

طريقة حساب بسيطة باستخدام عينة معيار داخلي

**Internal Standard**

**HPLC**



الأستاذ الدكتور ضياء فالح الفكيكي

سلسلة محاضرات في HPLC



المعيار الداخلي (I.S.) في الكيمياء التحليلية هو مادة تشبه المادة التحليلية التي تضاف بكمية ثابتة إلى الفراغ والمعايير والعينات. المعايير الداخلية مفيدة للتعويض عن التغيرات في كفاءة ي تم استجابة الكاشف بسبب معدلات التدفق المختلفة. تُستخدم المعايير الداخلية على نطاق واسع في الفصل اللوني بسبب الاختلافات في استنساخ العينة المحقونة في الكروماتوكراف. يجب أن تؤثر كل هذه التغيرات على المعيار الداخلي بنفس الدرجة مثل التحليل بحيث تظل نسبة المعيار إلى التحليل ثابتة.

سيتم استخدام المعادلة أدناه لربط إشارة التحليل (Sx) بإشارة المعيار الداخلي (SS) لتركيز معروف [S]. لاحظ أنه على عكس الإضافة القياسية ، فإن التحليل X والمعيار S هما نوعان متميزان كيميائياً.

لإضافة مفهوم إضافي واحد ، من المفيد في كثير من الحالات تضمين "معيار داخلي" وهو مركب يتم ضغطه في العينة بتركيز معروف (ثابت عادةً). عادة ما يتم إدخالها في العينة في بداية عملية تحضير العينة ، والغرض منها هو التعويض عن مصادر التباين المختلفة في العملية ، مثل الكفاءة المتغيرة لاستخراج عينة من مصفوفة ، والتغيرات في استجابة الأداة ، و هكذا دواليك.

يجب أن تكون المواصفة القياسية الداخلية مماثلة كيميائياً وكروماتوغرافياً للمركب المستهدف. يعمل هذا بشكل أفضل في مطياف الكتلة وهو نظام الكشف عن الكروماتوغراف لأنه يمكن للمرء بعد ذلك استخدام الإصدارات ذات العلامات النظرية للمركب المستهدف كمعيار داخلي. يسمح هذا للمعيار الداخلي بإعطاء تتبع مثالي تقريباً (ولكن ليس تماماً) للمركب المستهدف.



إليك كيفية استخدام المعيار الداخلي في تحليل البيانات. منطقة الذروة للمجمع المستهدف مقسومة على منطقة الذروة للمعيار الداخلي. ثم تتم مقارنة هذا الرقم بمنحنى معايرة ، يعتمد عادة على معادلة خطية ، للحصول على التركيز.

يتم تحضير منحنى المعايرة بتحضير مجموعة من العينات تحتوي على عدة تراكيز مختلفة من المادة التحليلية المستهدفة. تحتوي جميع عينات المعايرة على نفس تركيز المعيار الداخلي. ثم يتم تشغيلها على الجهاز ويتم حساب نسبة منطقة الذروة لكل عينة معايرة. يتم رسم تركيز المركب المستهدف على المحور السيني ويتم رسم نسبة الاستجابة المقاسة على المحور الصادي. (من حيث المبدأ ، يمكنك تبديل المحور ، لكن معظم الأشخاص يستخدمون الاصطلاحات المذكورة للتو.)

بعد ذلك ، تقوم بتشغيل عيناتك غير المعروفة ("غير معروف" بمعنى التركيز غير المعروف للمركب المستهدف ، وليس بمعنى أن الهوية الكيميائية غير معروفة). تأخذ نسبة منطقة الذروة لعينة فردية غير معروفة ، وتقارنها بالمحور  $y$  لمنحنى المعايرة ، ثم تنزل عمودياً من منحنى المعايرة لقراءة التركيز المجهول على المحور السيني.

هناك العديد من الأسباب لاستخدام معيار داخلي مع أي نظام كروماتوغرافيا. الأكثر شيوعاً هو التخلص من الاختلافات في حجم الحقن. مع تقنيات أخذ العينات الآلية الجديدة، اختفى هذا السبب إلى حد كبير ولكن لا يزال هناك عدد من التطبيقات حيث من الجيد إخضاع المعيار والتحليل



لنفس طرق إدخال العينة، لأن الطريقة المعيارية الداخلية تستخدم نسبة الاستجابات للمعيار والتحليلي لا يعتمد التحديد الكمي على كمية المادة المحقونة.

في هذا المثال، المعيار الداخلي هو الكافيين والحليّة هي الأسبرين.

أولاً، نضع محلولاً قياسياً يحتوي على تركيز معروف من المادة التحليلية وتركيز معروف للمعيار الداخلي.

<b>Area internal standard peak</b>	<b>Concentration of internal standard</b>
-----	-----
<b>= F</b>	
<b>Area of aspirin standard peak</b>	<b>Concentration of aspirin standard</b>

، وهو ثابت بلا أبعاد F لاحظ أنه في المعادلة أعلاه نعرف كل شيء ما عدا

بتوصيل بعض الأرقام المقربة من تشغيل HPLC حديث ، نحصل على ما يلي:

$$\frac{13}{8} = F \frac{4}{5}$$

لاحظ أنه على الرغم من أن لدينا كمية أكبر من الأسبرين (5 مجم / مل) من الكافيين (4 مجم / مل) إلا أن ذروة الكافيين كانت أكبر.



## لإيجاد F نحصل على 2.03

- نقوم الآن بتشغيل الحلول التي تحتوي على كمية معروفة من المعيار الداخلي (الكافيين بمعدل 4 ملغ / مل) وكمية غير معروفة من المادة التحليلية (الأسبرين؟)

$$\frac{\text{Area internal standard peak}}{\text{Area of aspirin unknown peak}} = F \frac{\text{Concentration of internal standard}}{\text{Concentration of aspirin unknown}}$$

نحل الآن من أجل تركيز الأسبرين في عينتنا المجهولة (مرة أخرى ، هذه أرقام مقربة).

$$\frac{13}{5} = 2.03 \frac{4}{X}$$

$$X = 3.12 \text{ mg / ml of aspirin.}$$

قد تكون المعايير الداخلية مربكة، ولكن من خلال اتخاذ الحسابات خطوة بخطوة والعمل بعناية ، يمكن أن تكون إضافة قيمة لمهارات اللوني لديك.

- <https://msuweb.montclair.edu/~olsenk/intstd.htm>



## **Dhia F. Al-Fekaiki (Ph.D.)**

in Food Sciences - Biochemistry - Enzymology

**Expert** in GC MS, HPLC, Akta PURE 25 (FPLC)

Interesting: Food Analysis, Safety Food, Honey Analysis

Department of Food Science -College of Agriculture - University of Basrah

Iraq – Basra

009647801022618

[dhia.alfekaiki@uobasrah.edu.iq](mailto:dhia.alfekaiki@uobasrah.edu.iq)

<https://orcid.org/0000-0002-7510-5881>

[https://www.researchgate.net/profile/Dhia\\_Al-Fekaiki](https://www.researchgate.net/profile/Dhia_Al-Fekaiki)

<https://www.linkedin.com/in/prof-dr-dhia-al-fekaiki-60265186/>

<https://independent.academia.edu/Dhiaalfekaiki>

<https://publons.com/researcher/1718509/dhia-al-fekaiki/>

<https://www.facebook.com/profile.php?id=100000822257891>