes of errors to obtaining inaccurate results and effectivity of using gravimetric solution preparation, discussed nowadays-available dosing equipment.

In the experimental part, the gravimetric dilutor "*Verity V2*" developed by SIA Faneks was used to gravimetrically prepare samples. To compare the performance of the gravimetric dilutor with the specifications (linearity, precision and repeatability) of the analytical equipment, samples were prepared by dissolving solid sample with target volumes of 50 mL and dissolving caffeine stock solution with target volumes of 50 and 10 mL. With "*Verity V2*" determined also density of acetonitrile-water binar solutions.

The literature sources used in this thesis were obtained from databases and other electronic resources. The sources used were published during the period from 1950. and 2017.

GRAVIMETRIC SOLUTION PREPARATION, LINEARITY, PRECISION,
REPEATABILITY, DENSITY MEASUREMENTS

SATURS

| | |
|---|-----------|
| SAĪSINĀJUMU UN APZĪMĒJUMU SARAKSTS | 6 |
| IEVADS | 7 |
| 1. LITERATŪRAS APSKATS..... | 8 |
| 1.1. Volumetriska analizējamo šķīdumu pagatavošana | 8 |
| 1.1.1. <i>Kļūdu rašanās cēloņi šķīdumu volumetriskā pagatavošanā.....</i> | <i>9</i> |
| 1.2. Gravimetriska analizējamo šķīdumu pagatavošana..... | 12 |
| 1.3. Svēršanas precizitāte..... | 13 |
| 1.3.1. <i>Analītisko svaru rezultātu precizitātes ietekmējošie faktori</i> | <i>14</i> |
| 1.3.2. <i>Mērījumu veikšana ar analītiskajiem svariem.....</i> | <i>15</i> |
| 1.4. Tirgū esošo gravimetrisko atšķaidītāju pārskats..... | 16 |
| 1.4.1. <i>SIA “Faneks” uzbūvētais gravimetriskais atšķaidītājs “Verity VI”</i> | <i>20</i> |
| 1.5. Gravimetrisko atšķaidītāju veiktspēja | 21 |
| 1.5.1. <i>Linearitāte</i> | <i>22</i> |
| 1.5.2. <i>Pareizība.....</i> | <i>22</i> |
| 1.5.3. <i>Atkārtojamība</i> | <i>22</i> |
| 1.6. Gravimetriskas un volumetriskas paraugu pagatavošanas salīdzinājums | 23 |
| 1.6.1. <i>Reālo analītiķu prasme šķīdumu pagatavošanā</i> | <i>23</i> |
| 2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA..... | 26 |
| 2.1. Materiāli un iekārtas | 26 |
| 2.2. Standartšķīduma un izejas šķīduma pagatavošana | 27 |
| 2.3. Gravimetriskais atšķaidītājs..... | 28 |
| 2.3.1. <i>Cietas vielas šķīdināšana ar gravimetrisko atšķaidītāju.....</i> | <i>30</i> |
| 2.3.2. <i>Izejas šķīduma atšķaidīšana ar gravimetrisko atšķaidītāju.....</i> | <i>38</i> |
| 2.4. “Verity V2” veiktspējas izvērtēšana..... | 43 |
| 2.4.1. <i>Gravimetriska paraugu pagatavošana, šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL mērkolbā</i> | <i>43</i> |
| 2.4.2. <i>Gravimetriska paraugu pagatavošana, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL mērkolbā</i> | <i>44</i> |
| 2.4.3. <i>Gravimetriska paraugu pagatavošana, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL mērkolbā</i> | <i>45</i> |
| 2. 5. Augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija | 46 |
| 2.6. Šķīdumu blīvuma noteikšana ar “Verity V2” | 48 |

| | |
|--|-----------|
| 3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS | 50 |
| 3.1. Gravimetriska paraugu pagatavošana šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL | 50 |
| 3.1.1. Linearitātes izvērtēšana..... | 52 |
| 3.1.2. Pareizības izvērtēšana..... | 53 |
| 3.1.3. Atkārtotamības izvērtēšana | 53 |
| 3.2. Gravimetriska paraugu pagatavošana atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL | 54 |
| 3.2.1. Linearitātes izvērtēšana..... | 56 |
| 3.2.2. Pareizības izvērtēšana..... | 57 |
| 3.2.3. Atkārtotamības izvērtēšana | 57 |
| 3.3. Gravimetriska paraugu pagatavošana atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL | 59 |
| 3.3.1. Linearitātes izvērtēšana..... | 60 |
| 3.3.2. Pareizības izvērtēšana..... | 61 |
| 3.3.3. Atkārtotamības izvērtēšana | 62 |
| 3.4. Šķīdumu blīvumu noteikšanas iespējas ar “Verity V2” | 63 |
| SECINĀJUMI..... | 65 |
| IZMANTOTĀ LITERATŪRA | 66 |
| PIELIKUMI..... | 68 |
| 1. pielikums. Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas, veicot kofeīna pulvera šķīdināšanu 50 mL..... | |
| 2. pielikums. Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas, veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 50 mL..... | |
| 3. pielikums. Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas, veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 10 mL..... | |

SAĪSINĀJUMU UN APZĪMĒJUMU SARAKSTS

| | |
|-----------|--|
| AEŠH | Augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija |
| FDA | ASV Pārtikas un zāļu pārvalde |
| GA | Gravimetriskais atšķaidītājs |
| ICH | International Conference on Harmonization (Starptautiskās saskaņošanas konference) |
| ICP-OES | Induktīvi saistītās plazmas optiskās emisijas spektrometrija |
| ICP-MS | Induktīvi saistītās plazmas masas spektrometrija |
| RSN | Relatīvā standartnovirze, % |
| UAEŠH | Ultra augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija |
| USB | Universālā virknes kopne |
| USP | ASV Farmakopeja |
| λ | Viļņa garums, nm |

IEVADS

Zinātnes nozarēm attīstoties, ievērojami uzlabojas analītisko iekārtu veiktspēja, tādējādi samazinot laiku, kas nepieciešams rezultātu ieguvei un apstrādei. Savukārt, analizējamo šķīdumu pagatavošanā lielākā daļā laboratoriju vēl joprojām izmanto klasiskās volumetrijas metodes. Volumetriskas paraugu pagatavošanas pamatā ir cietas vielas šķīdināšana, kā arī izejas šķīduma atšķaidīšana līdz mērķa koncentrācijai, izmantojot noteikta tilpuma mērkolbas. Veicot pētījumus, ir noskaidrots, ka volumetriska šķīdumu pagatavošana aizņem ~ 60% no kopējā laboratorijā pavadītā laika. Volumetrisko paraugu pagatavošanas procesā visizplatītākais nepietiekamas precizitātes rezultātu ieguves iemesls ir laboratorijas darbinieku neuzmanība. Paraugu un standartu volumetriskajā pagatavošanā visplašāk izmanto 50 vai 100 mL mērkolbas, tādējādi palielinot mērķa koncentrācijas precizitāti pagatavotajam paraugam. Savukārt AEŠH vai UAEŠH iekārtas vienas injekcijas laikā izmanto ~ 10-20 μ L no pagatavotā šķīduma, tādējādi vairāk nekā 99 % no analizējamā šķīduma netiek izmantots un izliets atkritumos [1, 2].

Gravimetriska paraugu pagatavošana ir efektīvs analītiskais risinājums ātrākai un precīzākai šķīdumu pagatavošanai. Metodes pamatā ir automatizēta cietu vielu un šķīdumu dozēšana, lai iegūtu paraugus ar precīzi zināmu masas koncentrāciju. Gravimetrijas metode palielina rezultātu ticamību, uzlabo darba kvalitāti, samazina kļūdu rašanās cēloņus paraugu pagatavošanas procesā, ka arī samazina laiku, kas nepieciešams paraugu pagatavošanā. Metode samazina lieko reaģentu patēriņu ~ 75% [2, 3].

Darba mērķis: SIA “Faneks” ražotā gravimetriskā atšķaidītāja “Verity V2” kvalitātes raksturlielumu noskaidrošana un izvērtēšana.

Darba uzdevumi:

- Apkopot informāciju par volumetrisku un gravimetrisku analizējamo šķīdumu pagatavošanu, kā arī izvērtēt minēto metožu kļūdu rašanās iemeslus.
- Gravimetriskā atšķaidītāja pagatavoto šķīdumu linearitātes izpēte dažādos darba apstākļos.
- Gravimetriskā atšķaidītāja pagatavoto šķīdumu pareizības izpēte dažādos darba apstākļos.
- Gravimetriskā atšķaidītāja pagatavoto šķīdumu atkārtotāmības izpēte dažādos darba apstākļos.
- Šķīdumu blīvumu noteikšana ar gravimetrisko atšķaidītāju.

1. LITERATŪRAS APSKATS

Maģistra darbā apkopota vispārīga informācija par volumetriskas paraugu pagatavošanas kļūdu rašanās faktoriem un gravimetriskas paraugu pagatavošanas efektivitāti, sniegts neliels ieskats par mūsdienu tirgū pieejamajiem gravimetriskajiem dozatoriem, kā arī definēti gravimetriskā atšķaidītāja verifikācijas procesā apskatāmie raksturlielumi.

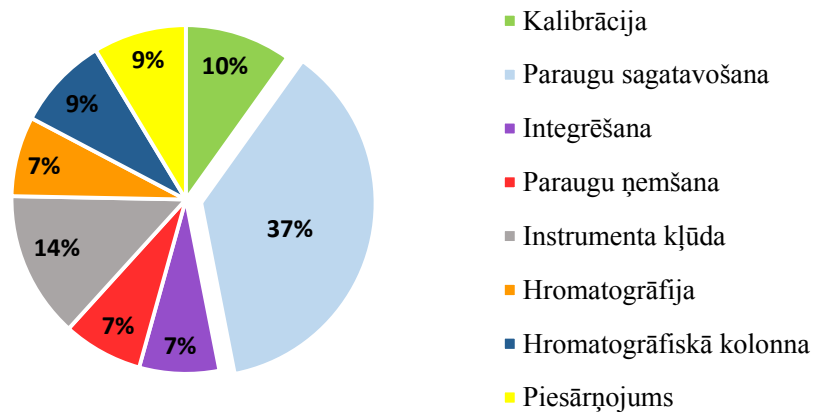
1.1. Volumetriska analizējamo šķīdumu pagatavošana

Volumetriska paraugu pagatavošana mūsdienās ir visplašāk izmantotā metode standartšķīdumu iegūšanā. Metodes pamatā ir šķīduma pagatavošana ar zināmu koncentrāciju, paraugu nosverot uz analītiskajiem svāriem ar precizitāti $\pm 0,00001$ g un atšķaidot līdz noteiktam tilpumam. Volumetriska šķīdumu pagatavošana sastāv no sekojošām tipveida manipulācijām:

1. cietā parauga iesvēršana;
2. iesvara pārnese mērkolbā;
3. vielas izšķīdināšana nelielā šķīdinātāja daudzumā;
4. kad viela ir izšķīdusi, mērkolbu uzpilda līdz atzīmei un samaisa;
5. ja nepieciešams, veic atkārtotu atšķaidīšanu - izejas šķīdumu ar pipetes palīdzību pārnes citā mērkolbā;
6. mērkolbu uzpilda līdz atzīmei un samaisa;
7. ja nepieciešams iegūt vēl lielāku atšķaidījumu, 5. un 6. soli atkārto [2, 4].

Veicot literatūras apskati, var teikt, ka manuālajā paraugu pagatavošanā ir daudz un dažādi kļūdu rašanās avoti. Visizplatītākais zemas precizitātes rezultātu ieguves iemesls ir laboratorijas darbinieku nepietiekamas prasmes vai neuzmanības. Volumetriska paraugu pagatavošana pat pieredzējušam laboratorijas darbiniekam var būt apgrūtināts un ilgstošs process. Iegūtos rezultātus darbinieki dokumentē laboratorijas žurnālā, tādējādi riskējot pārrakstīties. Šāda veida kļūdas ir grūti identificēt un labot [1, 2, 4].

Apļveida diagramma uzskatāmi apkopo un procentuāli parāda visu iespējamo kļūdu rašanās iemeslus volumetriskajā šķīdumu pagatavošanā un datu apstrādes procesā (skat. 1.1. att.) [1, 3].



1.1. att. Kļūdu rašanās avoti volumetriskajā šķīdumu pagatavošanā un hromatogrāfiskās analīzes laikā [1, 3]

No diagrammas uzskatāmi var redzēt, ka volumetrijas metode un volumetriska paraugu pagatavošana 37% gadījumu ienes kļūdainus rezultātus.

1.1.1. Kļūdu rašanās cēloņi šķīdumu volumetriskā pagatavošanā

Precīzu un ticamu rezultātu ieguve ir svarīgs kvalitātes rādītājs ikvienai laboratorijai, tādējādi ir nepieciešams izprast dažādos kļūdu rašanās iemeslus. Izšķir divu veidu kļūdu rašanās iemeslus: sistemātiskas kļūdas un gadījuma kļūdas. Sistemātiska kļūda ir tā mērījuma kļūdas komponente, kas paliek nemainīga vai likumsakarīgi mainās, atkārtoti mērot vienu un to pašu fizikālo lielumu. Savukārt, gadījuma kļūdas ir visi ārējie faktori, kas netieši ietekmē eksperimenta gaitā nosakāmos lielumus. 1.1. tabulā ir apkopotas volumetrijā un gravimetrijā iespējamās sistemātiskās (S) un gadījuma (G) kļūdas paraugu pagatavošanas procesā [1].

1.1. tabula

Sistemātisko un gadījuma kļūdu rašanās cēloņi volumetriskā un gravimetriskā šķīdumu pagatavošanā [1]

| Veicamā darbība | Volumetriska paraugu pagatavošana | Gravimetriska paraugu pagatavošana |
|----------------------------|--|---|
| Mērkolbas izvēle | S-volumetriskā trauka neprecizitāte G-kalibrēšana | - |
| Noteiktās masas iesvēršana | G-svaru neprecizitāte 0,1 % G-drošības faktors 2 | G-svaru neprecizitāte 0,1 % G-drošības faktors 1,5 |
| Parauga pārņemšana | S-neprecīzi nosvērts trauks G-parauga pārņemšana | - |
| Šķīdinātāja pievienošana | G-temperatūras ietekme G-meniskas nolasīšana | - |

Volumetriskajā šķīdumu pagatavošanā biežāk pieļauto kļūdu rašanās avoti:

- Volumetriskie trauki: ja paraugu pagatavošanas procesā izmanto B klases mērkolbas, tad iespējamība iegūt rezultātus ar zemu precizitāti ir lielāka. Iespējamā neprecizitāte, kas var veidoties, izmantojot A klases mērkolbas, ir $> 0,20\%$. Jāpievērš uzmanība arī trauku formai. Precīzāku rezultātu iegūšanai ieteicams ir lietot mērkolbas ar šauru kakliņu un lielāku brīvo tilpumu labākai šķīduma samaisīšanai [5].
- Temperatūra: laboratorijā esošie volumetriskie stikla trauki ir kalibrēti 20°C temperatūrā. Šķīduma temperatūras maiņa eksotermisko vai endotermisko reakciju rezultātā ietekmē stikla mērkolbas tilpumu. Tādēļ vienmēr pirms mērkolbas uzpildīšanas līdz norādītajai atzīmei ir nepieciešams noteikts laiks, lai šķīdums ieņemtu trauka kalibrēšanas temperatūru [5, 6]. Kā arī nav zināma kļūda, kādu ievieš šķīdumu pagatavošana temperatūra, kas neatbilst trauku kalibrēšanas temperatūrai, piemēram $20,0 \pm 3,0^{\circ}\text{C}$.
- Piesārņojums: nekārtīga un nepietiekama trauku mazgāšana vai skalošana arī radīs kļūdas tālākajā darba procesā. Piemēram, ja lietos slikti izmazgātu pipeti, šķīduma pilieni paliks pie stikla sienīnām, tādējādi ieviešot gala rezultātu ar zemāku precizitāti.
- Kalibrācija: volumetrijā izmantojamie stikla trauki ir jākalibrē ik pēc 2 – 10 gadiem [7].
- Samazinoties volumetrisko trauku tilpumiem, relatīvā kļūda % pieaug (skat.1.2. tabulu) [8].

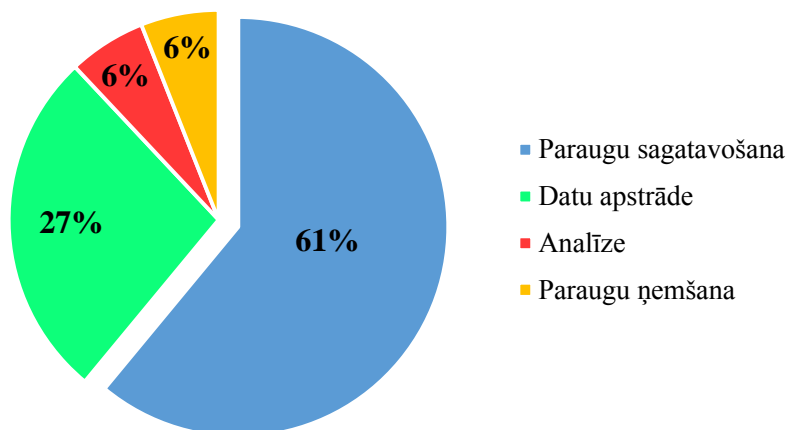
1.2. tabula

Volumetrisko trauku precizitāte [8]

| Pipetes | | | Mērkolbas | | |
|-------------|--------------------------|--------------------------|-------------|--------------------------|--------------------------|
| Tilpums, mL | Tilpuma nenoteiktība, mL | Relatīvā nenoteiktība, % | Tilpums, mL | Tilpuma nenoteiktība, mL | Relatīvā nenoteiktība, % |
| 1 | 0,006 | 0,60 | 10 | 0,02 | 0,20 |
| 2 | 0,006 | 0,30 | 25 | 0,03 | 0,12 |
| 5 | 0,010 | 0,20 | 50 | 0,05 | 0,10 |
| 10 | 0,020 | 0,20 | 100 | 0,08 | 0,08 |
| 15 | 0,030 | 0,20 | 200 | 0,10 | 0,05 |
| 20 | 0,030 | 0,15 | 250 | 0,12 | 0,05 |
| 25 | 0,030 | 0,12 | 1000 | 0,30 | 0,03 |

Plašāki pētījumi rāda, ka maza tilpuma volumetriskajiem traukiem ir ne tikai zemāka precizitāte, bet tos arī nepareizi lieto. Piemēram, izmantojot 2 mL un mazākas pipetes, laboratorijas darbinieks neatvēr paredzēto laiku šķīduma notecināšanai gar trauka sienām [3].

Attīstoties analītiskajām metodēm un iekārtām, nepieciešamais laiks analīžu veikšanai un datu apstrādei ir ievērojami samazinājies. Vislielāko daļu no laboratorijā pavadītā laika līdz pat šim brīdim aizņem paraugu pagatavošana: ~ 61 % (skat. 1.2. att.) [1, 3].



1.2. att. Laboratorijā pavadītā laika sadalījums [1, 3]

Apkopojot maģistra darbā minētos literatūras avotus, var apgalvot, ka volumetriskajai paraugu atšķaidīšanai piemīt šādi ierobežojumi:

- cilvēka faktors (manipulācijas ar traukiem, menisku nolasīšana, neuzmanības kļūdas);
- izsekojamības nepilnība, jo manuālo operāciju precizitāte tiek pieņemta. Nav zināms, kādu kļūdu paraugu sagatavošanas procesā ir ieviesusi cilvēka neuzmanība, netīri trauki vai kļūdaini dokumentēti rezultāti. Pilnīga paraugu sagatavošanas un datu izsekojamība ir īpaši svarīga no mūsdienu kvalitātes sistēmu viedokļa;
- ekonomiskā un ekoloģiskā neefektivitāte, jo šķīdumu pagatavošanai tiek patērēts daudz lielāki reaģentu daudzumi nekā analīzes veikšanai ir nepieciešams.

1.2. Gravimetriska analizējamo šķīdumu pagatavošana

Gravimetriskā metode ir efektīvs analītiskais risinājums ātrākai (~ 20 reizes) un precīzākai šķīdumu pagatavošanai. Mūsdienās pieejamo dozēšanas iekārtu darbības principa pamatā ir cietu vielu un šķīdumu svēršana un dozēšana, tādējādi uzlabojot rezultātu ticamību, darba precizitāti un kvalitāti, kuri samazina kļūdu rašanās cēloņus, nodrošina pilnīgu datu izsekojamību un samazina paraugu pagatavošanai nepieciešamo laiku [1, 2, 9]. FDA un USP atzīst gravimetrisku paraugu pagatavošanu, izmantojot modernās tehnoloģijas, ja vien pagatavoto paraugu kvalitāte nemainās vai pat uzlabojas (21 CFR 514.8) [5, 10].

Gravimetriska šķīdumu pagatavošana, veicot cietās vielas šķīdināšanu, sastāv no sekojošām tipveida manipulācijām [4]:

1. cietas vielas iebēršana tam paredzētajā traukā;
2. šķīdinātāja ieliešana tam paredzētajā traukā;
3. mērķa tilpuma un masas koncentrāciju ievadīšana;
4. GA aprēķina nepieciešamo cietās vielas un šķīdinātāja masu;
5. GA uzsāk cietās vielas un šķīdinātāja dozēšanu;
6. precīzi zināmas koncentrācijas izejas šķīduma iegūšana;
7. datu saglabāšana sistēmā.

Gravimetriska šķīdumu atšķaidīšana, veicot izejas šķīduma atšķaidīšanu, sastāv no sekojošām tipveida manipulācijām [4]:

1. izejas šķīduma un šķīdinātāja ieliešana tiem paredzētajos traukos;
2. mērķa tilpuma un masas koncentrāciju ievadīšana;
3. GA aprēķina nepieciešamo izejas šķīduma masu;
4. GA uzsāk izejas šķīduma dozēšanu;
5. GA aprēķina nepieciešamo šķīdinātāja masu, izejot no jau iesvērtās izejas šķīduma masas;
6. GA uzsāk šķīdinātāja dozēšanu;
7. precīzi zināmas koncentrācijas šķīduma iegūšana;
8. datu saglabāšana sistēmā.

Manuāli ievadot šķīduma mērķa koncentrāciju un vēlamo parauga tilpumu, dozēšanas iekārta aprēķinās un iesvērs nepieciešamo izejas šķīduma un šķīdinātāja masu. Gravimetriskās metodes pamatā ir 1.1. redzamais matemātiskais vienādojums [4]:

$$m = V * \rho, \quad (1.1.)$$

kur m – masa, g;
 V – tilpums, L;
 ρ – blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

Apkopojot pieejamo literatūru, var teikt, ka pozitīvās iezīmes gravimetriskajā paraugu pagatavošanā ir sekojošas:

- ātra un precīza šķīdumu pagatavošana [11];
- samazināts vielu patēriņš [2];
- maza iespējamība veidoties neuzmanības kļūdām svēršanas vai atšķaidīšanas procesa laikā [3];
- svēršanas procesā nav nepieciešams izmantot papīru, traukus, lai pārnestu vielu, tādējādi samazinot parauga zudumus;
- pagatavotajiem paraugiem iekārta reģistrē un saglabā šādus parametrus: cietās vielas vai izejas šķīduma masa, šķīdinātāja masa, iegūtā parauga koncentrācija [1, 3];
- nav nepieciešams izmantot kalibrētus, noteikta tilpuma taukus;
- vielas var tikt iesvērtas vienreiz lietojamos plastmasas traukos, samazinot piesārņojošo vielu ietekmi no nekvalitatīvi izmazgātiem vai izskalotiem traukiem;
- savstarpēji salīdzinot paraugu pagatavošanas posmus volumetrijā un gravimetrijā, droši var apgalvot, ka gravimetriskajā metodē ir daudz mazāk veicamu darbību, kas varētu radīt kļūdas un nepietiekami precīzu rezultātu [4].

1.3. Svēršanas precizitāte

Analītiskie svāri ir laboratorijas svaru veids, kurus raksturo precizitāte sākot no $\pm 0,0001$ g. Veicot mērījumus ar analītiskiem svāriem, ir stingri jāievēro ASV Farmakopejā <1251> aprakstītā darba gaita, jo pat niecīga atkāpšanās var radīt kļūdu analītiskajos svaru mērījumos, kas noved pie rezultāta ar zemu precizitāti [12].

1.3.1. Analītisko svaru rezultātu precizitātes ietekmējošie faktori

Analītiskie svāri ir gravimetriskā atšķaidītāja svarīgākā daļa, lai nodrošinātu vēlamu rezultātu precizitāti. Tādēļ autore ir apkopojusi informāciju par analītisko svaru, precizitātes ietekmējošajiem faktoriem, lai vērstu uzmanību gravimetriskā atšķaidītāja atrašanās vietas izvēlei laboratorijā.

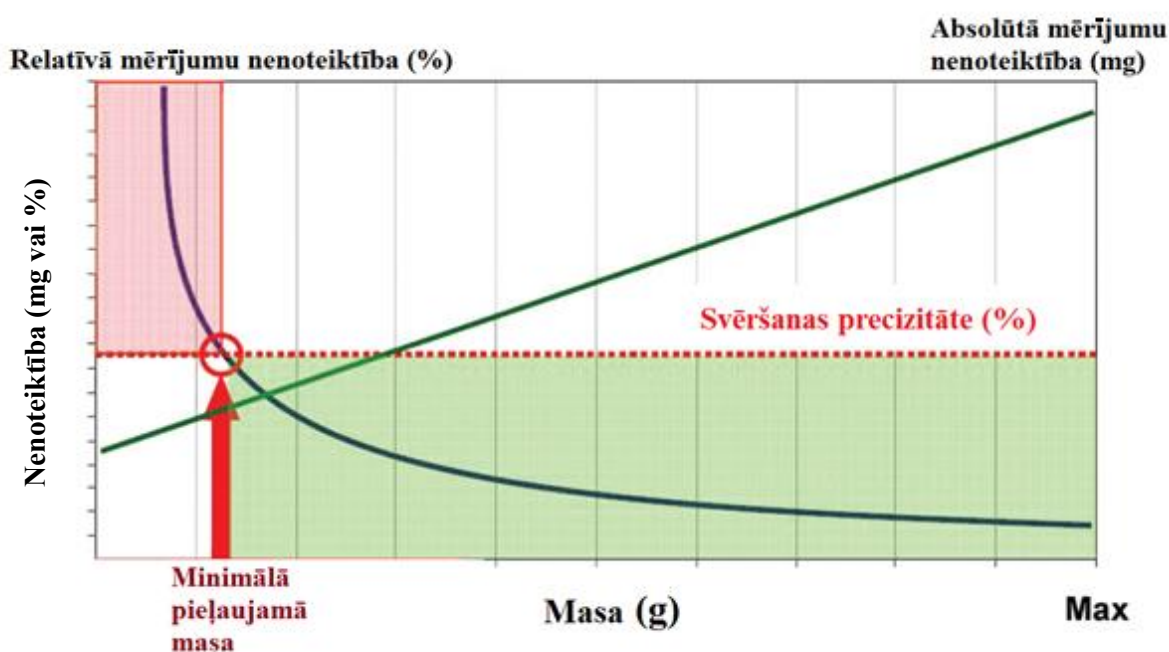
- Gaisa plūsmas: svaru novietojumam telpā ir jābūt pārdomātam, lai tie neatrastos tuvumā vai pretim durvīm, atveramiem logiem vai ventilācijas sistēmām. Pēkšņa vēja plūsma var būtiski ietekmēt rezultātu precizitāti [7, 13].
- Vide: ieteicamā telpas temperatūra, strādājot ar svāriem, ir 20° C temperatūra un relatīvais mitrums - 50%. Lai izlīdzinātu temperatūras un mitruma starpību starp analītiskajiem svāriem un apkārtējo vidi, 20-30 min. pirms svēršanas jāatver analītisko svaru stikla vitrīnas durtiņas [7, 13].
- Vibrācijas: jebkura veida analītiskajiem svāriem ir jāatrodas uz granīta platformas vai svēršanas galda, lai mazinātu vibrācijas, kas rodas no apkārtējiem soļiem, satiksmes, citām iekārtām u.c. . Jāņem vērā, ka telpu stūros ir ievērojami mazāka vibrācijas ietekme uz svāriem nekā telpas centrā [7, 13].
- Sakārtota vide: uz virsmas, kur atrodas svāri, nevar atrasties nekas lieks, lai svāri nenonāktu kontaktā ar nevēlamo priekšmetu un netiktu ietekmēti rezultātu precizitāte.
- Slīpums: jebkura veida analītiskajiem svāriem ir jāatrodas uz taisnas un gludas virsmas [7, 13].
- Statiskā elektrība: plastmasas un stikla konteineri var uzkrāt lādiņu, jo tiem ir zema elektrovadītspēja un liels virsmas laukums, tādējādi ieteicams ir lietot metāla konteinerus vai arī samitrināt esošos traukus [7, 13]. Mūsdienās ir iespējams arī iegādāties papildus iekārtas svāriem, kas ir speciāli paredzētas statiskās elektrības mazināšanai svēršanas procesā.
- Magnētisms: svarus nav ieteicams novietot tuvumā magnētiskām ierīcēm vai arī svērt paraugus ar magnētiskām īpašībām. Magnētiskie elementi paraugos vai konteineros (niķelis, dzelzs, tērauds) rada magnētisko lauku, kas iedarbojas uz svēršanas pannu un svēršanas kameru [7, 13].
- Parauga temperatūra: ja paraugs ir ievērojami siltāks vai vēsāks par apkārtējās vides temperatūru, tas var pazemināt mērījumu precizitāti [7, 13].

1.3.2. Mērījumu veikšana ar analītiskajiem svāriem

Analītiskajiem svāriem svarīgākie metroloģiskie parametri ir maksimālā slodze un minimālā slodze, zem kuras netiek veikti mērījumi, lai nodrošinātu nepieciešamo svēršanas precizitāti un pietiekami mazu nenoteiktību. Mērījumu nenoteiktība ir ar mērījuma rezultātu saistīts parametrs, kas raksturo tā vērtību izkliedi, kuru var pamatoti attiecināt uz mērlielumu. Tas ir mērījumu rezultātu izkliedes raksturojums, kas noteikts ar kļūdas robežām.

Svēršanas ierīces absolūto mērījumu nenoteiktību izsaka ar taisnes vienādojumu (skat. 1.3. att. zaļās krāsas taisni). Jo lielāka masa ir novietota uz svāriem, jo lielāka kļūst absolūtā mērījumu nenoteiktība (%).

Relatīvo mērījumu nenoteiktību (%) izsaka kā daļu starp absolūto mērījumu nenoteiktību un masu, kas ir novietota uz svāriem (skat. 1.3. att. zilās krāsas hiperbolisko funkciju). Jo mazāka masa novietota uz svāriem, jo attiecīgi straujāk pieaugs relatīvā mērījuma nenoteiktība. Jāņem vērā, ka, veicot mērījumus pie ļoti mazām masām, relatīvā mērījumu nenoteiktība veidosies ļoti liela un rezultātu nevarēs uzskatīt par ticamu [14, 15]. Krustpunktā starp relatīvo mērījumu nenoteiktību un svēršanas precizitāti tiek definēta precizitātes robeža jeb minimālā masa, kuru ir ieteicams svērt [1, 2, 14].



1.3. att. Analītisko svaru minimālās svēršanas masas noteikšana [1, 2, 14]


Zemākā masa, pie kuras var veikt mērījumus, nav stingri definēts lielums, tas var mainīties atkarībā no dažādiem apkārtējās vides faktoriem, kas spēj ietekmēt instrumenta veiktspēju: vibrācija, vēja plūsmas, operatora pieredze. Lai nodrošinātu precīzu rezultātu iegūvi un parauga svēršanu virs kalibrācijā noteiktās minimālās masas, ievieš terminu „drošības koeficients”, kas ir reizinātājs. Piemēram, ja minimālā pieļaujamā masa uz svāriem ir 10 mg un izvēlētais drošības koeficients 2,0, tad minimālā masa, ko ir ieteicams svērt uz analītiskajiem svāriem, lai iegūtu precīzu rezultātu, ir 20 mg. Volumetriskajā paraugu pagatavošanā analītisko svaru drošības koeficients parasti ir 2,0, ja apkārtējās vides ietekme un operatora nekompetence netiek ņemti vērā. Gravimetriskajā paraugu pagatavošanā apkārtējās vides un operatora ietekme ir ievērojami samazināta. Tādējādi ir iespējams izvēlēties mazāku drošības koeficientu (1,5) un samazināt minimālo pieļaujamo svēršanas masu [2, 14].




1.4. Tirgū esošo gravimetrisko atšķaidītāju pārskats

Kā vienu no populārākajiem gravimetrisko dozēšanas iekārtu ražotājiem var minēt “METTLER TOLEDO”. Kompānija piedāvātā kvantitatīvu paraugu pagatavošanu, kuras pamatā ir gravimetrijas metode. 1.3. tabulā ir sniegti “METTLER TOLEDO” pieejamo gravimetrisko atšķaidītāju piemēri.

1.3. tabula

“METTLER TOLEDO” piedāvātās gravimetriskās iekārtas [9, 10, 16, 17]

| Modelis | Darbības princips | Iekārtas attēls |
|-----------|---|--|
| QA serija | <ol style="list-style-type: none"> 1. Operators manuāli ieber cieto vielu; 2. ievada mērķa koncentrāciju; 3. iekārta aprēķina nepieciešamo šķīdinātāja daudzumu; 4. parauga atšķaidīšana līdz mērķa koncentrācijai; 5. precīzas koncentrācijas šķīduma iegūšana. |  |

| Modelis | Darbības princips | Iekārtas attēls |
|----------------------------|---|--|
| QB ^P sērija | <ol style="list-style-type: none"> 1. Operators ievada vēlamo cietās vielas masu (1mg – 5g); 2. cietās vielas iedozēšana vēlamajā daudzumā. |  |
| QB ^{PL} sērija | <ol style="list-style-type: none"> 1. Operators ievada mērķa koncentrāciju un tilpumu; 2. iekārta aprēķina nepieciešamo cietās vielas un šķīdinātāja masu; 3. cietās vielas un šķīdinātāja dozēšana; 4. precīzas koncentrācijas šķīduma iegūšana. |  |
| QX sērija | <ol style="list-style-type: none"> 1. Operators ievada paraugu sēriju ar mērķa koncentrācijām un tilpumiem; 2. iekārta automātiski uz svāriem novieto pirmā parauga trauku, kurā veiks šķīdināšanu; 3. iekārta aprēķina nepieciešamo cietās vielas un šķīdinātāja masu; 4. cietās vielas un šķīdinātāja dozēšana; 5. precīzas koncentrācijas šķīduma iegūšana; 6. iekārta automātiski uz svāriem novieto otrā parauga trauku, kurā veiks šķīdināšanu; 7. atkārti 3.-5. soli līdz ir izpildīta visa paraugu sērija. |  |

Apskatot “*METTLER TOLEDO*” piedāvājumā esošos gravimetriskos dozatorus, var minēt sekojošas nepilnības:

1. gravimetriskā iekārta darbojas tikai komplektā ar “*METTLER TOLEDO*” firmas svariem;
2. ir nepieciešams iegādāties speciālu aprīkojumu, kas ir salīdzinoši dārgs, lai varētu pilnvērtīgi strādāt ar gravimetrisko iekārtu. Kā piemēram, speciālas pudelītes, cietās vielas dozēšanai, kas ir ievietojamas dozēšanas galvā.

Šveices firma “*CTC Analytics AG*” arī piedāvā iekārtu pilnībā automatizētai gravimetrisko paraugu pagatavošanai. “*PAL RTC*” ir gravimetriskais atšķaidītājs ļoti viskozām vielām, kādas ir sastopamas kosmētikas, naftas un pārtikas rūpniecībā (skat. 1.4. att.) [18].



1.4. att. “*PAL RTC*” gravimetriskais atšķaidītājs viskozām vielām [18]

Gravimetriskais atšķaidītājs “*PAL RTC*” darbojas sekojoši:

1. operators ievada mērķa koncentrāciju un vēlamu parauga tilpumu;
2. uzsākot darbu, GA četras reizes nosver tukšu stobriņu;
3. GA veic viskozās vielas dozēšanu, pēc dozēšanas atkārtoti četras reizes nosver stobriņu;
4. GA pirmo reizi veic šķīdinātāja dozēšanu;
5. GA fiksē iedozētā šķīdinātāja masu un veic aprēķinus, lai fiksētu precīzu šķīdinātāja blīvumu esošajā istabas temperatūrā;

6. GA aprēķina trūkstošo šķīdinātāja daudzumu, ņemot vērā šķīdinātāja blīvumu, mērķa tilpumu un koncentrāciju;
7. GA otro reizi veic šķīdinātāja dozēšanu un četras reizes nosver stobriņu;
8. GA uzrāda iegūto šķīduma masas koncentrāciju.

Pirms iekārtas iegādāšanās jāpievērš uzmanība, ka gravimetriskais atšķaidītājs ir savietojams tikai ar "METTLER TOLEDO" svariem un ir paredzēts kvantitatīviem mērījumiem [18].

ASV uzņēmuma "Pfizer" analītiskās pētniecības un attīstības grupa veica pētījumu, lai salīdzinātu atšķirības starp paraugu sagatavošanu, izmantojot volumetrisku un gravimetrisku paraugu pagatavošanu (skat. 1.4. tabulu).

1.4. tabula

Volumetrisku un gravimetrisku paraugu pagatavošanas salīdzinājums [4, 11]

| | Volumetriska paraugu pagatavošana | Gravimetriska paraugu pagatavošana | Piezīmes |
|---------------------------------------|---|--|---------------------------------------|
| Aptuvenais reaģentu patēriņš | 20 mg cietas vielas + 50 mL šķīdinātājs | 5 mg cietas vielas + 13 mL šķīdinātājs | ~ 75% reaģentu ietaupījums |
| Parauga tilpums | Izmantots 100 mL šķīdinātāja | Izmantots 10 g šķīdinātāja | ~ 90% šķīdinātāja ietaupījums |
| Paraugu sagatavošana patērētais laiks | 60 min | 45 min | ~ 25% laika ietaupījums |
| Precizitāte | % RSD = 1,67 | % RSD = 0,49 | Precizitāte uzlabojas par trīs reizēm |
| Linearitāte | $R^2 = 0,995$ | $R^2 = 0,99998$ | Ievērojami uzlabojas linearitāte |

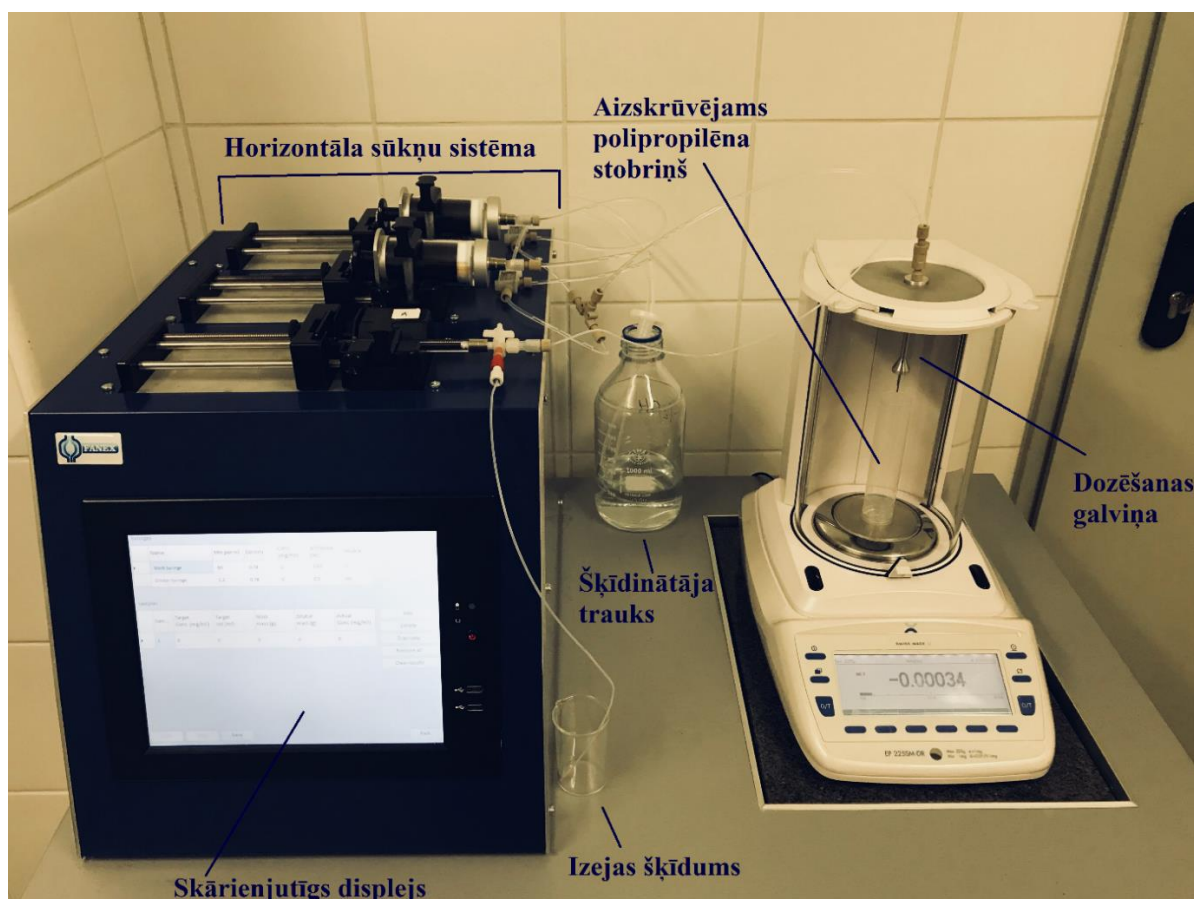
Apskatot tabulu, droši var apgalvot, ka gravimetriska paraugu pagatavošana ir ātrāka un precīzāka metode, kā arī ievērojami samazina reaģentu patēriņu.

1.4.1. SIA "Faneks" uzbūvētais gravimetriskais atšķaidītājs "Verity VI"

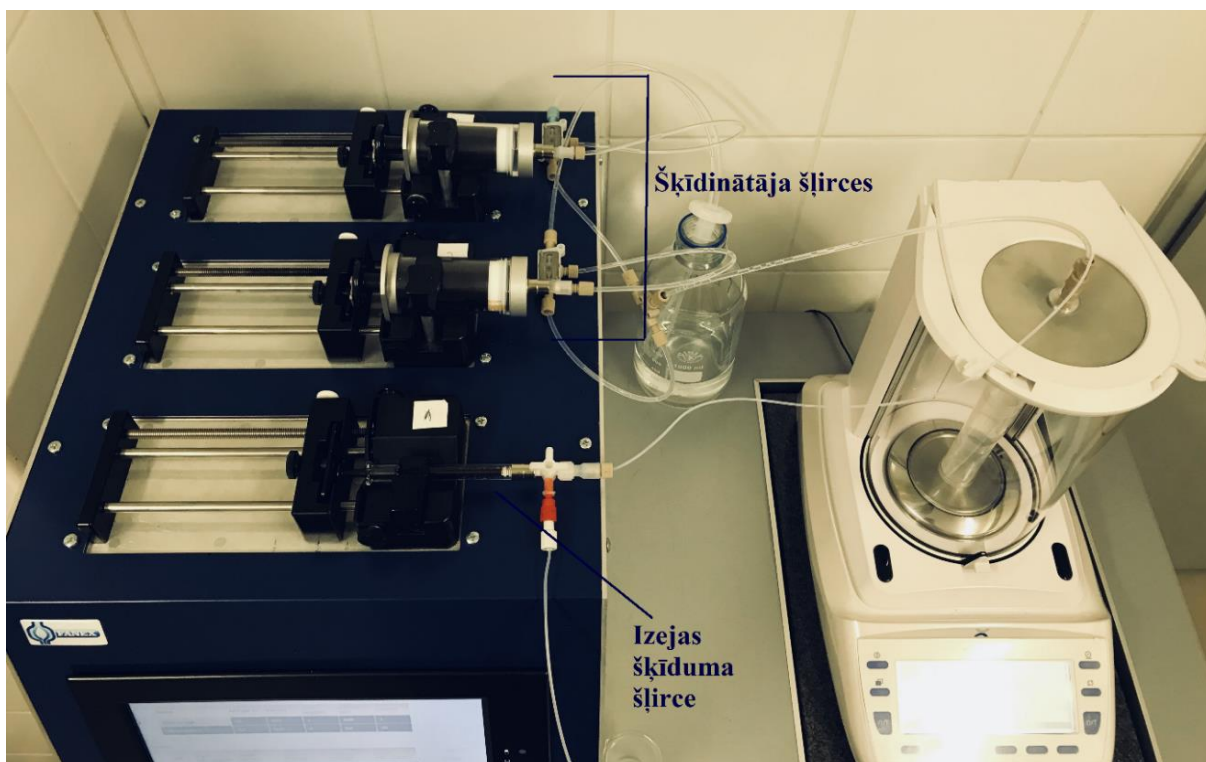
Otrajā kursa darbā gravimetriskai paraugu pagatavošanai darba autore strādāja ar SIA "Faneks" uzbūvēto iekārtu "Verity VI" (skat. 1.5. un 1.6. att.). Ievadot mērķa tilpumu un masas koncentrāciju, GA aprēķina un iedozē nepieciešamo izejas šķīdumu un šķīdinātāju, tādējādi iegūstot paraugus ar precīzi zināmu masas koncentrāciju. GA displejs ir skārienjutīgs, lai ērtāk varētu izvēlēties veicamo darbību un ievadīt prasīto informāciju [19].

Kursa darba ietvaros darba autore testēja GA "Verity VI", ar mērķi uzlabot gan iekārtas dizainu, gan lietošanas ērtumu. Veicot gravimetrisku paraugu sagatavošanu ar "Verity VI", iekārtai konstatēja sekojošas nepilnības [19]:

- sūkņu darbības ātrums ir salīdzinoši lēns;
- iekārtai nav automatizēta skalošana;
- manuāla izejas šķīduma šļircis uzpilde;
- nav izstrādāta programma sausas vielas iesvēršanai un atšķaidīšanai.



1.5. att. Gravimetriskā atšķaidītāja "Verity VI" pretskats [19]



1.6. att. Gravimetriskā atšķaidītāja “Verity VI” virs skats [19]

Maģistra darba ietvaros gravimetriskai paraugu pagatavošanai darba autore izmantoja SIA “Faneks” pilnveidoto iekārtu “Verity V2”. Iekārtai veica sekojošus uzlabojumus:

- nomainīja sūkņu sistēmu, lai ievērojami palielinātu dozēšanas ātrumu;
- ir iespējams veikt cietu vielu šķīdināšanu, ievadot mērķa tilpumu un masas koncentrāciju;
- automātiska iekārtas skalošanās pirms darba uzsākšanas;
- izejas šķīduma un šķīdinātāja šļirces darbību veic vertikāla sūkņu sistēma;
- uzlabots iekārtas interfeiss jeb saskarne.

1.5. Gravimetrisko atšķaidītāju veikspēja

Verifikācija ir sistēmas pārbaude, ko parasti veic tās izstrādāšanas gaitā, lai pārliecinātos, vai izstrādāšanas procesā aplūkojamā posma rezultāti atbilst tā sākumā definētajiem noteikumiem un prasībām. Gravimetriskā atšķaidītāja verifikācijas procesā apskatāmie raksturlielumi ir linearitāte, pareizība un atkārtojamības [20, 21, 22].

1.5.1. Linearitāte

Linearitāte pierāda tieši proporcionālu sakarību starp atbildes signālu un analizējamās vielas koncentrāciju paraugā noteiktā intervāla robežās. Linearitātes noteikšanā iegūtajiem rezultātiem veic statistisko novērtējumu. Rezultātus noformē grafiski, kā atbildes funkciju no analizējamā šķīduma koncentrācijas. Aprēķina taisnes vienādojumu un korelācijas koeficientu. Linearitāti nosaka, veicot piecu vai vairāk standartizētu šķīdumu mērījumus. Matemātiskos aprēķinus autore šī darba ietvaros veica datu apstrādes programmā *Empower 3*. Pēc linearitātes kritērijiem korelācijas koeficientam ir jābūt $R^2 \geq 0,999$ [20, 21, 22]. Maģistra darbā linearitāti pierāda ar tieši proporcionālu sakarību starp hromatogrāfa uzrādīto laukumu gravimetriski pagatavotajiem šķīdumiem un koncentrāciju, kādu ir uzrādījis gravimetrs.

1.5.2. Pareizība

ICH analītiskās procedūras pareizību mēdz dēvēt arī par procedūras ticamību, definē kā atbilstības pakāpi starp pieņemto patieso vērtību vai pieņemto atskaites vērtību un iegūto vērtību. Ticamība ir jāatspoguļo kā starpība starp atrasto vērtību un pieņemto patieso vērtību, norādot ticamības intervālus. Pareizība tiek uzskatīta par pieņemamu un atbilst izvirzītajām prasībām, ja tā ir robežās no 98% līdz 102%. Pareizību aprēķina, izmantojot 1.2. vienādojumu un izsaka procentos [20, 21, 22]:

$$A = \frac{a_{\text{atrastais}}}{a_{\text{pieņemtais}}} \cdot 100 \%, \quad (1.2.)$$

kur A – pareizība, %;
 $a_{\text{atrastais}}$ – aprēķinātā koncentrācija pēc hromatogrāfijas metodes, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;
 $a_{\text{pieņemtais}}$ – GA “Verity V2” uzrādītā paraugkoncentrācija, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

1.5.3. Atkārtotamība

Atkārtotamība ir viens no ICH vadlīnijās apskatītajiem terminiem, kuru visbiežāk lieto izkliedes raksturošanai. Atkārtotamība raksturo precizitāti vienādos darba apstākļos īsā laika posmā. Precizitātes pārbaude ļauj novērtēt raksturīgās rezultātu izkliedes starp vienas sērijas mērījumiem. Atkārtotamību sauc arī par iekšējās pārbaudes precizitāti [15]. To raksturo relatīvā standartnovirze, to aprēķina, izmantojot 1.3. vienādojumu un izsaka procentos [20, 21, 22]:

$$RSN = \frac{SN\left(\frac{\text{Laukums}}{Y^{\text{Verity } V_2}}\right)}{\text{Vid.}\left(\frac{\text{Laukums}}{Y^{\text{Verity } V_2}}\right)} \cdot 100 \%, \quad (1.3.)$$

kur RSN – relatīvā standartnovirze, %;
 SN – standartnovirze;
 Vid. – vidējā vērtība starp rezultātiem;
 Laukums-Hromatogrāfa uzrādītais laukums gravimetriski pagatavotajiem paraugiem;
 $Y^{\text{Verity } V_2}$ – masas koncentrācija kādu aprēķina gravimetriskais atšķaidītājs, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

1.6. Gravimetriskas un volumetriskas paraugu pagatavošanas salīdzinājums

USP izvirzītos un vispār pieņemtus specifikāciju raksturojošos lielumus laboratorijās biežāk izmantotajām analītiskām iekārtām var uzskatāmi redzēt 1.5. tabulā.

1.5. tabula

Laboratorijā biežāk izmantoto iekārtu specifikāciju raksturošana saskaņā ar USP [23, 24, 25]

| Iekārta | Linearitāte | Pareizība, % | Atkārtojamība, % |
|--|------------------|--------------|------------------|
| Augsti efektīvā šķīduma hromatogrāfija | $R^2 \geq 0,998$ | 98,0 – 102,0 | < 1,0 |
| Spektrofotometrija | $R^2 \geq 0,995$ | 98,0 – 102,0 | < 1,0 |
| ICP-OES un ICP-MS | $R^2 \geq 0,995$ | 95,0 – 105,0 | < 5,0 |

Šķīdumu pagatavošanas ierīces veikspējai ir jābūt labākai par analītisko iekārtu veikspēju, lai varētu izslēgt paraugu pagatavošanu kā kļūdu avotu zemas precizitātes rezultātu ieguvē. No šiem datiem izriet potenciālās ieteicamās prasības, kuras var izvirzīt gravimetriskajā paraugu pagatavošanā:

- Linearitāte - $R^2 > 0,999$;
- Pareizība - 98,0 – 102,0 % (vēlams labāka);
- Atkārtojamība - < 1%.

1.6.1. Reālo analītiķu prasme šķīdumu pagatavošanā

Ņemot vērā, ka šķīdumu pagatavošanā būtiskākie kļūdu rašanās avoti ir plaši apskatīti literatūrā. Tomēr nav izdevies atrast plašākus datus par to, cik lielas kļūdas kopumā ir raksturīgas reālo ķīmiķu-analītiķu darbā. Vienīgais par šo tēmu pieejamais materiāls ir starplaboratoriju prasmes pārbaude, ko veica firma SIA "Faneks" 2017. gadā.

Starplaboratoriju prasmju pārbaudē piedalījās 65 respondenti no 6 dažādiem ar ķīmiju saistītiem uzņēmumiem Latvijā un ārpus tās. Visu dalībnieku volumetriski pagatavotajiem paraugiem maģistra darba autore noteica precīzās koncentrācijas ar AEŠH, apkopoja un aprakstīja pirmajā kursa darbā [26].

Prasmes pārbaudes ir laboratoriju savstarpējā salīdzināšana, lai noteiktu atsevišķas laboratorijas konkrētas testēšanas vai kalibrēšanas izpildi un kontrolētu laboratorijas testēšanas vai kalibrēšanas rezultātu atbilstību un salīdzināmību [27].

Katra laboratorija saņēma 100 mL pudelīti ar kofeīna ūdens šķīduma koncentrātu ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 12 numurētus viālus, kā arī protokolu ar norādījumiem kofeīna ūdens šķīdumu paraugu sagatavošanā. Dalībnieku uzdevums bija volumetriska paraugu sagatavošana koncentrāciju diapazonā no 0,001 līdz $0,100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, izmantojot iepriekš pagatavoto $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ kofeīna ūdens šķīduma koncentrātu un ūdeni kā šķīdinātāju. Respondentu skaits, kas sasniedza gravimetriskajā paraugu pagatavošanā izvirzītās prasības, ir apkopots 1.6. tabulā [26].

1.6. tabula

Starplaboratoriju prasmes pārbaudē iegūtie rezultāti [26]

| Mērķa lielums | Izvirzītās prasības | Izvirzītās prasības sasniedza, % | Izvirzītās prasības nesasniedza, % |
|---------------|---------------------|----------------------------------|------------------------------------|
| Linearitāte | $R^2 > 0,999$ | 95 | 5 |
| Pareizība | 98,0 – 102,0 % | 83 | 17 |
| Atkārtojamība | <1,0 % | 88 | 12 |

Redzams, ka lielākā daļa laboratorijas darbinieku ir tikusi galā ar udevumu, bet tomēr ievērojama daļa dalībnieku nav sasniegusi izvirzītās prasības.

Otrā kursa darba ietvaros darba autore veica gravimetrisku paraugu sagatavošanu ar firmas SIA "Faneks" uzbūvēto iekārtu "Verity VI". Gravimetriski pagatavoja 20 paraugu sērijas tādos pašos koncentrāciju diapazonos kā starplaboratoriju pasames pārbaudē, tad salīdzināja ar iegūtajiem rezultātiem, ko veica laboratoriju darbinieki. Sēriju skaits, kas sasniedza gravimetriskajā paraugu pagatavošanā izvirzītās prasības, ir apkopots 1.7. tabulā [19].

Gravimetriski pagatavotie paraugi ar iekārtu "Verity VI" [19]

| Mērķa lielums | Izvirzītās prasības | Izvirzītās prasības sasniegtas, % | Izvirzītās prasības nesasniegtas, % |
|---------------|---------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Linearitāte | $R^2 > 0,999$ | 100 | 0 |
| Pareizība | 98,0 – 102,0 % | 100 | 0 |
| Atkārtotamība | < 1,0 % | 100 | 0 |

Pēc rezultātu apkopošanas var apgalvot, ka izvirzītais mērķis gravimetriskajā paraugu sagatavošanā ir sasniegts un gravimetriska paraugu sagatavošana ir precīzāka metode par manuālu šķīdumu pagatavošanu.

2. EKSPERIMENTĀLĀ DAĻA

2.1. Materiāli un iekārtas

Ekspérimenta laikā izmantoto reaģentu un iekārtu apkopojums ir sniegts 2.1. un 2.2. tabulās.

2.1. tabula

Darbā izmantotie reaģenti

| Nr. | Materiāli | Raksturojums | Ražotājs |
|-----|------------------|---|-----------------------------|
| 1. | Metanols | Tīrība $\geq 99,9 \%$ | Merck KGaA Lot:88080711 |
| 2. | Acetonitrils | Tīrība $\geq 99,9 \%$ | Merck KGaA Lot:894930722 |
| 3. | Kofeīns | Tīrība 99,7 % | Alfa Aesar Lot:G31Z005 |
| 3. | Dejonizēts ūdens | $R \geq 18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ | Millipore Direct-Q 3 UV |

2.2. tabula

Darbā izmantotais aprīkojums

| Nr. | Nosaukums | Raksturojums | Ražotājs |
|-----|--|---|---|
| 1. | Analītiskie svāri | Precizitāte $\pm 0,00001\text{g}$ | <i>Precisa Gravimetrics AG</i> EP 225SM-DR |
| 2. | Hromatogrāfs (AEŠH) | <i>2695 Separations Module</i> | <i>Waters</i> Sērijas nr. C06SM4 154A |
| 3. | UV detektors | <i>2487 Dual λ Absorbance Detector</i> $\lambda = 190 - 700 \text{ nm}$ | <i>Waters</i> Sērijas nr. L99487 891M |
| 4. | Aizskrūvējami polipropilēna stobriņi | Tilpums = 60 mL Diametrs = 30 mm Augstums = 126 mm | <i>Sarstedt</i> Ref. No. 60.596 |
| 5. | Gravimetriskais atšķaidītājs "Verity V2" | <ul style="list-style-type: none">• <i>TECAN</i> sūkņu sistēma• 1 un 25 mL polietilēna/ borsilikāta stikla šļircis | <i>SIA "Faneks"</i> |

2.2. Standartšķiduma un izejas šķiduma pagatavošana

0,02 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens standartšķidums: lai nodrošinātu maksimālo precizitāti, šķidumu pagatavoja 2 L mērkolbā. Nepieciešamo kofeīna masu ($m_{\text{Kofeīns}}$) aprēķināja pēc 2.1. vienādojuma un izteica miligramos:

$$m_{\text{Kofeīns}} = V_{\text{šķ.}} \cdot \gamma_{\text{Kofeīns}} = 2000,00 \cdot 0,02 = 40,00 \text{ mg}, \quad (2.1.)$$

kur $m_{\text{Kofeīns}}$ – kofeīna masa, mg;
 $V_{\text{šķ.}}$ – šķīdinātāja tilpums, mL;
 $\gamma_{\text{Kofeīns}}$ – masas tilpuma koncentrācija kofeīna šķīdumam, mg·mL⁻¹.

2 L mērkolbā pārnesa 40 mg kofeīna (ar precizitāti $\pm 0,00001$ g) un šķīdināja nelielā dejonizeta ūdens daudzumā, kad viela bija izšķīdusi mērkolbu uzpildīja līdz atzīmei.

Ņemot vērā mērkolbas un analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, pagatavotajam kofeīna ūdens standartšķīdumam pēc 2.2. formulas aprēķināja paplašināto nenoteiktību un izteica procentos:

$$U_{\text{Standartšķīdumam}} = \sqrt{\left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{m_{\text{Kofeīnam}}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\text{Mērkolbai}}}{V_{\text{Mērkolbai}}}\right)^2} \cdot k = \sqrt{\left(\frac{0,00002}{0,04000}\right)^2 + \left(\frac{0,6}{2000,0}\right)^2} \cdot 2 = 0,12\%, \quad (2.2.)$$

kur $U_{\text{Standartšķīdumam}}$ – 0,02 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens standartšķīduma paplašinātā mērījumu nenoteiktība, %;
 $\Delta m_{\text{Svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;
 $m_{\text{Kofeīnam}}$ – kofeīna iesvars standarta šķīduma pagatavošanai, g;
 $\Delta V_{\text{Mērkolbai}}$ – mērkolbas precizitāte, mL;
 $V_{\text{Mērkolbai}}$ – tilpums kādā pagatavoja standarta šķīdumu, mL;
 k – ticamības faktors 95% varbūtībai ($k=2$).

0,20 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens standartšķīdums: lai nodrošinātu maksimālo precizitāti, šķidumu pagatavoja 2 L mērkolbā. Nepieciešamo kofeīna masu ($m_{\text{Kofeīns}}$) aprēķināja pēc 2.1. vienādojuma un izteica miligramos. Pagatavoto standartšķīdumu izmantoja kā references šķīdumu, lai noteiktu precīzās masas koncentrācijas gravimetriski pagatavototajiem paraugiem, šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL.

2 L mērkolbā pārnesa 400 mg kofeīna (ar precizitāti $\pm 0,00001$ g) un šķīdināja nelielā dejonizēta ūdens daudzumā. Kad viela bija izšķīdusi, mērkolbu uzpildīja līdz atzīmei.

Ņemot vērā mērkolbas un analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, pagatavotajam kofeīna ūdens standarta šķīdumam pēc 2.3. formulas aprēķināja paplašināto nenoteiktību un izteica procentos:

$$U_{\text{Standartšķīdumam}} = \sqrt{\left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{m_{\text{Kofeīnam}}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\text{Mērkolbai}}}{V_{\text{Mērkolbai}}}\right)^2} \cdot k = \sqrt{\left(\frac{0,00002}{0,40000}\right)^2 + \left(\frac{0,6}{2000,0}\right)^2} \cdot 2 = 0,06\%, \quad (2.3.)$$

kur $U_{\text{Standartšķīdumam}}$ – 0,20 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens standartšķīduma paplašinātā mērījumu nenoteiktība, %;

$\Delta m_{\text{Svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;

$m_{\text{Kofeīnam}}$ – kofeīna iesvars standarta šķīduma pagatavošanai, g;

$\Delta V_{\text{Mērkolbai}}$ – mērkolbas precizitāte, mL;

$V_{\text{Mērkolbai}}$ – tilpums kādā pagatavoja standartšķīdumu, mL;

k – ticamības faktors 95% varbūtībai ($k=2$).

1,00 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens izejas šķīdums: lai nodrošinātu maksimālo precizitāti, šķīdumu pagatavoja 1 L mērkolbā. Nepieciešamo kofeīna masu aprēķināja pēc 2.2. vienādojuma un izteica miligramos. 1 L mērkolbā pārnesa 1000 mg kofeīna (ar precizitāti $\pm 0,00001$ g) un šķīdināja nelielā dejonizēta ūdens daudzumā. Kad viela bija izšķīdusi, mērkolbu uzpildīja līdz atzīmei.

Ņemot vērā mērkolbas un analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, pagatavotajam kofeīna ūdens standartšķīdumam pēc 2.4. formulas aprēķināja paplašināto nenoteiktību:

$$U_{\text{Izejas šķīdumam}} = \sqrt{\left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{m_{\text{Kofeīnam}}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\text{Mērkolbai}}}{V_{\text{Mērkolbai}}}\right)^2} \cdot k = \sqrt{\left(\frac{0,00002}{1,00000}\right)^2 + \left(\frac{0,4}{1000,0}\right)^2} \cdot 2 = 0,09\%, \quad (2.4.)$$

kur $U_{\text{Izejas šķīdumam}}$ – kofeīna ūdens izejas šķīduma paplašinātā mērījumu nenoteiktība, %;

$\Delta m_{\text{Svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;

$m_{\text{Kofeīnam}}$ – kofeīna iesvars izejas šķīduma pagatavošanai, g;

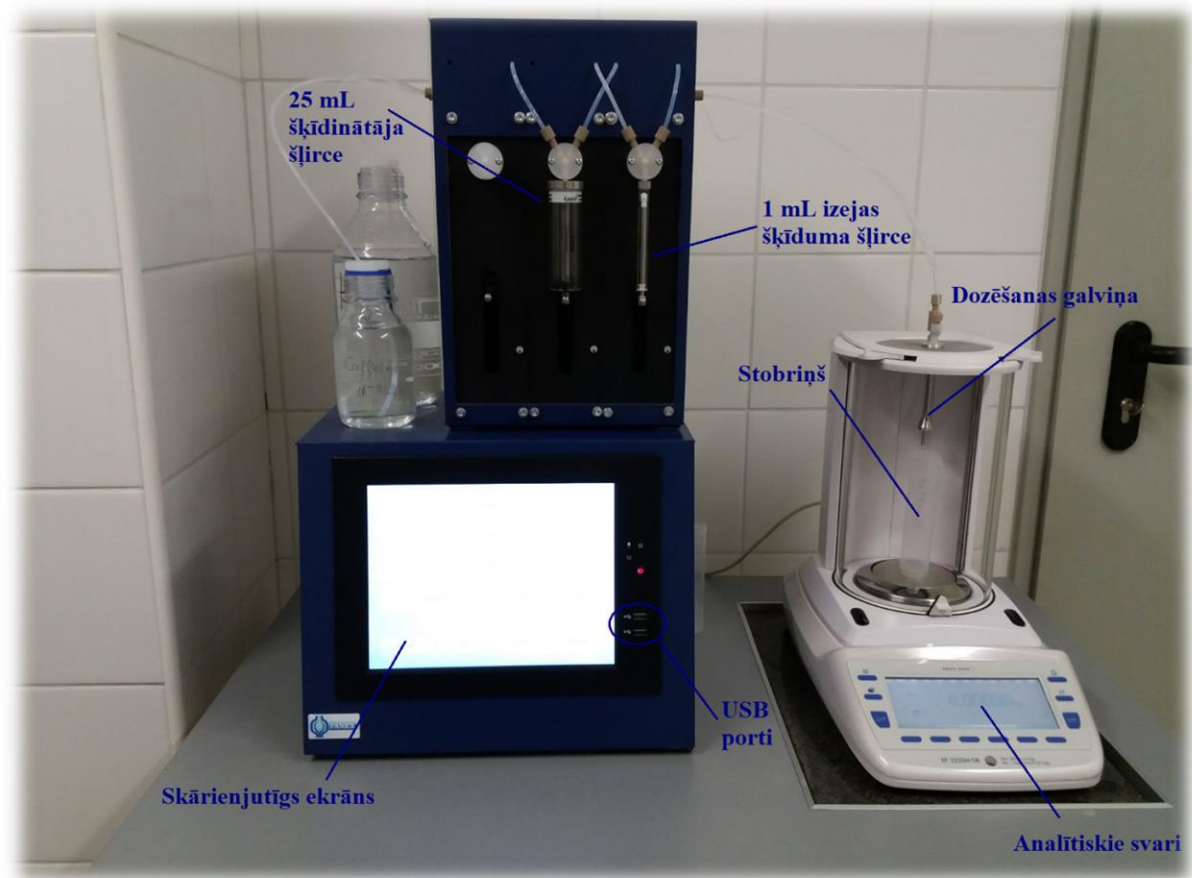
$\Delta V_{\text{Mērkolbai}}$ – mērkolbas precizitāte, mL;

$V_{\text{Mērkolbai}}$ – tilpums kādā pagatavoja izejas šķīdumu, mL;

k – ticamības faktors 95% varbūtībai ($k=2$).

2.3. Gravimetriskais atšķaidītājs

Gravimetriskai paraugu pagatavošanai izmantoja *SIA "Faneks"* uzbūvēto gravimetrisko atšķaidītāju "*Verity V2*". GA ir jaunizveidota iekārta, kas vēl tiek testēta un pilnveidota, lai uzlabotu gan dizainu, gan darba ērtumu ikdienas lietošanā. 2.1. att. var uzskatāmi apskatīt iekārtu, kas ir savienota ar analītiskajiem svāriem. GA displejs ir skārienjutīgs, lai ērtāk varētu izvēlēties veicamo darbību un ievadīt prasīto informāciju.



2.1. att. Gravimetriskais atšķaidītājs “Verity V2”

2.2. attēlā redzama dozēšanas galviņa ar divām adatām. Viena no adatām ir paredzēta izejas šķīduma dozēšanai. Savukārt, otra adata ir paredzēta izvēlēta šķīdinātāja dozēšanai. Padeves caurulīšu sistēma un adatas ir iespējams nomainīt atkarībā no izvēlēto šķīdumu īpašībām (viskozitātes), kā arī, lai izvairītos no šķīdumu piesārņošanās. Adatas ir izgatavotas no nerūsējošā tērauda.



2.2. att. Gravimetriskā atšķaidītāja dozēšanas galviņa

2.3.1. Cietas vielas šķīdināšana ar gravimetrisko atšķaidītāju

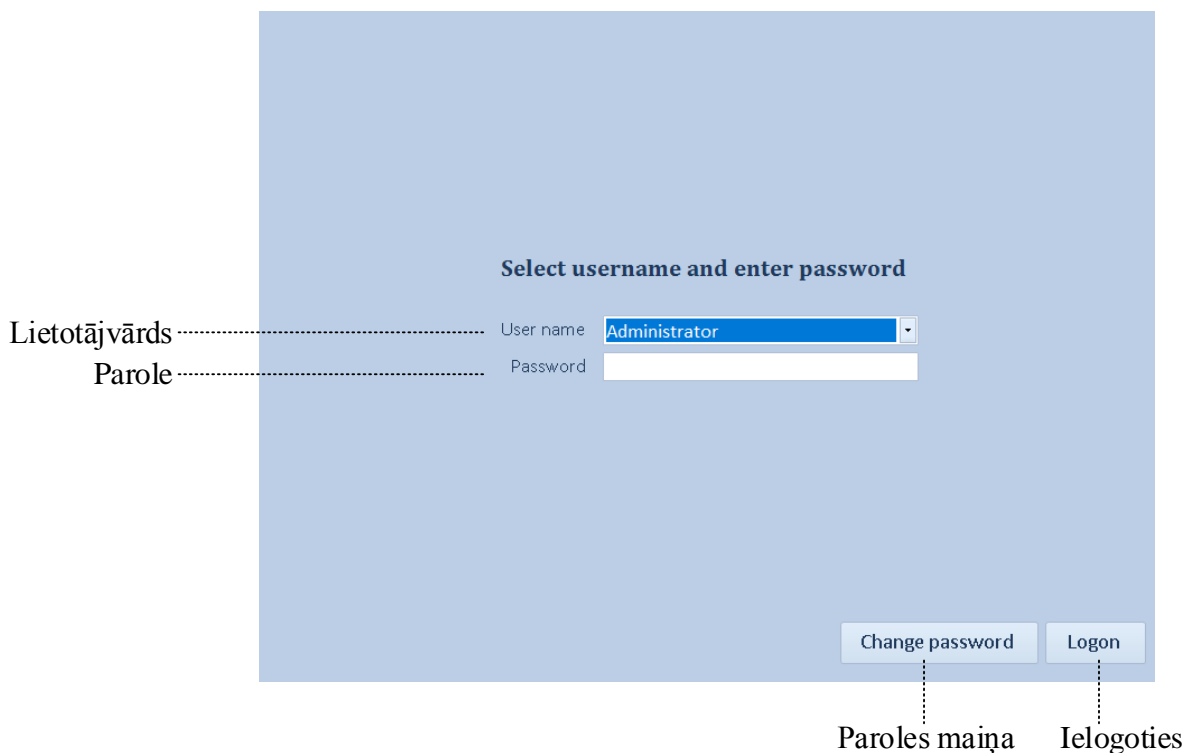
Ievadot šķīduma mērķa koncentrāciju un tilpumu, GA spēj aprēķināt nepieciešamo sausās vielas masu un nepieciešamo šķīdinātāja daudzumu. Uzrādīto cietās vielas masu manuāli ieber operators. Procesa beigās iekārta uzrāda precīzu iebērtās cietās vielas masu, šķīdinātāja masu un aprēķināto masas koncentrāciju iegūtajam paraugam. Gravimetriskās paraugu pagatavošanas posmi, veicot cietas vielas šķīdināšanu, kā arī iekārtas darbības principi uzskatāmi apkopoti 2.3. tabulā.

2.3. tabula

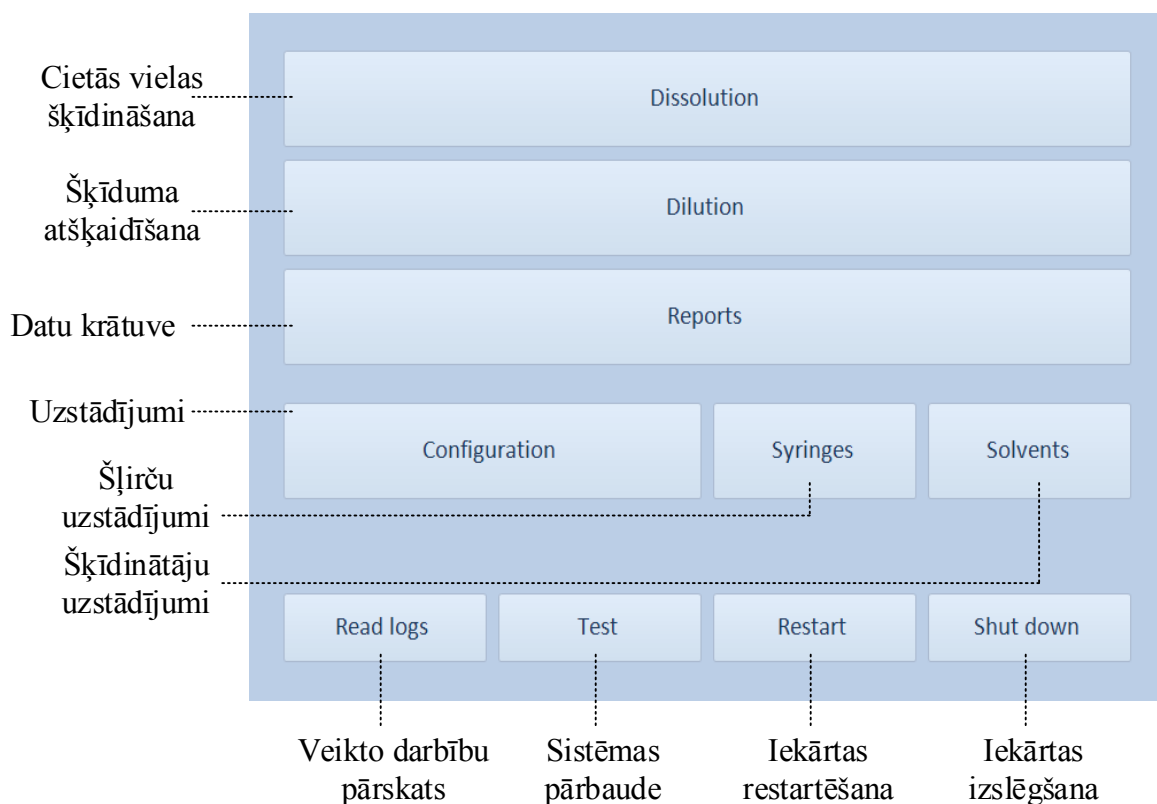
Cietas vielas šķīdināšana ar “Verity V2”

| Nr. | Veicamās darbības | GA displejs |
|-----|--|-----------------|
| 1. | GA ieslēgšana ar pogu “Start”. | - |
| 2. | Lietotājvārda un paroles ievade. | Skat. 2.3. att. |
| 3. | Uz ekrāna nospiež pogu “Log on”. | |
| 4. | Uz ekrāna nospiež pogu “Disolution”, lai veiktu cietu vielu šķīdināšanu. | Skat. 2.4. att. |

| Nr. | Veicamās darbības | GA displejs |
|-----|---|------------------|
| 5. | Ievada metodes nosaukumu. | Skat. 2.5. att. |
| 6. | Izvēlās koncentrācijas vienības, ar kādām vēlas turpināt darbu. | |
| 7. | Ievada cietās vielas/-u nosaukumu/-us. | |
| 8. | Ievada paraugu mērķa tilpumu. | |
| 9. | Izvēlās šķīdinātāju no dotajiem izvēles variantiem. | |
| 10. | Izvēlas šķīdinātāja šļirci no dotajiem izvēles variantiem un ievada dozēšanas ātrumu % un uz ekrāna nospiež pogu "Next". | |
| 11. | Ievada partijas nosaukumu. | Skat. 2.6. att. |
| 12. | Izvēlas šļirču skalošanas metodi no dotajiem izvēles variantiem. | |
| 13. | Ievada kopējo paraugu skaitu un nospiež pogu "Next". | |
| 14. | Katram paraugam GA uzrāda nepieciešamo cietās vielas masu, kā arī kopējo darbā izmantojamo cietās vielas masu. | Skat. 2.7. att. |
| 15. | GA uzrāda kopējo darbam nepieciešamo šķīdinātāja tilpumu un nospiež pogu "Next". | |
| 16. | Pārliecinās, vai prasītās darbības uz ekrāna ir izpildītas un nospiež pogas "Done", kā arī pogu "Start". | Skat. 2.8. att. |
| 17. | Uz displeja parādās uzraksts "Novietot atkritumu stobriņu uz svariem". Un uz ekrāna nospiež pogu "Continue". | Skat. 2.9. att. |
| 18. | Iekārta uzsāk sistēmas un 25 mL šļirces skalošanu, pēc tam uzpilda šļirci tālākam darbam. | - |
| 19. | Uz displeja parādās uzraksts "Novietot stobriņu Nr. 1 uz svariem". Un uz nospiež pogu "Continue". | Skat. 2.10. att. |
| 20. | GA dod signālu svariem nonullēties. | - |
| 21. | Ņemot vērā ievadītos parametrus (mērķatilpumu, koncentrāciju), GA aprēķina un parāda uz displeja cietās vielas masu, kas ir manuāli jāieber operatoram. | Skat. 2.11. att. |
| 22. | Operators manuāli ieber prasīto cietās vielas daudzumu un nospiež pogu "Continue". | |
| 23. | GA nolasa no svariem iebērto masu. | - |
| 24. | Masu var redzēt uz displeja. | - |
| 25. | GA aprēķina nepieciešamo šķīdinātāja masu, ņemot vērā jau iebērto cietās vielas masu un uzsāk šķīdinātāja dozēšanu. | - |
| 26. | GA iesūc atpakaļ šķīdinātāju, lai neveidotos piliens. | - |
| 27. | Uz GA displeja uzrādās iedozētā šķīdinātāja tilpums un iebērtā cietās vielas masa. | Skat. 2.12. att. |
| 28. | Uz displeja parādās uzraksts "Novietot stobriņu Nr. 2 uz svariem". | |
| 29. | Darbības 20-28 atkārti līdz ir pagatavota visa paraugu sērija. | - |
| 30. | Katras sērijas beigās GA uzrāda katram paraugam iedozēto šķīdinātāja tilpumu un aprēķināto masas koncentrāciju. | Skat. 2.13. att. |
| 31. | Uz ekrāna nospiež pogu "Export", ja vēlas datus pārnest USB atmiņā. | Skat. 2.14. att. |



2.3. attēls. Darba uzsākšana ar gravimetrisko atšķaidītāju “Verity V2”



2.4. attēls. Veicamo darbību izvēles displejs

Dissolution - method setup

Metodes nosaukums..... Method name TEST

Koncentrācijas mērvienības..... Output units Mass % Mg/ml

Cito vielu nosaukumi..... Components Caffeine

Mērķa tilpums..... Target amount of solution 50.000 ml

Šķīdinātāja izvēle..... Solvent Water

Šķīdinātāja šļirces izvēle..... Syringe Hamilton 1025 (25 ml) Rate% 5

Padeves ātruma maiņa.....

Uzrādīt gatavu šablonu Šablona izveide Nākamais logs Sākuma ekrāns

2.5. attēls. Darbam nepieciešamo parametru ievade I, lai veiktu cietās vielas šķīdināšanu

Dissolution - batch setup

Partijas nosaukums..... Batch TEST_1

Šļirču skalošanas metodes..... Rinse method Fast

Paraugu skaits..... Number of samples 6

| Number | Caffeine (Mg/ml) |
|--------|------------------|
| 1 | 0.16 |
| 2 | 0.2 |
| 3 | 0.2 |
| 4 | 0.2 |
| 5 | 0.2 |
| 6 | 0.24 |

Parauga numurs.....

Kofeīna šķīduma mērķa koncentrācija.....

Atgriezties iepriekšējā logā Nākamais logs Sākuma ekrāns

2.6. attēls. Darbam nepieciešamo parametru ievade II, lai veiktu cietās vielas šķīdināšanu

Dissolution - materials list

Measurement unit: **g**

| Number | Caffeine |
|--------------|--------------|
| 1 | 0.008 |
| 2 | 0.010 |
| 3 | 0.010 |
| 4 | 0.010 |
| 5 | 0.010 |
| 6 | 0.012 |
| Total | 0.066 |

Solvent: **Water**

Solvent amount (ml): **329.934**

Buttons: Back, Next, Home

Annotations:

- Cietās vielas masa gramos (Solid material mass in grams) - points to the table.
- Šķīdinātājs (Solvent)
- Nepieciešamais šķīdinātāja tilpums (Required solvent volume)
- Atgriezties iepriekšējā logā (Return to previous screen)
- Nākamais logs (Next screen)
- Sākuma ekrāns (Home screen)

2.7. attēls. Kopējais darbam nepieciešamais cietās vielas un šķīdinātāja daudzums

Novietojiet trauku ar darbam nepieciešamo ūdens tilpumu un ievietojiet tajā pumpjiem paredzēto iesūkšanas caurulīti.

B1 un B2 pumpjos ievietojiet divas tīras *Hamilton 1025 (25 mL)* šļirces.

Izvēlieties dozēšanai nepieciešamo caurulītes diametru un savienojiet to ar šķīdumu izejas līniju. Dozēšanas adatu ievietot dozatora galviņā.

Dissolution - checklist

- Prepare a solvent reservoir with 330 ml of Water. Place inlet tubes B1 and B2 in it. Done
- Install two clean syringes of type Hamilton 1025 (25 ml) in pumps B1 and B2. Done
- Choose the dispensing assembly size and connect it to the dispensing port. Thread dispensing needle through the needle guide. Done

Buttons: Back, Start >>, Home

Annotations:

- Atgriezties iepriekšējā logā (Return to previous screen)
- Uzsākt darbu (Start work)
- Sākuma ekrāns (Home screen)

2.8. attēls. Gravimetriskā atšķaidītāja pārbaude pirms darba, lai veiktu cietās vielas šķīdināšanu

Dissolution - progress
Measurement unit: **g**

| Number | Caffeine Calc (g) | Solvent Calc (ml) | Caffeine Act (g) | Solvent Act (ml) |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1 | 0.008 | | | |
| 2 | 0.010 | | | |
| 3 | 0.010 | | | |
| 4 | 0.010 | | | |
| 5 | 0.010 | | | |
| 6 | 0.012 | | | |

Aprēķinātā cietās vielas masa
 Aprēķinātais šķīdinātāja tilpums
 Iebērtā cietās vielas masa
 Iedozētā šķīdinātāja tilpums

Novietojiet atkritumu stobriņu uz svariem **Please install waste container**

Procesas turpināšana Procesas apturēšana Procesas atcelšana

2.9. attēls. Gravimetriskā atšķaidītāja skalošana

Dissolution - progress
Measurement unit: **g**

| Number | Caffeine Calc (g) | Solvent Calc (ml) | Caffeine Act (g) | Solvent Act (ml) |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1 | 0.008 | | | |
| 2 | 0.010 | | | |
| 3 | 0.010 | | | |
| 4 | 0.010 | | | |
| 5 | 0.010 | | | |
| 6 | 0.012 | | | |

Aprēķinātā cietās vielas masa
 Aprēķinātais šķīdinātāja tilpums
 Iebērtā cietās vielas masa
 Iedozētā šķīdinātāja tilpums

Novietojiet stobriņu Nr.1 **Please install solution vessel No 1**

Procesas turpināšana Procesas apturēšana Procesas atcelšana

2.10. attēls. Gravimetriska pirmā parauga pagatavošana

Dissolution - progress
Measurement unit: **g**

| Number | Caffeine Calc (g) | Solvent Calc (ml) | Caffeine Act (g) | Solvent Act (ml) |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1 | 0.008 | | | |
| 2 | 0.010 | | | |
| 3 | 0.010 | | | |
| 4 | 0.010 | | | |
| 5 | 0.010 | | | |
| 6 | 0.012 | | | |

Please add 0.008 g of Caffeine to solution vessel

Continue Cancel
Stop Home

Procesa turpināšana Procesa apturēšana Procesa atcelšana

Aprēķinātā cietās vielas masa
Aprēķinātais šķīdinātāja tilpums
Iebērtā cietās vielas masa
Iedozētā šķīdinātāja tilpums
Operatoram jāieber aprēķinātā cietās vielas masa

2.11. attēls. Cietās vielas aprēķināšana un iesvēršana

Dissolution - progress
Measurement unit: **g**

| Number | Caffeine Calc (g) | Solvent Calc (ml) | Caffeine Act (g) | Solvent Act (ml) |
|--------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 1 | 0.008 | 49.813 | 0.008 | 49.806 |
| 2 | 0.010 | | | |
| 3 | 0.010 | | | |
| 4 | 0.010 | | | |
| 5 | 0.010 | | | |
| 6 | 0.012 | | | |

Please install solution vessel No 2

Continue Cancel
Stop Home

Procesa turpināšana Procesa apturēšana Procesa atcelšana

Aprēķinātā cietās vielas masa
Aprēķinātais šķīdinātāja tilpums
Iebērtā cietās vielas masa
Iedozētā šķīdinātāja tilpums
Novietojiet stobriņu Nr.2

2.12. attēls. Gravimetriska otrā parauga pagatavošana

Dissolution report

Metodes nosaukums..... Method name **TEST**

Sērija..... Batch **TEST_2**

Paraugu pagatavošanas laiks..... Report date **12:55**

| Number | Solvent (ml) | Caffeine (mg/ml) |
|--------|--------------|------------------|
| 1 | 50.431 | 0.160 |
| 2 | 51.694 | 0.200 |
| 3 | 51.495 | 0.200 |
| 4 | 51.793 | 0.200 |
| 5 | 52.094 | 0.200 |
| 6 | 52.076 | 0.240 |

Export

Home

saved report as 'TEST_2 2018-05-22 12:55'

Datu pārnese

Sākuma ekrāns

2.13. attēls. Iegūto rezultātu tabula sērijas beigās

Mapes izvēle..... Target folder

Files

File name

3_App_Note_1Ex

Ok

Cancel

Export

Home

Faila nosaukums

2.14. attēls. Datu saglabāšana un eksportēšana

2.3.2. Izejas šķīduma atšķaidīšana ar gravimetrisko atšķaidītāju

Ievadot parauga atšķaidīšanas pakāpi un tilpumu, GA spēj gan aprēķināt, gan dozēt nepieciešamo izejas šķīduma un šķīdinātāja masu, lai iegūtu šķīdumu ar mērķa koncentrāciju. Procesa beigās GA uzrāda precīzu izejas šķīduma un šķīdinātāja iesvaru un aprēķina masas koncentrāciju pagatavotajam paraugam. Gravimetriskās paraugu pagatavošanas posmi un iekārtas darbības principi uzskatāmi ir apkopota 2.4. tabulā.

2.4. tabula

Gravimetriska paraugu atšķaidīšana ar “Verity V2”

| Nr. | Veicamās darbības | GA displejs | |
|-----|---|------------------|------------------|
| 1. | GA ieslēgšana ar pogu “Start”. | - | |
| 2. | Lietotājevārda, paroles ievadīšana un pogas “Log on” nospiešana. | Skat. 2.3. att. | |
| 3. | Pogas nospiešana “Dilution”, lai veiktu šķīdumu atšķaidīšanu. | Skat. 2.5. att. | |
| 4. | Metodes nosaukuma ievadīšana. | Skat. 2.15. att. | |
| 5. | Koncentrācijas vienību izvēlēšanās. | | |
| 6. | Nosaukuma ievadīšana izejas šķīdumā esošajai komponentei. | | |
| 7. | Izejas šķīduma blīvuma ievadīšana. | | |
| 8. | Paraugu mērķa tilpumu ievadīšana. | | |
| 9. | Šķīdinātāja izvēlēšanās no dotajiem izvēles variantiem. | | |
| 10. | Izejas šķīduma šļirces izvēlēšanās no dotajiem izvēles variantiem. | | |
| 11. | Šķīdinātāja šļirces izvēlēšanās no dotajiem izvēles variantiem un pogas “Next” nospiešana. | | |
| 12. | Partijas nosaukuma ievadīšana. | | Skat. 2.16. att. |
| 13. | Kopējā paraugu skaita ievadīšana. | | |
| 14. | Izvēlas šļirču skalošanas metodi no dotajiem izvēles variantiem. | | |
| 15. | Mērķa koncentrāciju ievadīšana katram paraugam un pogas “Next” nospiešana. | Skat. 2.17. att. | |
| 16. | GA uzrāda kopējo darbam nepieciešamo izejas šķīduma un šķīdinātāja tilpumu. Pogas “Next” nospiešana. | Skat. 2.18. att. | |
| 17. | Pārlicinās, vai prasītās darbības uz ekrāna ir izpildītas un nospiež pogas “Done”. Kā arī pogas “Start” nospiešana. | - | |
| 18. | Atkritumu stobriņa novietošana uz analītiskajiem svāriem. Pogas “Continue” nospiešana. | - | |
| 19. | Iekārta uzsāk sistēmas un šļirču skalošanu, uzpilda šļirces tālākam darbam. | Skat. 2.19. att. | |
| 20. | Uz displeja parādās uzraksts “Novietot stobriņu Nr. 1 uz analītiskajiem svāriem”. Pogas “Continue” nospiešana. | - | |
| 21. | GA dod signālu svāriem nonullēties. | - | |
| 22. | Ņemot vērā ievadītos parametrus (mērķa tilpumu, koncentrāciju, izejas šķīduma koncentrāciju), GA aprēķina dozējamo izejas šķīduma masu. | - | |
| 23. | GA uzsāk izejas šķīduma dozēšanu. | - | |

2.4. tabulas turpinājums

| Nr. | Veicamās darbības | GA displejs |
|-----|--|------------------|
| 23. | GA iesūc atpakaļ izejas šķīdumu, lai neveidotos piliens. | - |
| 24. | Uz GA displeja uzrādās iedozētā izejas šķīduma masa. | Skat. 2.20. att. |
| 25. | GA aprēķina nepieciešamo šķīdinātāja masu, ņemot vērā jau iedozēto izejas šķīduma masu. | - |
| 26. | GA uzsāk šķīdinātāja dozēšanu. | - |
| 27. | GA iesūc atpakaļ šķīdinātāju, lai neveidotos piliens. | - |
| 28. | Uz GA displeja uzrādās iedozētā šķīdinātāja masa. | Skat. 2.20. att. |
| 29. | Uz displeja parādās uzraksts "Novietot stobriņu Nr. 2 uz analītiskajiem svāriem". Pogas "Continue" nospiešana. | Skat. 2.20. att. |
| 30. | Darbības 21-29 atkārtoti līdz ir pagatavota visa paraugu sērija. | - |
| 31. | Katras sērijas beigās GA uzrāda katram paraugam iedozēto izejas šķīduma un šķīdinātāja tilpumu, kā arī aprēķināto masas koncentrāciju. | Skat. 2.21. att. |
| 32. | Uz ekrāna nospiež pogu "Export", ja vēlas datus pārnest USB atmiņā. | |
| 33. | Uz ekrāna nospiež pogu "Home", ja vēlas turpināt darbu ar GA. | |

The screenshot shows the 'Dilution - general screen' with the following fields and buttons:

- Method name:** TEST
- Concentration units:** Mass % (selected), mg/ml
- Stock components:** Table with columns Name, Mg/ml, Add, Delete. Row: Caffeine, 1.
- Stock density:** 0.997627 g/ml
- Target amount of solution:** 50.000 ml
- Diluent:** Water (dropdown), New... button
- Stock syringe:** Hamilton 1001 (1 ml), Rate% 10
- Diluent syringe:** Hamilton 1025 (25 ml), Rate% 10
- Buttons:** Load..., Save..., Next, Home.

Labels on the left side of the image point to these fields:

- Metodes nosaukums
- Koncentrācijas mērvienības
- Komponentes izejas šķīdumā
- Izejas šķīduma blīvums
- Mērķa tilpums
- Šķīdinātāja izvēle
- Izejas šķīduma šļirces izvēle
- Šķīdinātāja šļirces izvēle
- Padeves ātruma maiņa
- Uzrādīt gatavu šablonu (Load...)
- Šablona izveide (Save...)
- Nākamais logs (Next)
- Sākuma ekrāns (Home)

2.15. attēls. Darbam nepieciešamo parametru ievade I, lai pagatavotu kofeīna šķīdumu 50 mL

Dilution - batch setup

Partijas nosaukums Batch name TEST_1

Paraugu skaits Number of samples 12

Šļirču skalošanas metodes Stock syringe rinse method Normal

..... Dilutor syringe rinse method Normal

Unit Mg/ml

| Number | Caffeine stock | Caffeine target | Stock% |
|--------|----------------|-----------------|--------|
| 1 | 1.000 | 0.001 | 0.100 |
| 2 | 1.000 | 0.002 | 0.200 |
| 3 | 1.000 | 0.004 | 0.400 |
| 4 | 1.000 | 0.005 | 0.500 |
| 5 | 1.000 | 0.006 | 0.600 |
| 6 | 1.000 | 0.008 | 0.800 |

Back Next Home

Atgriezties iepriekšējā logā

Nākamais logs

Sākuma ekrāns

Partijas nosaukums
Paraugu skaits
Šļirču skalošanas metodes
Kofeīna izejas šķīdums
Kofeīna šķīduma mērķa koncentrācija
Aprēķinātais izejas šķīdums%

2.16. attēls. Darbam nepieciešamo parametru ievade II, lai pagatavotu kofeīna šķīdumu 50 mL

Dilution - materials list

| Number | Stock (ml) | Diluent (ml) |
|--------|------------|--------------|
| 1 | 0.051 | 49.949 |
| 2 | 0.101 | 49.899 |
| 3 | 0.253 | 49.747 |
| 4 | 0.507 | 49.494 |
| 5 | 1.013 | 48.988 |
| 6 | 1.013 | 48.987 |
| 7 | 1.013 | 48.987 |
| 8 | 1.013 | 48.987 |

Total stock solution (ml) 7.0

Total diluent (ml) 499.0

Save... Back Next Home

Saglabāt

Atgriezties iepriekšējā logā

Nākamais logs

Sākuma ekrāns

Izejas šķīduma tilpums
Šķīdinātāja tilpums
Kopējais nepieciešamais izejas šķīdums
Kopējais nepieciešamais šķīdinātājs

2.17. attēls. Kopējā kofeīna izejas šķīduma un šķīdinātāja uzrādīšana

Dissolution - checklist

A pumpi ievietojiet tīru *Hamilton 1001* (1 mL) šļirci. Done

Install a clean syringe of type 'Hamilton 1001 (1 ml)' in pump A

B1 un B2 pumpjos ievietojiet divas tīras *Hamilton 1025* (25 mL) šļirces. Done

Install primary solution reservoir with 7 ml. Insert inlet tube A into it

Install two clean syringes of type 'Hamilton 1025 (25 ml)' in pumps B1 and B2

Izvēlieties dozēšanai nepieciešamo caurulīšu diametru un savienojiet to ar šķīdumu izejas līniju. Dozēšanas adatas ievietot dozatora galviņā. Done

Prepare a diluent reservoir with 494 ml of Water. Place inlet tubes B1 and B2 in it. Done

Choose the dispensing assembly size and connect it to the dispensing port. Thread dispensing needle through the needle guide. Done

Back Start >> Home

Atgriezties iepriekšējā logā Uzsākt darbu Sākuma ekrāns

Novietojiet trauku ar darbam nepieciešamo izejas šķīduma tilpumu un ievietojiet tajā A pumpim paredzēto iesūkšanas caurulīti.

Novietojiet trauku ar darbam nepieciešamo ūdens tilpumu un ievietojiet tajā pumpjiem paredzēto iesūkšanas caurulīti.

2.18. attēls. Gravimetriskā atšķaidītāja pārbaude pirms darba

Dilution - progress

| Number | Calc stock (g) | Calc diluent (g) | Act stock (g) | Act diluent (g) |
|--------|----------------|------------------|---------------|-----------------|
| 1 | 0.050 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 2 | 0.100 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 3 | 0.200 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 4 | 0.249 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 5 | 0.299 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 6 | 0.399 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 7 | 0.499 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 8 | 0.599 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 9 | 0.698 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

Aprēķinātā izejas šķīduma masa

Iedozētā izejas šķīduma masa

Aprēķinātā šķīdinātāja masa

Iedozētā šķīdinātāja masa

Novietojiet stobriņu Nr.1 Please install solution vessel No 1

Continue Cancel

Stop Home

Procesa turpināšana Procesa apturēšana Procesa atcelšana

2.19. attēls. Pirmā parauga sagatavošana ar gravimetrisko atšķaidītāju

Dilution - progress

| Number | Calc stock (g) | Calc diluent (g) | Act stock (g) | Act diluent (g) |
|--------|----------------|------------------|---------------|-----------------|
| 1 | 0.050 | 44.450 | 0.045 | 44.426 |
| 2 | 0.100 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 3 | 0.200 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 4 | 0.249 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 5 | 0.299 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 6 | 0.399 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 7 | 0.499 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 8 | 0.599 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 9 | 0.698 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |

Aprēķinātā izejas šķīduma masa
 Iedozētā izejas šķīduma masa
 Aprēķinātā šķīdinātāja masa
 Iedozētā šķīdinātāja masa

Novietojiet stobriņu Nr.2..... Please install solution vessel No 2

Procesa turpināšana Procesa apturēšana Procesa atcelšana

2.20. attēls. Otrā parauga sagatavošana ar gravimetrisko atšķaidītāju

Dilution report

Metodes nosaukums Description **TEST**
 Sērija Batch **TEST_1**
 Paraugu pagatavošanas laiks Report date **16:33**

| Number | Diluent (ml) | Stock (ml) | Caffeine (mg/ml) |
|--------|--------------|------------|------------------|
| 1 | 44.555 | 0.045 | 0.001 |
| 2 | 47.809 | 0.096 | 0.002 |
| 3 | 48.019 | 0.193 | 0.004 |
| 4 | 48.573 | 0.245 | 0.005 |
| 5 | 49.676 | 0.301 | 0.006 |
| 6 | 49.874 | 0.403 | 0.008 |
| 7 | 49.360 | 0.500 | 0.010 |

Iedozētā šķīdinātāja tilpums
 Iedozētā izejas šķīduma tilpums
 Aprēķinātā masas koncentrācija

Datu pārnese Sākuma ekrāns

2.21. attēls. Iegūto rezultātu tabula sērijas beigās un datu saglabāšana

Masas koncentrāciju gravimetriskais atšķaidītājs ($\gamma_{Atšk.}$) aprēķina, izmantojot 2.5. formulu un izsaka miligramos uz mililitru:

$$\gamma_{Atšk.} = \frac{\gamma_{Konc.} \cdot \frac{m_{Konc.}}{\rho_{Konc.}}}{\left(\frac{m_{Konc.}}{\rho_{Konc.}}\right) + \left(\frac{m_{Šķid.}}{\rho_{Šķid.}}\right)} \quad \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}, \quad (2.5.)$$

kur $\gamma_{\text{Atšķ.}}$ – GA aprēķinātā masas tilpuma koncentrācija paraugam, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;
 $\gamma_{\text{Konc.}}$ – masas tilpuma koncentrācija izejas šķīdumam, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$;
 $m_{\text{Konc.}}$ – GA iedozētā masa izejas šķīdumam, g;
 $\rho_{\text{Konc.}}$ – izejas šķīduma blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$;
 $m_{\text{Šķīd.}}$ – GA iedozētā šķīdinātāja masa, g;
 $\rho_{\text{Šķīd.}}$ – šķīdinātāja blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

Savukārt, ja operators izvēlas rezultātus iegūt masas daļās (Mass%), gravimetriskais atšķaidītājs rezultātu aprēķina pēc 2.6. formulas un izsaka procentos:

$$\text{Mass\%} = \frac{m_{\text{Konc.}}}{\left(\frac{m_{\text{Šķīd.}}}{\rho_{\text{Šķīd.}}}\right)} \cdot 100\%, \quad (2.6.)$$

kur Mass\% – masas daļa, %;
 $m_{\text{Konc.}}$ – iesvērtās vielas masa, g;
 $m_{\text{Šķīd.}}$ – GA iedozētā šķīdinātāja masa, g;
 $\rho_{\text{Šķīd.}}$ – šķīdinātāja blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

2.4. “Verity V2” veiktspējas izvērtēšana

2.4.1. Gravimetriska paraugu pagatavošana, šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL mērkolbā

Viens no GA “Verity V2” uzlabojumiem ir cietas vielas šķīdināšana noteiktā tilpumā, tādēļ eksperimenta mērķis ir noteikt iekārtas veiktspēju un verifikācijas raksturlielumus: linearitāti, pareizību un atkārtojamību, ja šķīdina kofeīna pulveri iekš 50 mL dejonizeta ūdens. Eksperimentā pagatavoja 5 paraugu sērijas koncentrāciju diapazonā no 0,16 līdz 0,24 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (skat. 2.5. tab.).

2.5. tabula

Gravimetriska cietās vielas šķīdināšana 50 mL

| Paraugu skaits | Mērķa koncentrācijas, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ | Aprēķinātā kofeīna masa, g | Uzdotais tilpums, mL |
|----------------|--|----------------------------|----------------------|
| 1. | 0,16 | 0,008 | 50 |
| 2. | 0,20 | 0,010 | 50 |
| 3. | 0,20 | 0,010 | 50 |
| 4. | 0,20 | 0,010 | 50 |
| 5. | 0,20 | 0,010 | 50 |
| 6. | 0,24 | 0,012 | 50 |

Gravimetriski pagatavotos paraugus ievietoja AEŠH autosamplerī, lai noteiktu šķīdumu precīzās masas koncentrācijas hromatogrāfiski. Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādīto masas koncentrāciju salīdzināja ar hromatogrāfiski iegūtajiem rezultātiem. Kā references šķīdumu izmantoja 0,20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ kofeīna ūdens šķīdumu, katru paraugu injicējot trīs reizes.

Ņemot vērā analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, gravimetriski pagatavotajiem kofeīna šķīdumiem, šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL dejonizēta ūdens, pēc formulas 2.7. tika aprēķināta iegūto rezultātu nenoteiktība.

$$u^{\text{"Verity V2"}} = \left(\frac{\Delta m_{\text{svariem}}}{\gamma^{\text{"Verity V2"}}} \right) \cdot \gamma^{\text{"Verity V2"}} = \left(\frac{0,00002}{0,16002} \right) \cdot 0,16002 = 0,00002, \quad (2.7.)$$

kur $u^{\text{"Verity V2"}}$ – gravimetriski pagatavotā kofeīna šķīduma mērījuma nenoteiktība, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$;
 $\Delta m_{\text{svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;
 $\gamma^{\text{"Verity V2"}}$ – masas koncentrācija kofeīna ūdenš šķīdumam kādu aprēķināja gravimetriskais atšķaidītājs, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$.

2.4.2. Gravimetriska paraugu pagatavošana, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL mērkolbā

Eksperimenta mērķis ir noteikt GA veiktspēju un verifikācijas raksturlielumus: linearitāti, pareizību un atkārtojamību, ja parauga mērķa tilpums ir 50 mL. Eksperimentā pagatavoja 5 paraugu sērijas koncentrāciju diapazonā no 0,020 līdz 0,001 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ (skat. 2.6. tab.). Kofeīna ūdens šķīduma koncentrāta masas tilpuma koncentrācija bija 1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, kā šķīdinātāju izmantojot dejonizētu ūdeni.

2.6. tabula

Gravimetriska paraugu pagatavošana ar mērķa tilpumu 50 mL

| Paraugu skaits | Mērķa koncentrācijas, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ | Atšķaidījuma pakāpe | Uzdotais tilpums, mL |
|----------------|--|---------------------|----------------------|
| 1. | 0,001 | 1000 | 50 |
| 2. | 0,002 | 500 | 50 |
| 3. | 0,004 | 250 | 50 |
| 4. | 0,005 | 200 | 50 |
| 5. | 0,006 | 167 | 50 |
| 6. | 0,008 | 125 | 50 |
| 7. | 0,010 | 100 | 50 |
| 8. | 0,012 | 83 | 50 |
| 9. | 0,014 | 71 | 50 |
| 10. | 0,016 | 63 | 50 |
| 11. | 0,018 | 56 | 50 |
| 12. | 0,020 | 50 | 50 |

Gravimetriski pagatavotos paraugus ievietoja AEŠH autosamplerī, lai noteiktu šķīdumu precīzās masas koncentrācijas hromatogrāfiski. Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādīto masas

koncentrāciju salīdzināja ar hromatogrāfiski iegūtajiem rezultātiem. Kā references šķīdumu izmantoja 0,02 mg·mL⁻¹ kofeīna ūdens šķīdumu, katru paraugu injicējot trīs reizes.

Ņemot vērā 1L mērkolbas un analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, gravimetriski pagatavotajiem kofeīna šķīdumiem 50 mL, pēc 2.8. formulas aprēķināja iegūto rezultātu nenoteiktību.

$$u_{\text{"Verity } V_2"} = \sqrt{\left(\left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{m_{\text{Kofeīnam}}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\text{Mērkolbai}}}{V_{\text{Mērkolbai}}}\right)^2\right)^2 + \left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{\gamma_{\text{"Verity } V_2}}}\right)^2} \cdot \gamma_{\text{"Verity } V_2"} =$$

$$\sqrt{\left(\left(\frac{0,00002}{1,00000}\right)^2 + \left(\frac{0,4}{1000,0}\right)^2\right)^2 + \left(\frac{0,00002}{0,01999}\right)^2} \cdot 0,01999 = 0,000013 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}, \quad (2.8.)$$

kur $u_{\text{"Verity } V_2"}$ – gravimetriski pagatavotā kofeīna šķīduma mērījuma nenoteiktība, mg·mL⁻¹;
 $\Delta m_{\text{Svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;
 $m_{\text{Kofeīnam}}$ – kofeīna iesvars izejas šķīduma pagatavošanai, g;
 $\Delta V_{\text{Mērkolbai}}$ – mērkolbas precizitāte, mL;
 $V_{\text{Mērkolbai}}$ – tilpums kādā pagatavoja izejas šķīdumu, mL;
 $\gamma_{\text{"Verity } V_2"}$ – masas koncentrācija kofeīna ūdenš šķīdumam kādu aprēķināja gravimetriskais atšķaidītājs, mg·mL⁻¹.

2.4.3. Gravimetriska paraugu pagatavošana, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL mērkolbā

Eksperimenta mērķis ir pagatavot šķīdumus ar mazām mērķa koncentrācijām (tādējādi samazinot šķīdinātāja patēriņu) un apkopot gravimetriskās iekārtas verifikācijas raksturlielumus: linearitāti, pareizību un atkārtojamību. Eksperimentā pagatavoja 5 paraugu sērijas koncentrāciju diapazonā no 0,100 līdz 0,005 mg·mL⁻¹ (skat. 2.7. tab.). Kofeīna ūdens izejas šķīduma masas tilpuma koncentrācija bija 1 mg·mL⁻¹, kā šķīdinātāju izmantojot dejonizētu ūdeni.

Gravimetriska paraugu pagatavošana ar mērķa tilpumu 10 mL

| Paraugu skaits | Mērķa koncentrācijas, $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ | Atšķaidījuma pakāpe | Uzdotais tilpums, mL |
|----------------|--|---------------------|----------------------|
| 1. | 0,005 | 200 | 10 |
| 2. | 0,010 | 100 | 10 |
| 3. | 0,020 | 50 | 10 |
| 4. | 0,020 | 50 | 10 |
| 5. | 0,020 | 50 | 10 |
| 6. | 0,020 | 50 | 10 |
| 7. | 0,020 | 50 | 10 |
| 8. | 0,020 | 50 | 10 |
| 9. | 0,050 | 20 | 10 |
| 10 | 0,100 | 10 | 10 |

Gravimetriski pagatavotos paraugus ievietoja AEŠH autosamplerī, lai noteiktu iegūto šķīdumu precīzās masas koncentrācijas. Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādīto masas koncentrāciju salīdzināja ar hromatogrāfiski iegūtajiem rezultātiem. Kā references šķīdumu izmantoja $0,02 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ kofeīna ūdens šķīdumu, katru paraugu injicējot trīs reizes.

Gravimetriski pagatavotajiem kofeīna šķīdumiem 10 mL pēc 2.7. formulas aprēķināja iegūto rezultātu nenoteiktību.

2. 5. Augsti efektīvā šķidrums hromatogrāfija

Gravimetriski pagatavoto paraugu precīzo koncentrāciju noteica ar AEŠH. Kurša darbā izmantoja apgrieztās fāzes hromatogrāfiju. Stacionārā fāze ir izteikti nepolāra, un kustīgā fāze ir relatīvi polāra. Kofeīna ūdens šķīduma analīzei izveidoja sekojošus analītiskās metodes nosacījumus (skat. 2.8. tabulu).

Analītiskās metodes nosacījumi kofeīna hromatogrāfiskai noteikšanai

| | |
|--|--------------------------|
| Analītiskā kolonna: | Waters SunFire® C18 |
| Kolonnas parametri | 150 x 3,0 mm |
| Daļiņu izmērs | 5 μm |
| Kolonnas temperatūra: | 40 ±0,3 °C |
| Paraugu temperatūra: | 25 ±0,3 °C |
| Plūsmas režīms | Izokrātisks |
| Kustīgā fāze A: | 60 % ūdens |
| Kustīgā fāze B: | 40% metanols |
| Plūsmas ātrums: | 0,6 mL/min |
| Injicējamais tilpums: | 10 μL |
| Analīzes laiks: | 3,0 min |
| Detektors: | UV - 273 nm |
| Kofeīna references šķīdums, ja veic cietas vielas šķīdināšanu: | 0,20 mg·mL ⁻¹ |
| Kofeīna references šķīdums, ja veic izejas šķīduma atšķaidīšanu: | 0,02 mg·mL ⁻¹ |

Ņemot vērā 1 L mērkolbas un analītisko svaru mērījumu nenoteiktību, pagatavotajiem kofeīna ūdens standart šķīdumam, pēc 2.9. formulas aprēķināja iegūto rezultātu nenoteiktību. Piemērā aprēķinātā nenoteiktība ir veikta standartšķīdumam ar masas koncentrāciju 0,02 mg·mL⁻¹.

$$u_{\text{Hromatogrāfijai}} = \sqrt{\left(\left(\frac{\Delta m_{\text{Svariem}}}{m_{\text{Kofeīnam}}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta V_{\text{Mērkolbai}}}{V_{\text{Mērkolbai}}}\right)^2\right)^2 + \left(\frac{\text{RSD}\%}{100\%}\right)^2} \cdot \gamma_{\text{Hromatogrāfijai}} =$$

$$\sqrt{\left(\left(\frac{0,00002}{0,04000}\right)^2 + \left(\frac{0,6}{2000,0}\right)^2\right)^2 + \left(\frac{0,08}{100\%}\right)^2} \cdot 0,02006 = 0,00002, \quad (2.9.)$$

kur $u_{\text{Hromatogrāfijai}}$ – hromatogrāfiski noteiktā kofeīna šķīduma mērījumu nenoteiktība, mg·mL⁻¹;
 $\Delta m_{\text{Svariem}}$ – analītisko svaru precizitāte, g;
 $m_{\text{Kofeīnam}}$ – kofeīna iesvars standartšķīdumā, g;
 $\Delta V_{\text{Mērkolbai}}$ – mērkolbas precizitāte, mL;
 $V_{\text{Mērkolbai}}$ – tilpums kādā pagatavoja standarta šķīdumu, mL;
RSD – trīs injekciju reizes gravimetriski pagatavotajiem paraugiem, %;
 $\gamma_{\text{Hromatogrāfijai}}$ – masas koncentrācija kofeīna ūdenš šķīdumam kādu aprēķināja hromatogrāfiski, mg·mL⁻¹.

2.6. Šķīdumu blīvuma noteikšana ar “Verity V2”

Analītiskajā praksē bieži vien izmanto sarežģīta sastāva šķīdinātājus, kuru blīvums nav aprakstīts literatūrā. Tādi, piemēram, var būt buferšķīdumi spektrofotometriskajā analīzē vai jaukta sastāva šķīdinātāji hromatogrāfijā.

Labi pazīstamas metodes ar kurām mūsdienās nosaka šķīdumu blīvumu ir densitometrs, piknometrs, blīvuma svāri vai blīvuma mērītājs. Mērīšana ar densitometriem ir precīza, relatīvi vienkārša, bet prasa ievērojamu analizējama parauga patēriņu. Ar piknometru palīdzību arī var iegūt precīzus rezultātus ($\pm 0,001 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$), bet metode ir darbietilpīga, lēna un prasa ārkārtīgi rūpīgu izpildi. Modernie blīvuma mērītāji ir ērti darbā, ievērojami precīzāki ($\pm 0,00002 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$), bet dārgi. Jebkura no šīm iekārtām prasa zināmu papildus telpu laboratorijā. Tāpēc būtu interesanti izskatīt iespēju veikt blīvuma ekspresnoteikšanu nevis ar atsevišķu papildus iekārtu, bet ar gravimetrisko atšķaidītāju “Verity V2”.

“Verity V2” kalibrēšana blīvuma noteikšanai tika veikta sekojoši:

1. tika pagatavots acetonitrila-ūdens bināros maisījumus (skat 2.9. tab.);
2. šķīdums tika izturēts līdz istabas temperatūrai ($\sim 23^\circ \text{C}$);
3. sākumā tika veikta blīvuma noteikšanu dejonizētajam ūdenim 4 eksperimentu sērijās (katrā sērijā 10 mērījumi);
4. tad noteikts blīvums acetonitrila-ūdens binārajiem maisījumiem, veicot 3 eksperimentu sērijas (katrā sērijā 10 mērījumi). Pirms katras eksperimentu sērijas tikta veikti 10 atkārtoti mērījumi ūdenim, lai noteiktu tā blīvumu esošajā istabas temperatūrā. Tas nepieciešams, lai ūdens blīvuma mērījumus izmantu kā kalibrantus tālākajos aprēķinos, nosakot acetonitrila-ūdens bināro maisījumu blīvumus.

2.9. tabula

Blīvuma noteikšana acetonitrila-ūdens binārajiem maisījumiem

| Paraugu skaits | Acetonitrila masas daļa ūdenī, % | Acetonitrila moldaļa ūdenī, % | Iedozējamais tilpums, mL | Literatūrā atrastais blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ [28] | Sagaidāmā iedozētā masa, g |
|----------------|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------|--|----------------------------|
| 1. | 0 | 0,00 | 20 | 0,998 | 19,952 |
| 2. | 25 | 0,13 | 20 | 0,957 | 19,134 |
| 3. | 50 | 0,31 | 20 | 0,896 | 17,912 |
| 4. | 70 | 0,57 | 20 | 0,841 | 16,812 |
| 5. | 100 | 1,00 | 20 | 0,780 | 15,594 |

Lai noteiktu blīvumu acetnitrila-ūdens binārajiem maisījumiem, tika veikti aprēķini pēc formulas 2.10. un izteica $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$:

$$\rho_{\text{Maisījums}} = \frac{m_{\text{Maisījums}}}{m_{\text{ūdenim}}} \cdot \rho_{\text{ūdenim}} = \left(\frac{17,9120}{19,9435}\right) \cdot 0,9977 = 0,8961 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}, \quad (2.10.)$$

kur $\rho_{\text{Maisījums}}$ – acetnitrila-ūdens binārā maisījuma blīvums, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$;
 $m_{\text{Maisījums}}$ – vidējā masa acetnitrila-ūdens binārajam maisījumam, g;
 $m_{\text{ūdenim}}$ – vidējā masa ūdenim, pirms katras acetnitrila-ūdens binārā maisījuma blīvuma noteikšanas sērijas, g;
 $\rho_{\text{ūdenim}}$ – literatūrā minētais ūdens blīvums pie 23°C temperatūras, $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$.

3. REZULTĀTI UN TO IZVĒRTĒJUMS

Maģistra darba rezultātu daļā ir apkopoti un uzrādīti rezultāti, kas ir iegūti ar mērķi:

- izvērtēt gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēju, šķīdinot cietu vielu;
- izvērtēt gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēju, pagatavojot tipiskus šķīdumus ar mērķa tilpumu 50 mL;
- izvērtēt gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēju, ja pagatavojamo šķīdumu mērķa tilpumu samazina līdz 10 mL;
- izvērtēt gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēju šķīduma blīvuma mērīšanā.

Viens no galvenajiem uzlabojumiem gravimetriskajam atšķaidītājam “*Verity V2*” ir vertikālā sūkņu sistēma. Sūkņu sistēma spēj ievērojami ātrāk veikt šķīdumu iesūkšanu un dozēšanu, tādējādi samazinot laiku, kas bija nepieciešams paraugu sagatavošanai. GA uzstādījumos ir iespējams mainīt sūkņu dozēšanas ātrumu pēc operatora ieskatiem. Pagaidām iekārtai “*Verity V2*” ir pievienota tikai viena šķīdinātāja šļirce, bet, turpinot iekārtas pilveidošanu un eksperimentus, ir plānots pievienot arī otru šķīdinātāja šļirci, kas nodrošinās vēl ātrāku paraugu pagatavošanu.

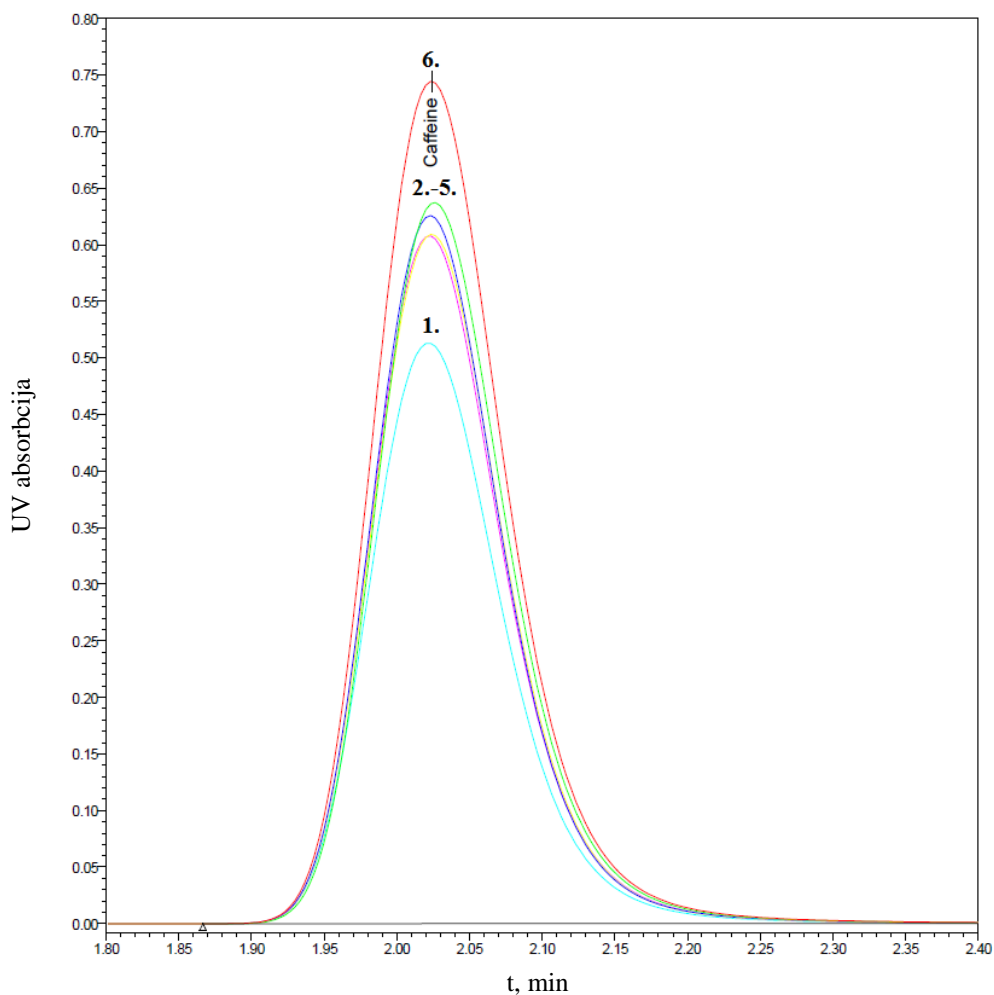
3.1. Gravimetriska paraugu pagatavošana šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL

Eksperimenta mērķis ir noteikt GA specifikāciju raksturojošos lielumus: linearitāti, pareizību un atkārtojamību, veicot kofeīna pulvera šķīdināšanu 50 mL ar dejonizētu ūdeni. Gravimetriski pagatavoja 5 sērijas, katrā sērijā 6 paraugi, masas koncentrāciju diapazonā 0,16-0,24 mg·mL⁻¹. 3.1. tabulā ir salīdzinātas paraugu masas koncentrācijas, kādas ir uzrādījis gravimetriskais atšķaidītājs pirmajai paraugu sērijai ar koncentrācijām kādas ir iegūtas paraugus analizējot hromatogrāfiski. Eksportētos rezultātus, ko uzrādīja gravimetriskais atšķaidītājs, skatīt 1. pielikumā.

“Verity V2” uzrādīto un hromatogrāfiski aprēķināto masas koncentrāciju (γ) un nenoteiktību (u) salīdzinājums pirmajai paraugu sērijai, šķīdinot kofeīna pulveri

| Nr. | Mērķa koncentrācija, $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādītā γ , $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ | u , $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ | Hromatogrāfiski aprēķinātā γ , $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ |
|-----|---|-----------------------------|---|--------------------------------------|--|
| 1. | 0,16 | 0,16002 | 0,00002 | 0,1644 | 0,0004 |
| 2. | 0,20 | 0,20002 | 0,00002 | 0,1943 | 0,0002 |
| 3. | 0,20 | 0,20002 | 0,00002 | 0,1955 | 0,0002 |
| 4. | 0,20 | 0,20003 | 0,00002 | 0,1982 | 0,0003 |
| 5. | 0,20 | 0,20002 | 0,00002 | 0,2039 | 0,0002 |
| 6. | 0,24 | 0,24004 | 0,00002 | 0,2376 | 0,0003 |

Apskatot iegūtos rezultātus var redzēt, ka hromatogrāfiski aprēķinātās masas koncentrācijas ievērojami atšķirās no koncentrācijām kādas ir uzrādījis gravimetriskais atšķaidītājs. 3.1. attēlā ir redzamas hromatogrammas pirmajā sērijā pagatavotajiem sešiem praugiem.

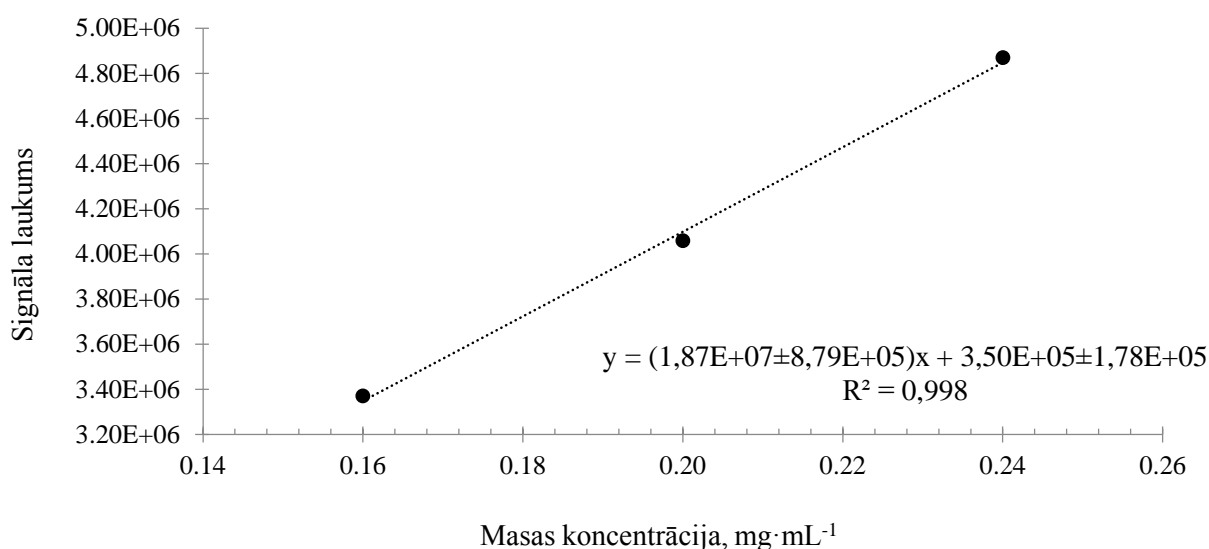


3.1. att. Hromatogrammas pirmajai gravimetriski pagatavotajai paraugu sērijai, šķīdinot kofeīna pulveri

Salīdzinot hromatogrammas uzskatāmi var redzēt, ka nav iegūta atkārtotamība starp šķīdumiem ar vienādām mērķa koncentrācijām ($0,20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

3.1.1. Linearitātes izvērtēšana

Gravimetriskā atšķaidītāja veiktspēju šķīdinot cietu vielu pārbaudīja pagatavojot 5 eksperimentu sērijas. Pirmajā sērijā gravimetriski iegūto paraugu linearitāti parāda 3.2. attēls. Grafikā redzamais punkts, kas atbilst $\sim 0,20 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, ir iegūts aprēķinot vidējo vērtību starp paraugiem no 2. līdz 5. ($0,200023 \pm 0,000005 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).



3.2. att. Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitāte pirmajai sērijai, šķīdinot kofeīna pulveri

Savukārt gravimetriski pagatavoto paraugu korelācijas koeficienti, piecām paralēlajām šķīdumu sērijām ir apkopoti 3.2. tabulā.

3.2. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitāte šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL

| Sērijas nr. | Korelācijas koeficients |
|-------------|-------------------------|
| 1. | 0,998 |
| 2. | 0,95 |
| 3. | 0,990 |
| 4. | 0,91 |
| 5. | 0,94 |

Apskatot 3.2. tabulu var redzēt, ka linearitāte piecās gravimetriski pagatavotajās paraugu sērijās ir zema un neatbilst uzstādītajam mērķim ($R^2 > 0,999$).

3.1.2. Pareizības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā atgūstamība (%) katrai no koncentrācijām starp piecām paralēlajām paraugu sērijām ir apkopota 3.3. tabulā.

3.3. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu pareizība šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Vidējā atgūstamība, % |
|-------------|---|--------------------------|
| 1. | 0,16 | 101,8 |
| 2. | 0,20 | 97,3 |
| 3. | 0,20 | 96,1 |
| 4. | 0,20 | 100,2 |
| 5. | 0,20 | 99,9 |
| 6. | 0,24 | 97,3 |

Apskatot 3.3. tabulu var redzēt, ka gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā atgūstamība (%), veicot kofeīna pulvera šķīdināšanu, nav iegūta.

3.1.3. Atkārtojamības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējās relatīvās standartnovirzes (%), katrai koncentrācijai starp piecām paralēlajām paraugu sērijām, ir apkopotas 3.4. tabulā.

3.4. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu atkārtojamība šķīdinot kofeīna pulveri 50 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Vidējā RSN, % |
|-------------|---|---------------|
| 1. | 0,16 | 3,13 |
| 2. | 0,20 | 4,15 |
| 3. | 0,20 | 6,87 |
| 4. | 0,20 | 1,66 |
| 5. | 0,20 | 2,09 |
| 6. | 0,24 | 2,28 |

Apskatot 3.4. tabulu var redzēt, ka relatīvās standartnovirzes (%), piecām gravimetriski pagatavotajām paraugu sērijām visā koncentrāciju diapazonā, ir >1,00%, neatbilst uzstādītajam mērķim (RSN < 1%).

Gravimetriskā atšķaidītāja pagatavoto paraugu linearitāte, pareizība un atkārtojamība neatbilst iekārtu specifikācijās izvirzītajām prasībām, ja cietu vielu šķīdina 50 mL. No iegūtajiem rezultātiem var secināt, ka vēl ir nepieciešams testēt, uzlabot programmatūru un turpināt datu apkopošanu.

3.2. Gravimetriska paraugu pagatavošana atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL

Eksperimenta mērķis ir noteikt GA specifikāciju raksturojošos lielumus: linearitāti, pareizību un atkārtojamību. Gravimetriski pagatavoja 5 paraugu sērijas masas koncentrāciju diapazonā 0,001-0,020 mg·mL⁻¹ ar mērķa tilpumu 50 mL. Uzdoto koncentrāciju iegūšanai, GA kofeīna izejas šķīdumu (1 mg·mL⁻¹) atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni 50-1000 reizes. Eksperimentā izvēlētās masas koncentrācijas un tilpums ir izvēlēts līdzīgs apstākļiem kādus mūsdienās izmanto volumetriskai paraugu pagatavošanai.

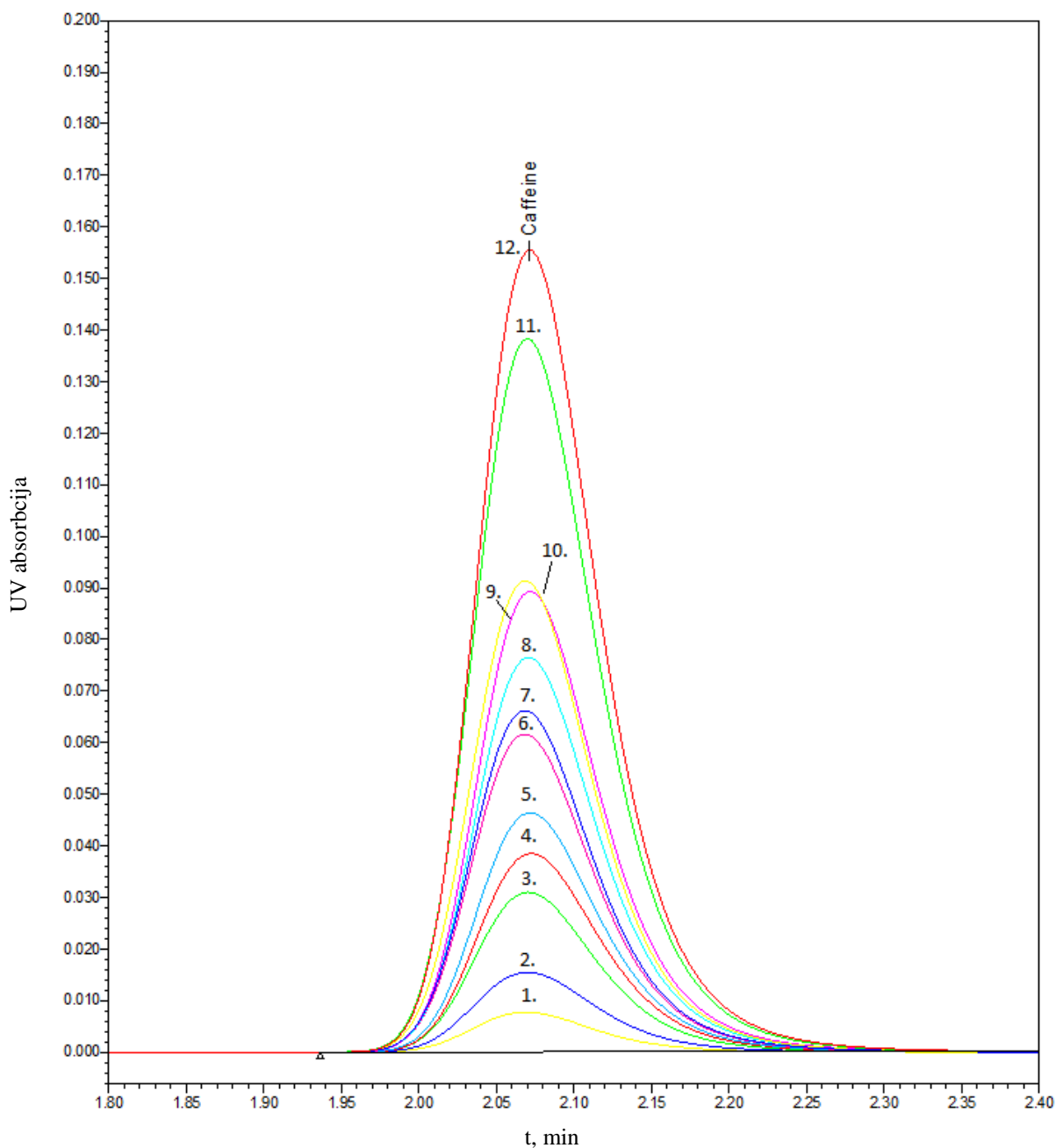
3.5. tabulā ir salīdzinātas koncentrācijas kādas ir uzrādījis gravimetriskais atšķaidītājs, pirmās paraugu sērijas divpadsmit paraugiem, ar koncentrācijām kādas ir iegūtas paraugus analizējot hromatogrāfiski. Eksportētos rezultātus, ko uzrādīja gravimetriskais atšķaidītājs skatīt 2. pielikumā.

3.5. tabula

“Verity V2” uzrādīto un hromatogrāfiski aprēķināto masas koncentrāciju (γ) un nenoteiktību (u) salīdzinājums pirmajai paraugu sērijai, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL

| Nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādītā γ , mg·mL ⁻¹ | u , mg·mL ⁻¹ | Hromatogrāfiski aprēķinātā γ , mg·mL ⁻¹ | u , mg·mL ⁻¹ |
|-----|--|-----------------------------|--|---------------------------|---|---------------------------|
| 1. | 0,001 | 1000 | 0,001003 | 0,000010 | 0,001014 | 0,000008 |
| 2. | 0,002 | 500 | 0,002005 | 0,000010 | 0,002032 | 0,000003 |
| 3. | 0,004 | 250 | 0,004011 | 0,000010 | 0,004063 | 0,000002 |
| 4. | 0,005 | 200 | 0,005013 | 0,000010 | 0,005094 | 0,000004 |
| 5. | 0,006 | 167 | 0,006016 | 0,000010 | 0,006073 | 0,000006 |
| 6. | 0,008 | 125 | 0,008020 | 0,000010 | 0,008089 | 0,000004 |
| 7. | 0,010 | 100 | 0,010026 | 0,000011 | 0,010188 | 0,000006 |
| 8. | 0,012 | 83 | 0,012031 | 0,000011 | 0,01209 | 0,000002 |
| 9. | 0,014 | 71 | 0,014036 | 0,000011 | 0,01408 | 0,000003 |
| 10. | 0,016 | 63 | 0,016041 | 0,000012 | 0,016029 | 0,000007 |
| 11. | 0,018 | 56 | 0,018047 | 0,000012 | 0,018202 | 0,000010 |
| 12. | 0,020 | 50 | 0,020051 | 0,000013 | 0,02038 | 0,000002 |

3.3. attēlā ir apkopotas hromatogrammas pirmajā sērijā pagatavotajiem divpadsmit praugiem.

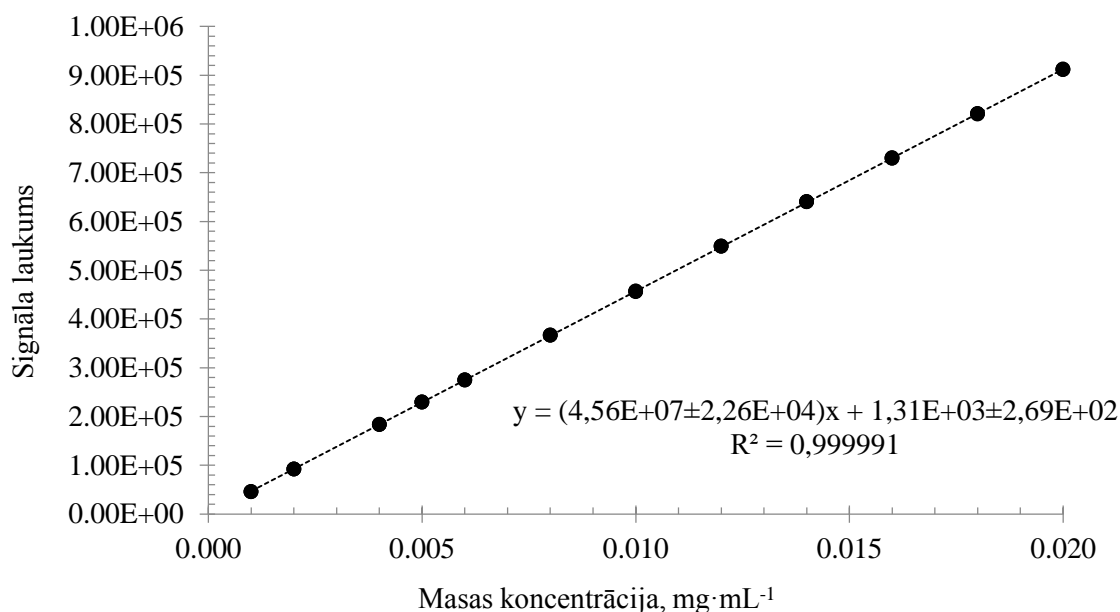


3.3. att. Hromatogrammas pirmajai gravimetriski pagatavotajai paraugu sērijai ar mērķa tilpumu 50 mL

Hromatogrammā uzskatāmi var redzēt kā pieaugot paraugu koncentrācijai proporcionāli pieaug arī signāla laukums.

3.2.1. Linearitātes izvērtēšana

Lai izvērtētu gravimetriskā atšķaidītāja veiktspēju izejas šķīduma atšķaidīšanā 50-1000 reizes, veiktas 5 eksperimentu sērijas. Pirmajā sērijā gravimetriski iegūto šķīdumu linearitāti parāda 3.4. attēls.



3.4. att. Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitate pirmajai paraugu sērijai ar mērķa tilpumu 50 mL

Gravimetriski pagatavoto paraugu korelācijas koeficienti piecām paralēlajām šķīdumu sērijām ir apkopoti 3.6. tabulā.

3.6. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitāte atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL

| Sērijas nr. | Korelācijas koeficienti iegūti ar "Verity V2" | Korelācijas koeficienti iegūti ar "Verity VI" |
|-------------|---|---|
| 1. | 0,999991 | 0,999993 |
| 2. | 0,99998 | 0,999994 |
| 3. | 0,99993 | 0,999993 |
| 4. | 0,99997 | 0,999989 |
| 5. | 0,99995 | 0,999987 |

Apskatot 3.6. tabulu var redzēt, ka linearitāte piecās gravimetriski pagatavotajās paraugu sērijās, kas iegūtas ar "Verity V2", ir $R^2 > 0,9999$, kas atbilst uzstādītajam mērķim ($R^2 > 0,999$).

3.2.2. Pareizības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā atgūstamība (%) katrai no koncentrācijām starp piecām paralēlajām paraugu sērijām ir apkopota 3.7. tabulā.

3.7. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu pareizība atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Vidējā atgūstamība ar "Verity V2", % | Vidējā atgūstamība ar "Verity V1", % |
|-------------|--|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. | 0,001 | 1000 | 101,8 | 100,2 |
| 2. | 0,002 | 500 | 101,3 | 100,1 |
| 3. | 0,004 | 250 | 101,9 | 100,5 |
| 4. | 0,005 | 200 | 101,6 | 100,3 |
| 5. | 0,006 | 167 | 101,0 | 100,2 |
| 6. | 0,008 | 125 | 101,6 | 100,2 |
| 7. | 0,010 | 100 | 101,8 | 100,00 |
| 8. | 0,012 | 83 | 101,9 | 100,1 |
| 9. | 0,014 | 71 | 101,7 | 100,0 |
| 10. | 0,016 | 63 | 101,9 | 100,1 |
| 11. | 0,018 | 56 | 101,8 | 100,0 |
| 12. | 0,020 | 50 | 100,9 | 100,1 |

Apskatot 3.7. tabulu var redzēt, ka gravimetriski pagatavoto paraugu atgūstamība, starp piecām paralēlajām sērijām, visā koncentrāciju diapazonā, ir 100,0±2,0%, kas atbilst uzstādītajam mērķim (98-102%).

Izvērtējot iegūto atgūstamību paraugiem ar mērķa tilpumu 50 mL var redzēt, ka visi iegūtie rezultāti ir vienlīdzīgi palielināti, kas varētu norādīt uz sistemātisku kļūdu. Veicot tālākus pētījumus un gravimetriski pagatavojot šķīdumus ar mērķa tilpumu 10 mL, netika novērota atgūstamības palielināšanās ~1,5%. Gravimetriski pagatavojot paraugus ar mērķa tilpumu 50 mL var secināt, ka iekārtai ir jāpārskata un jāveic uzlabojumi dināmiskās svēršanas algoritmā.

3.2.3. Atkārtojamības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā relatīvās standartnovirzes (%) katrai koncentrācijai starp piecām paralēlajām paraugu sērijām ir apkopotas 3.8. tabulā.

Gravimetriski pagatavoto paraugu atkārtojamība, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 50 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Vidējā RSN ar "Verity V2", % | Vidējā RSN ar "Verity VI", % |
|-------------|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 1. | 0,001 | 1000 | 0,64 | 0,67 |
| 2. | 0,002 | 500 | 0,35 | 0,28 |
| 3. | 0,004 | 250 | 0,48 | 0,61 |
| 4. | 0,005 | 200 | 0,50 | 0,19 |
| 5. | 0,006 | 167 | 0,36 | 0,15 |
| 6. | 0,008 | 125 | 0,36 | 0,20 |
| 7. | 0,010 | 100 | 0,22 | 0,28 |
| 8. | 0,012 | 83 | 0,80 | 0,36 |
| 9. | 0,014 | 71 | 0,37 | 0,17 |
| 10. | 0,016 | 63 | 0,37 | 0,20 |
| 11. | 0,018 | 56 | 0,36 | 0,23 |
| 12. | 0,020 | 50 | 0,49 | 0,12 |

Apskatot 3.8. tabulu var redzēt, ka relatīvās standartnovirzes (%), piecām gravimetriski pagatavotajām paraugu sērijām visā koncentrāciju diapazonā, ir <1,0%, kas atbilst uzstādītajam mērķim (RSN < 1%).

Gravimetriskā atšķaidītāja "Verity V2" pagatavoto paraugu linearitāte, pareizība un atkārtojamība atbilst iekārtu specifikācijās izvirzītajām prasībām, ja šķīdumu mērķa tilpumi ir 50 mL. Pagatavojot šķīdumus gravimetriski kļūda ir pietiekami maza. Kopējā kļūda procedūrai, kas iekļauj paraugu atšķaidīšanu un hromatogrāfisko analīzi nepārsniedz uzdotās robežas.

Savstarpēji salīdzinot gravimetrisko atšķaidītāju veiktspēju, starp otrajā kursa darbā aprakstīto "Verity VI" un maģistra darbā apskatīto "Verity V2" var secināt, ka, veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 50 mL:

- iegūtā linearitāte abām iekārtām ir līdzīga ($R^2 > 0,9999$).
- iegūtā pareizība, veicot paraugu sagatavošanu ar gravimetrisko atšķaidītāju "Verity VI" ($100,0 \pm 0,5\%$) ir ievērojami labāka par pareizību, kas ir sasniegta ar "Verity V2" ($100,0 \pm 2,0\%$).
- iegūtā atkārtojamība abām iekārtām ir līdzīga <0,8%.

Iegūtie rezultāti starp iekārtām ir salīdzināmi, jo otrā kursa darba ietvaros gravimetriski pagatavoja paraugus tādos pašos koncentrāciju diapazonos kā maģistra darbā [19].

3.3. Gravimetriska paraugu pagatavošana atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL

Iespēja precīzi pagatavot šķīdumus nelielos daudzumos ir svarīga gan ekanomisko, gan vides apsvērumu dēļ. Eksperimenta mērķis ir noteikt GA specifiskāciju raksturojošos lielumus: linearitāti, pareizību un atkārtotamību.

Gravimetriski pagatavoja 5 paraugu sērijas masas koncentrāciju diapazonā no 0,100 līdz 0,005 mg·mL⁻¹ ar mērķa tilpumu 10 mL. Uzdoto koncentrāciju iegūšanai, GA kofeīna izejas šķīdumu (1 mg·mL⁻¹) atšķaidīja ar dejonizētu ūdeni 10-200 reizes. Eksperimentā uzdotās masas koncentrācijas un tilpums ir izvēlēts neliels, lai noteiktu GA veiktspēju mazos mērķa tilpumos, tādējādi samazinot šķīdinātāja patēriņu.

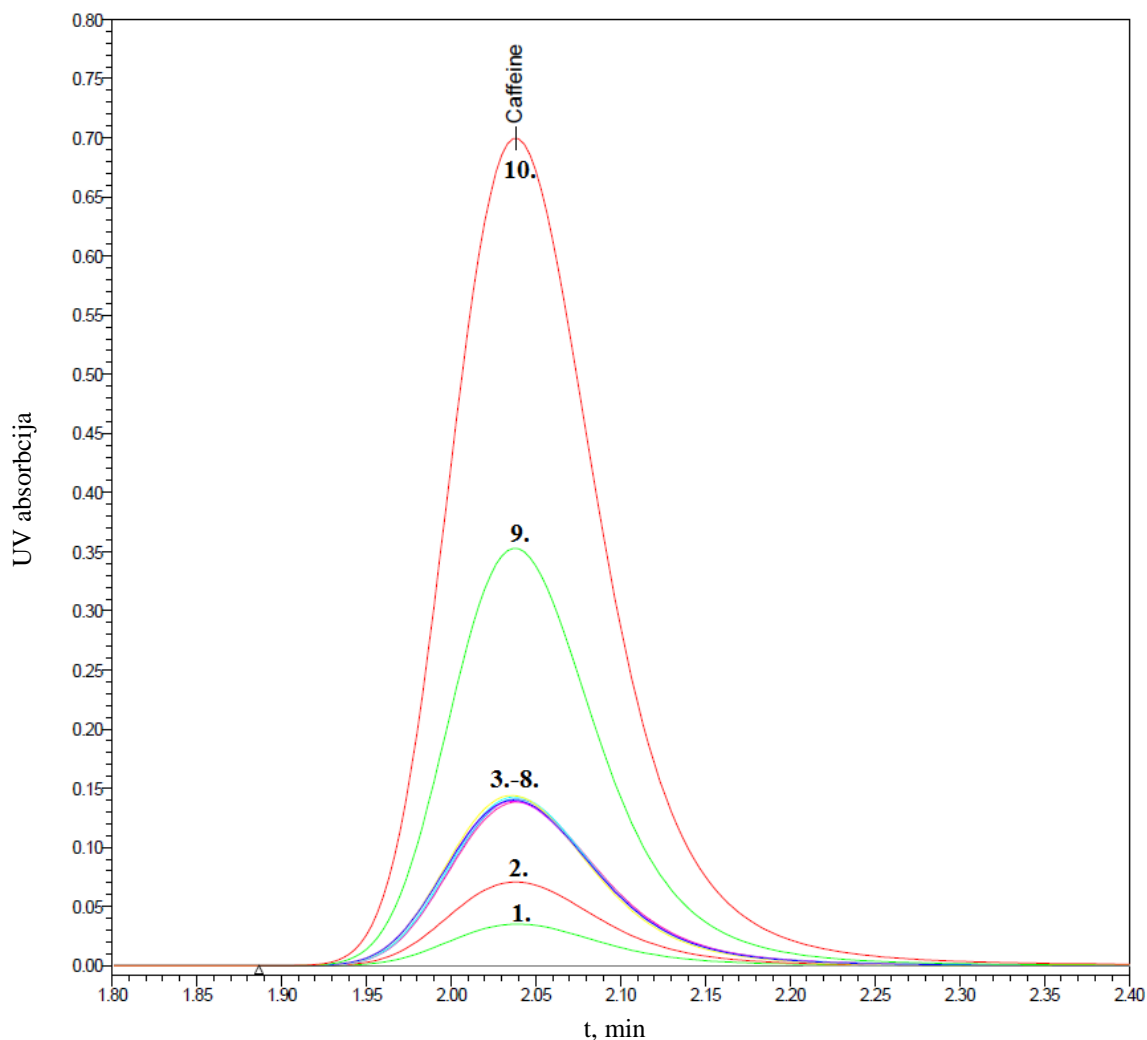
3.9. tabulā ir salīdzinātas koncentrācijas kādas ir uzrādījis gravimetriskais atšķaidītājs pirmajai paraugu sērijai ar koncentrācijām kādas ir iegūtas paraugus analizējot hromatogrāfiski. Eksportētos rezultātus, ko uzrādīja gravimetriskais atšķaidītājs skatīt 3. pielikumā.

3.9. tabula

“Verity V2” uzrādīto un hromatogrāfiski aprēķināto masas koncentrāciju (γ) un nenoteiktību (u) salīdzinājums pirmajai paraugu sērijai, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL

| Nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Gravimetriskā atšķaidītāja uzrādītā γ , mg·mL ⁻¹ | u , mg·mL ⁻¹ | Hromatogrāfiski aprēķinātā γ , mg·mL ⁻¹ | u , mg·mL ⁻¹ |
|-----|--|-----------------------------|--|---------------------------|---|---------------------------|
| 1. | 0,005 | 200 | 0,005017 | 0,000010 | 0,005022 | 0,000006 |
| 2. | 0,010 | 100 | 0,010036 | 0,000011 | 0,010012 | 0,000004 |
| 3. | 0,020 | 50 | 0,020068 | 0,000013 | 0,01999 | 0,000003 |
| 4. | 0,020 | 50 | 0,020070 | 0,000013 | 0,02004 | 0,000002 |
| 5. | 0,020 | 50 | 0,020065 | 0,000013 | 0,02006 | 0,000010 |
| 6. | 0,020 | 50 | 0,020065 | 0,000013 | 0,020017 | 0,000013 |
| 7. | 0,020 | 50 | 0,020071 | 0,000013 | 0,01989 | 0,000008 |
| 8. | 0,020 | 50 | 0,020068 | 0,000013 | 0,02011 | 0,000002 |
| 9. | 0,050 | 20 | 0,05016 | 0,000002 | 0,04981 | 0,000003 |
| 10. | 0,100 | 10 | 0,10033 | 0,000004 | 0,0995 | 0,000002 |

3.5. attēlā ir apkopotas hromatogrammas pirmajā sērijā pagatavotajiem desmit paraugiem.

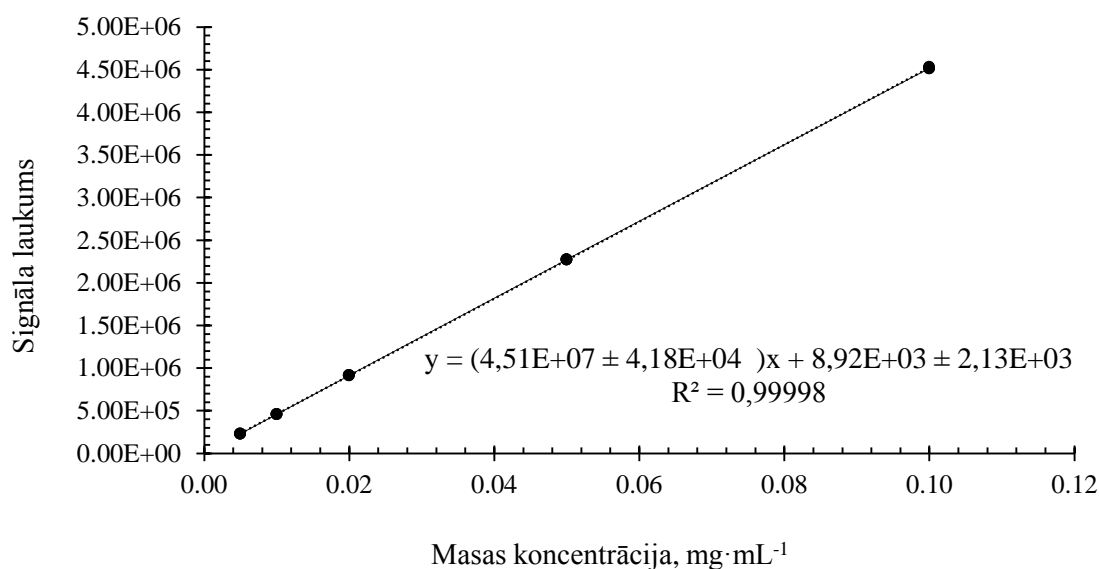


3.5. att. Hromatogrammas pirmajai gravimetriski pagatavotajai paraugu sērijai ar mērķa tilpumu 10 mL

Hromatogrammās uzskatāmi var redzēt kā pieaugot paraugu koncentrācijai proporcionāli pieaug arī signāla laukums. Paraugiem (3.-8.) ar vienādajām mērķa koncentrācijām ($0,02 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) iegūtie laukumi savstarpēji ir ļoti līdzīgi, kas liecina par labu atkārtojamību.

3.3.1. Linearitātes izvērtēšana

Ggravimetriskā atšķaidītāja veiktspēju pārbaudīja pagatavojot 5 eksperimentu sērijas, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu. Pirmajā sērijā gravimetriski iegūto paraugu linearitāti ir parādīta 3.6. attēlā. Grafikā redzamais punkts, kas atbilst $\sim 0,020 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, ir iegūts aprēķinot vidējo vērtību starp paraugiem no 3. līdz 8., kas atbilst $0,020068 \pm 0,000002 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.



3.6. att. Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitate pirmajai paraugu sērijai ar mērķa tilpumu 10 mL

Gravimetriski pagatavoto paraugu korelācijas koeficienti piecām paralēlajām atšķaidījumu sērijām, koncentrāciju diapazonā 0,005-0,100 mg·mL⁻¹, ir apkopoti 3.10. tabulā.

3.10. tabula

Gravimetriski pagatavoto paraugu linearitāte atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL

| Sērijas nr. | Korelācijas koeficienti iegūti ar "Verity V2" | Korelācijas koeficienti iegūti ar "Verity VI" |
|-------------|---|---|
| 1. | 0,999986 | 0,999995 |
| 2. | 0,99998 | 0,999994 |
| 3. | 0,999988 | 0,999990 |
| 4. | 0,99994 | 0,999993 |
| 5. | 0,99998 | 0,999991 |

Apskatot 3.10. tabulu var redzēt, ka linearitāte piecās gravimetriski pagatavotajās paraugu sērijās ir >0,9999, kas atbilst un ir labāka par uzstādīto mērķi ($R^2 > 0,999$).

3.3.2. Pareizības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā atgūstamība (%) katrai no koncentrācijām starp piecām paralēlajām paraugu sērijām ir apkopota 3.11. tabulā.

Gravimetriski pagatavoto paraugu pareizība, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Vidējā atgūstamība ar "Verity V2", % | Vidējā atgūstamība ar "Verity V1", % |
|-------------|--|-----------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. | 0,005 | 200 | 100,1 | 100,4 |
| 2. | 0,010 | 100 | 100,4 | 100,2 |
| 3. | 0,020 | 50 | 100,1 | 100,1 |
| 4. | 0,020 | 50 | 99,9 | 100,1 |
| 5. | 0,020 | 50 | 100,4 | 100,2 |
| 6. | 0,020 | 50 | 100,4 | 100,0 |
| 7. | 0,020 | 50 | 100,2 | 100,2 |
| 8. | 0,020 | 50 | 100,4 | 100,2 |
| 9. | 0,050 | 20 | 99,7 | 99,7 |
| 10. | 0,100 | 10 | 99,2 | 99,2 |

Apskatot 3.11. tabulu var redzēt, ka gravimetriski pagatavoto paraugu atgūstamība, starp piecām paralēlajām sērijām, koncentrāciju diapazonā 0,005-0,100 mg·mL⁻¹, ir 100 ±0,4%, kas atbilst uzstādītajam mērķim (98-102%). Gravimetriski pagatavotajiem šķīdumiem ar vienādajām mērķa koncentrācijām (0,020 mg·mL⁻¹), vidējā atgūstamība ir 100,1 ±0,2%.

3.3.3. Atkārtojamības izvērtēšana

Gravimetriski pagatavoto paraugu vidējā relatīvās standartnovirzes (%) katrai koncentrācijai starp piecām paralēlajām paraugu sērijām ir apkopotas 3.12. tabulā.

Gravimetriski pagatavoto paraugu atkārtojamība, atšķaidot kofeīna izejas šķīdumu 10 mL

| Parauga nr. | Mērķa koncentrācija, mg·mL ⁻¹ | Atšķaidījuma pakāpe, reizes | Vidējā RSN ar "Verity V2", % | Vidējā RSN ar "Verity V1", % |
|-------------|--|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 1. | 0,005 | 200 | 0,65 | 0,03 |
| 2. | 0,010 | 100 | 0,65 | 0,06 |
| 3. | 0,020 | 50 | 0,39 | 0,06 |
| 4. | 0,020 | 50 | 0,35 | 0,14 |
| 5. | 0,020 | 50 | 0,33 | 0,22 |
| 6. | 0,020 | 50 | 0,51 | 0,17 |
| 7. | 0,020 | 50 | 0,71 | 0,08 |
| 8. | 0,020 | 50 | 0,30 | 0,07 |
| 9. | 0,050 | 20 | 0,31 | 0,12 |
| 10. | 0,100 | 10 | 0,26 | 0,10 |

Apskatot 3.12. tabulu var redzēt, ka relatīvās standartnovirzes (%), piecām gravimetriski pagatavotajām paraugu sērijām visā koncentrāciju diapazonā, ir <0,80%, kas atbilst uzstādītajam mērķim (RSN <1%). Gravimetriski pagatavotajiem šķīdumiem ar vienādajām mērķa koncentrācijām (0,020 mg·mL⁻¹), vidējā RSN ir 0,44%.

Gravimetriskā atšķaidītāja pagatavoto paraugu linearitāte, pareizība un atkārtojamība atbilst iekārtu specifikācijās izvirzītajām prasībām, ja šķīdumu mērķa tilpumi ir 10 mL. Eksperimentu sērija uzskatāmi parāda, ka ir iespējams gravimetriski pagatavot precīzus paraugus arī mazos mērķa tilpumos, tādējādi samazinot reaģentu patēriņu un iestādes izmaksas paraugu sagatavošanā.

Savstarpēji salīdzinot gravimetrisko atšķaidītāju veiktspēju, starp otrajā kursa darbā aprakstīto “*Verity V1*” un maģistra darbā apskatīto “*Verity V2*”, var secināt, veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 10 mL:

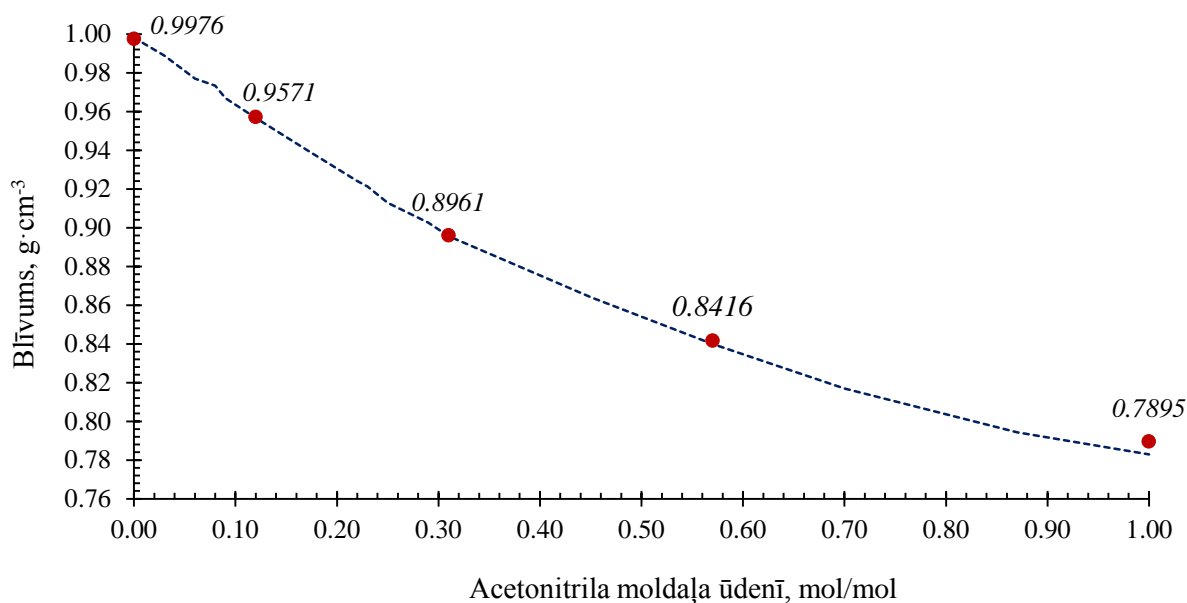
- iegūtā linearitāte veicot eksperimentus ar “*Verity V1*” ($R^2 >0,99999$) ir par kārtu labāka nekā linearitāte, kas ir iegūta ar “*Verity V2*” ($R^2 >0,9999$).
- iegūtā pareizība abām iekārtām ir līdzīga (100,0±1,0%).
- iegūtā atkārtojamība veicot eksperimentus ar “*Verity V1*” (RSN<0,2%) ir nedaudz labāka nekā atkārtojamība, kas ir iegūta ar “*Verity V2*” (RSN<0,7%).

Iegūtie rezultāti starp iekārtām ir salīdzināmi, jo otrā kursa darba ietvaros gravimetriski pagatavoja paraugus tādos pašos koncentrāciju diapazonos kā maģistra darbā [19].

3.4. Šķīdumu blīvumu noteikšanas iespējas ar “*Verity V2*”

Lai noskaidrotu vai ir iespējams veikt blīvuma mērīšanu ar “*Verity V2*” veica 5 paraugu sērijas pie atšķirīgām acetonitrila masas daļām ūdenī ($W_{\text{Acetonitrils}}$ 0%, 25%, 75%, 100%). Eksperimentu laikā rūpīgi sekoja temperatūras izmaiņām telpā. Vidējā reģistrētā temperatūra bija 23,0±0,5° C. Eksperimentāli iegūtos blīvuma rezultātus salīdzināja ar literatūrā pieejamajiem datiem un izveidoja pārskatāmu grafiku (skat. 3.7. att.) [28].

Grafikā uzskatāmi ir parādīta blīvuma atkarība no acetonitrila satura binārā maisījumā. Zilā līkne ir no literatūras ņemti dati blīvuma atkarībai binārajā maisījumā acetonitrils-ūdens, savukārt sarkanie punkti uz līknes ir eksperimentāli iegūtie dati ar “*Verity V2*”.



3.7. att. Blīvuma atkarība no acetonitrila masa daļas ūdenī [28]

3.13. tabula

Ekspierimentāli noteiktā blīvuma salīdzināšana ar literatūras datiem [28]

| Sērijas nr. | Acetonitrila masa daļa, % | Acetonitrila masa daļa, mol/mol | Literatūrā uzrādītais blīvums, g·cm ⁻³ | Aprēķinātais blīvums ar "Verity V2", g·cm ⁻³ | Novirze no literatūras datiem, % |
|-------------|---------------------------|---------------------------------|---|---|----------------------------------|
| 1. | 0 | 0,00 | 0,9982 | 0,9976 | 0,06 |
| 2. | 25 | 0,13 | 0,9567 | 0,9571 | 0,04 |
| 3. | 50 | 0,31 | 0,8956 | 0,8961 | 0,05 |
| 4. | 75 | 0,57 | 0,8406 | 0,8416 | 0,11 |
| 5. | 100 | 1,00 | 0,7829 | 0,7895 | 0,66 |

Šajā eksperimentu sērijā iegūtie dati parāda, ka "Verity V2" potenciāli var būt izmantots blīvuma noteikšanai ekspress-režīmā (skat. 3.13. tab.). Kā pozitīvas īpašības var minēt mērījumu relatīvu ātrumu, mazu atkarību no cilvēka faktora un iespēju mērījumus dokumentēt. Mērījumu metroloģiskā puse vēl būtu plašāk jāpēta ar dažādiem šķīdumiem.

SECINĀJUMI

1. Gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēja, pagatavojot kofeīna šķīdumus no pulvera, nesasniedz izvirzītos mērķus linearitātē, pareizībā un atkārtotamībā.
2. Gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēja, atšķaidot kofeīna koncentrētos šķīdumus, atbilst izvirzītajam mērķim linearitātē, kur pagatavojot paraugus 10 un 50 mL tilpumā, korelācijas koeficienti pārsniedz 0,9999.
3. Gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēja, atšķaidot kofeīna koncentrētos šķīdumus, atbilst izvirzītajam mērķim pareizībā, kur pagatavojot paraugus 10 un 50 mL tilpumā, atgūstamība nepārsniedz $100,0 \pm 2,0\%$.
4. Gravimetriskā atšķaidītāja “*Verity V2*” veiktspēja, atšķaidot kofeīna koncentrētos šķīdumus, atbilst izvirzītajam mērķim atkārtotamībā, kur pagatavojot paraugus 10 un 50 mL tilpumā, relatīvā standartnovirze nepārsniedz 0,8%.
5. Gravimetriskais atšķaidītājs “*Verity V2*” potenciāli var būt izmantots blīvuma noteikšanai ekspresrežīmā, iegūto rezultātu novirze no literatūras datiem ir $<0,7\%$.
6. Gravimetriskajam atšķaidītājam “*Verity V2*” ir jāpārskata un jāveic uzlabojumi dinamiskās svēršanas algoritmā.

IZMANTOTĀ LITERATŪRA

1. Fritsch, K.; Ratcliff, J.; Ray, C. Reducing Variability and Out-of-Specification results by Implementing High Quality Gravimetric Sample Preparation (GSP). *Pharm. Eng.*, **2012**, 32(1), 1-9.
2. Ratcliff, J.; Prochno, J. The Benefits of Gravimetric Sample Preparation Improving the Efficiency and Quality of Analytical Workflows. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG", **2012**, 38-42.
3. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG". A Practical Guide for Life Scientists Sample and Solution Preparation. *Life Science Weighing Guide*, **2014**, 1-15.
4. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG". Gravimetric Sample Preparation-The Alternative to Volumetric Flasks. *Quantos Automated Dosing*, **2015**, 1-12.
5. Martin, P. Innovations in Gravimetric Preparation of Analytical Solutions: Regulatory and Compendial Perspectives. *Am. Lab.*, **2012**, 1-2.
6. Vācu uzņēmums "BRAND GMBH+CO KG". Volumetric Measurement in the Laboratory. **2015**, 1-42.
7. Vācu uzņēmums "Sartorius Weighing Technology GmbH". Correct Use and Handling of Analytical and Microbalances. 1-24.
8. United States Pharmacopeia (USP) 40. Apparatus / <31> Volumetric Apparatus 1. **2017**, (35), 1.
9. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG". Powder and Liquid Dosing for Perfect Concentrations. *Automated Dosing*, 110-115.
10. Martin, G.P. Gravimetric Sample Preparation. Automated Weighing. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG", **2012**, 1-12.
11. Ratcliff, J. Keeping the Workflow in Focus Practical implementation of a gravimetric approach to sample preparation. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG", **2013**, 26-29.
12. United States Pharmacopeia (USP) 35. *General Information* / <1251> Weighing on an Analytical Balance. **2011**, 30, 938-940.
13. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG". Proper Weighing with Laboratory Balances. **2008**, 5-30.
14. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG". The Standard Science Based Weighing. **2013**, 2-19.
15. United States Pharmacopeia (USP) 40. Apparatus / <41> Balances 1. **2017**, (35), 1.

16. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG" . Quantos Much More Than a Balance. **2008**, 1-20.
17. ASV Kompānija "Mettler-Toledo Ltd." . Reference Standards with Quantos for Internal Quality Assurance. *Application note*, 1-2.
18. Blenkers, T. Weighing samples automatically: Gravimetric dilutions of highly viscous samples. *Application note*, **2016**, 1-4.
19. Mierina, D. Analizējamo šķīdumu pagatavošana ar gravimetrisko atšķaidītāju. Otrais kursa darbs maģistratūras programmā. LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2018.
20. Harvey, D. *Modern analytical chemistry*; Quebecor Printing Book Group/Kingsport, 2000; pp 38-42.
21. European Pharmacopoeia. *Technical Guide for the elaboration of monographs*, 2011; (6), pp 52-56.
22. Center for Drug Evaluation and Research. Reviewer Guidance: *Validation of Chromatographic Methods*, 1994; pp 8-16.
23. United States Pharmacopeia (USP) 40. Physical Tests / <730> Plasma Spectrochemistry 1. **2017**, (35), 1-4.
24. United States Pharmacopeia (USP) 40. Physical Tests / <857> Ultraviolet-Visible Spectroscopy 1. **2017**, (35), 1-7.
25. United Nations Office on Drugs and Crime. *Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens*; United Nations: New York, 2009; pp 42-56.
26. Mierina, D. Analizējamo šķīdumu pagatavošana ar gravimetrisko atšķaidītāju. Pirmais kursa darbs maģistratūras programmā. LU Ķīmijas fakultāte, Rīga, 2017.
27. Vīksna, A. Lekciju konspekts: Metroloģija ķīmijā.
<https://estudijas.lu.lv/mod/resource/view.php?id=25447> (skatīts 26.08.2018.).
28. Vierk A.-L.: Wasser-Acetonitril, Wasser-Dioxan, Äthanol-Acetonitril und Cyclohexan-Dioxan. *Z. Anorg. Allg. Chem.*, **1950**, 261, 283-296.
29. ASV Kompānija "Mettler-Toledo AG" . Digital Density Meters: From Pycnometer and Hydrometer To Digital Density Meter. **2017**, 1-2.

PIELIKUMI

1. pielikums

**Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas,
veicot kofeīna pulvera šķīdināšanu 50 mL**

| | A | B | C |
|----|-----------------|-----------------------|---|
| 1 | Method name | TEST | |
| 2 | Method date | 20.05.2018. | |
| 3 | Target amount | 50 | g |
| 4 | Solvent | Water | |
| 5 | Solvent density | 0.997627 | |
| 6 | Syringe | Hamilton 1025 (25 ml) | |
| 7 | | | |
| 8 | Num | Component name | |
| 9 | | | |
| 10 | 0 | Caffeine | |
| 11 | | | |
| 12 | | | |
| 13 | | | |

| | A | B |
|----|--------------------------------|-------------|
| 1 | Batch name | TEST_2 |
| 2 | Batch date | 20.05.2018. |
| 3 | | |
| 4 | Target concentrations in Mg/ml | |
| 5 | Sample Num | Caffeine |
| 6 | 0 | 0.16 |
| 7 | 1 | 0.20 |
| 8 | 2 | 0.20 |
| 9 | 3 | 0.20 |
| 10 | 4 | 0.20 |
| 11 | 5 | 0.24 |
| 12 | | |
| 13 | | |

| | A | B | C | D |
|----|------------|------------|--------------------|-----------------------|
| 1 | | | Component mass (g) | Concentration (Mg/ml) |
| 2 | Sample Num | Solvent ml | Caffeine | Caffeine |
| 3 | 1 | 50.43078 | 0.00807 | 0.16002 |
| 4 | 2 | 51.69429 | 0.01034 | 0.20002 |
| 5 | 3 | 51.49473 | 0.01030 | 0.20002 |
| 6 | 4 | 51.79304 | 0.01036 | 0.20003 |
| 7 | 5 | 52.09360 | 0.01042 | 0.20002 |
| 8 | 6 | 52.07574 | 0.01250 | 0.24004 |
| 9 | | | | |
| 10 | | | | |

2. pielikums

Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas,
veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 50 mL

| | A | B | C |
|----|-----------------|-----------------------|---------------------|
| 1 | Method name | TEST | |
| 2 | Method date | 15.04.2018. | |
| 3 | Target amount | 50 | g |
| 4 | Solvent | Water | |
| 5 | Solvent density | 0.997627 | |
| 6 | Stock syringe | Hamilton 1001 (1 ml) | |
| 7 | Diluent Syringe | Hamilton 1025 (25 ml) | |
| 8 | | | |
| 9 | Num | Component name | Concentration Mg/ml |
| 10 | 0 | Caffeine | 1.0000 |
| 11 | | | |
| 12 | | | |
| 13 | | | |
| 14 | | | |

| | A | B | C | D |
|----|------------|-------------|---|---|
| 1 | Batch name | TEST_1 | | |
| 2 | Batch date | 15.04.2018. | | |
| 3 | | | | |
| 4 | Sample Num | Stock% | | |
| 5 | 0 | 0.1 | | |
| 6 | 1 | 0.2 | | |
| 7 | 2 | 0.4 | | |
| 8 | 3 | 0.5 | | |
| 9 | 4 | 0.6 | | |
| 10 | 5 | 0.8 | | |
| 11 | 6 | 1.0 | | |
| 12 | 7 | 1.2 | | |
| 13 | 8 | 1.4 | | |
| 14 | 9 | 1.6 | | |
| 15 | 10 | 1.8 | | |
| 16 | 11 | 2.0 | | |

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J |
|----|--------|--------|---------|----------|---------|-------------|---------|----------|----------|---|
| 1 | | | | | | | | Target | Actual | |
| | Sample | Stock | Diluent | Stock | | Dilution | | Mg/ml | Mg/ml | |
| 2 | Num | Stock% | mass | mass | vol | Diluent vol | ratio | Caffeine | Caffeine | |
| 3 | 1 | 0.1 | 0.04460 | 44.42550 | 0.04471 | 44.53117 | 0.00100 | 0.001000 | 0.001003 | |
| 4 | 2 | 0.2 | 0.09581 | 47.68469 | 0.09604 | 47.79811 | 0.00201 | 0.002000 | 0.002005 | |
| 5 | 3 | 0.4 | 0.19285 | 47.89228 | 0.19331 | 48.00620 | 0.00401 | 0.004000 | 0.004011 | |
| 6 | 4 | 0.5 | 0.24409 | 48.44630 | 0.24467 | 48.56154 | 0.00501 | 0.005000 | 0.005013 | |
| 7 | 5 | 0.6 | 0.29986 | 49.54782 | 0.30057 | 49.66568 | 0.00602 | 0.006000 | 0.006016 | |
| 8 | 6 | 0.8 | 0.40222 | 49.74765 | 0.40318 | 49.86598 | 0.00802 | 0.008000 | 0.008020 | |
| 9 | 7 | 1.0 | 0.49860 | 49.23301 | 0.49979 | 49.35012 | 0.01003 | 0.010000 | 0.010026 | |
| 10 | 8 | 1.2 | 0.58997 | 48.44605 | 0.59137 | 48.56129 | 0.01203 | 0.012000 | 0.012031 | |
| 11 | 9 | 1.4 | 0.69573 | 48.87270 | 0.69738 | 48.98895 | 0.01404 | 0.014000 | 0.014036 | |
| 12 | 10 | 1.6 | 0.79753 | 48.92077 | 0.79943 | 49.03714 | 0.01604 | 0.016000 | 0.016041 | |
| 13 | 11 | 1.8 | 0.90301 | 49.13315 | 0.90516 | 49.25002 | 0.01805 | 0.018000 | 0.018047 | |
| 14 | 12 | 2.0 | 0.99296 | 48.52926 | 0.99532 | 48.64469 | 0.02005 | 0.020000 | 0.020051 | |

**Datu eksportēšana uz programmu Excel pēc gravimetriskas paraugu sagatavošanas,
veicot kofeīna izejas šķīduma atšķaidīšanu 10 mL**

| | A | B | C |
|----|-----------------|-----------------------|---------------------|
| 1 | Method name | TEST | |
| 2 | Method date | 05.04.2018. | |
| 3 | Target amount | 10 | g |
| 4 | Solvent | Water | |
| 5 | Solvent density | 0.997627 | |
| 6 | Stock syringe | Hamilton 1001 (1 ml) | |
| 7 | Diluent Syringe | Hamilton 1025 (25 ml) | |
| 9 | Num | Component name | Concentration Mg/ml |
| 10 | 0 | Caffeine | 1.0000 |

| | A | B | C | D |
|----|------------|-------------|---|---|
| 1 | Batch name | TEST_1 | | |
| 2 | Batch date | 05.04.2018. | | |
| 4 | Sample Num | Stock% | | |
| 5 | | 0 0.5 | | |
| 6 | | 1 1.0 | | |
| 7 | | 2 2.0 | | |
| 8 | | 3 2.0 | | |
| 9 | | 4 2.0 | | |
| 10 | | 5 2.0 | | |
| 11 | | 6 2.0 | | |
| 12 | | 7 2.0 | | |
| 13 | | 8 5.0 | | |
| 14 | | 9 10.0 | | |

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I |
|------------|--------|------------|--------------|-----------|-------------|----------------|----------|----------|----------|
| 1 | | | | | | | | Target | Actual |
| | | | | | | | | Mg/ml | Mg/ml |
| Sample Num | Stock% | Stock mass | Diluent mass | Stock vol | Diluent vol | Dilution ratio | Caffeine | Caffeine | |
| 3 | 1 | 0.5 | 0.05036 | 9.98683 | 0.05048 | 10.01059 | 0.00502 | 0.005 | 0.005017 |
| 4 | 2 | 1.0 | 0.10289 | 10.14920 | 0.10313 | 10.17334 | 0.01004 | 0.010 | 0.010036 |
| 5 | 3 | 2.0 | 0.20038 | 9.78450 | 0.20086 | 9.80777 | 0.02007 | 0.020 | 0.020068 |
| 6 | 4 | 2.0 | 0.19478 | 9.51021 | 0.19524 | 9.53283 | 0.02007 | 0.020 | 0.020070 |
| 7 | 5 | 2.0 | 0.20256 | 9.89252 | 0.20304 | 9.91605 | 0.02007 | 0.020 | 0.020065 |
| 8 | 6 | 2.0 | 0.20133 | 9.83235 | 0.20181 | 9.85574 | 0.02007 | 0.020 | 0.020065 |
| 9 | 7 | 2.0 | 0.19951 | 9.74085 | 0.19998 | 9.76402 | 0.02007 | 0.020 | 0.020071 |
| 10 | 8 | 2.0 | 0.19797 | 9.66718 | 0.19844 | 9.69017 | 0.02007 | 0.020 | 0.020068 |
| 11 | 9 | 5.0 | 0.49630 | 9.39828 | 0.49748 | 9.42064 | 0.05016 | 0.050 | 0.050159 |
| 12 | 10 | 10.0 | 0.98365 | 8.82022 | 0.98599 | 8.84120 | 0.10033 | 0.100 | 0.100333 |