

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/297732288>

Gas chromatography. Basics (Ukr). Основы газовой хроматографии

Book · November 2013

DOI: 10.13140/RG.2.1.4254.3766

CITATIONS

0

READS

16,836

3 authors, including:



T. V. Kovalchuk

19 PUBLICATIONS 295 CITATIONS

SEE PROFILE



Vladimir N. Zaitsev

Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro

225 PUBLICATIONS 2,384 CITATIONS

SEE PROFILE

Лисенко О.М., Ковальчук Т.В., Зайцев В.М.

ОСНОВИ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК



2013

КИЇВСЬКИЙ ВПЦ університет

Лисенко О.М., Ковальчук Т.В., Зайцев В.М.

ОСНОВИ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Лисенко О.М., Ковальчук Т.В., Зайцев В.М.

Основи газової хроматографії. Навчальний посібник. – К.: 2013.- с.

IBSN

УДК 543.068.7+061+062

Затверджено на засіданні вченої ради хімічного факультету
від 13 червня 2013 року.

Рецензенти:

Васюков О.Є., д.х.н., професор, завідувач кафедри охорони праці та техногенно-екологічної безпеки факультету техногенно-екологічної безпеки (Національний університет цивільного захисту України) (м.Харків),

Левін М.Г., д.х.н., провідний науковий співробітник лабораторії контролю якості Державної установи «Інститут гігієни та медичної екології імені Олександра Марзєєва АМН України» (м. Київ),

Блажесівський М.Є., д.х.н., професор кафедри фізичної та колоїдної хімії, (Національний фармацевтичний університет) (м.Харків).

Описано основи капілярної газової хроматографії – одного з найефективніших сучасних комбінованих методів розділення та аналізу неорганічних та органічних сполук у технічних та природних об'єктах.

Розглянуто теорії хроматографічного розділення, питання з оптимізації газохроматографічного розділення; класифікацію, будову та властивості капілярних колонок; будову та принцип роботи блоків газового хроматографу: введення проби, термостату, детекторів: полуменево-іонізаційного, теплопровідності, термоіонного, електронзахоплювального, полуменево-фотометричного; особливості введення проб у газовий хроматограф; властивості детекторів; причини та способи усунення неполадок системи; якісний та кількісний аналіз.

Посібник буде корисним для студентів, аспірантів, науковців та інженерних працівників хімічних, біохімічних, гідрохімічних, екологічних, фармацевтичних і хіміко-технологічних спеціальностей.

©Лисенко О.М., Ковальчук Т.В., Зайцев В.М. 2013

ЗМІСТ

Скорочення та символи, англійський еквівалент

Передмова

1. Основні положення хроматографічного розділення

- 1.1. Принцип хроматографічного розділення.
 - 1.2. Використання газової хроматографії в аналізі
 - 1.3. Будова та принцип роботи газового хроматографа
 - 1.4. Характеристики хроматограми
 - 1.4.1. Характеристики утримування
 - 1.4.2. Гаусів розподіл. Критерій Еттре. Фактор асиметрії
 - 1.5. Описання піку з позицій лінійності та ідеальності процесу
 - 1.6. Роздільна здатність. Оптимізація хроматографічного розділення
 - 1.6.1. Залежність роздільної здатності від селективності та ефективності
 - 1.6.2. Залежність ефективності хроматографічної системи від швидкості потоку рухомої фази
 - 1.7. Основні положення газорідного розподілу
- Контрольні запитання

2. Властивості та вибір хроматографічних колонок.

Термостат колонок

- 2.1. Класифікація хроматографічних колонок
 - 2.2. Виготовлення капілярних колонок
 - 2.3. Властивості капілярних колонок залежно від типу нерухомої фази
 - 2.4. Вибір колонки для аналізу. Оптимізація хроматографічного процесу
 - 2.5. Обслуговування колонки
 - 2.6. Будова та параметри термостату колонок
- Контрольні запитання і задачі

3. Введення проб у хроматографічну систему

- 3.1. Дозуючі пристрої (інжектори)
- 3.2. Способи введення проби
- 3.3. Вимоги до введення проби

- 3.4. Випарники - інжектори
 - 3.4.1. Випарники для введення рідких проб у капілярну колонку
 - 3.4.2. Випарники для введення проби у набивні колонки
 - 3.5. Блок газопостачання
 - 3.5.1. Плівковий вимірювач швидкості потоків газів
 - 3.5.2. Хімічні пастки
 - 3.6. Дискримінація компонентів проби при введенні проби
 - 3.7. Проблема розмивання вхідної зони
 - 3.7.1. Безпосереднє введення в колонку.
 - 3.7.2. Механізми фокусування. Застосування порожнього капіляру
 - 3.8. Крани для керування газовими потоками
 - 3.9. Парофазний аналіз
 - 3.9.1. Статичний (рівноважний) парофазний аналіз
 - 3.9.1.1. Основні положення парофазного аналізу
 - 3.9.1.2. Вплив температури на чутливість парофазного аналізу
 - 3.9.1.3. Вплив фазового співвідношення на чутливість парофазного аналізу
 - 3.9.1.4. Вплив складу проби на чутливість парофазного аналізу
 - 3.9.2. Техніка парофазного пробовідбору
 - 3.9.2.1. Ручний пробовідбір за допомогою шприца
 - 3.9.2.2. Пневматичний переніс парової фази в колонку
 - 3.9.3. Динамічний парофазний аналіз
- Контрольні запитання і задачі

4. Детектори

- 4.1. Класифікація детекторів
- 4.2. Характеристики детекторів
- 4.3. Процеси, що відбуваються в газовій фазі при дії напруги
- 4.4. Принцип роботи детекторів
 - 4.4.1. Полуменево-іонізаційний детектор

- 4.4.2. Термоіонний детектор (азот-фосфорний)
- 4.4.3. Електроно-захоплювальний детектор
- 4.4.4. Аргоновий іонізаційний детектор
- 4.4.5. Полуменево-фотометричний детектор
- 4.4.6. Детектор по теплопровідності

Контрольні запитання

5. Якісний аналіз у газовій хроматографії

- 5.1. Завдання та прийоми якісного аналізу.
- 5.2. Способи проведення якісного аналізу (ідентифікації)
- 5.3. Багатомірна хроматографія
- 5.4. Хімічні методи для попередньої підготовки проб у ГХ
 - 5.4.1. Основні реакції отримання летких похідних для ГХ аналізу
 - 5.4.2. ГХ аналіз продуктів піролізу

Контрольні запитання і задачі

6. Кількісний аналіз у газовій хроматографії

- 6.1. Обробка хроматограм
 - 6.1.1. Форма піку
 - 6.1.2. Параметри хроматографічного піку
 - 6.1.3. Визначення площ піків
- 6.2. Основні методи (способи) кількісного аналізу
 - 6.2.1. Метод внутрішнього нормування
 - 6.2.2. Метод градувального графіка (зовнішнього стандарту)
 - 6.2.3. Метод внутрішнього стандарту

Контрольні запитання і задачі

7. Проблеми, пов'язані з асиметрією хроматографічних піків, та способи їх розв'язання

- 7.1. Оцінка роботи хроматографічної системи.
 - 7.1.1. Електромеханічна базова лінія
 - 7.1.2. Функціональна базова лінія
 - 7.1.3. Хроматографічна базова лінія
- 7.2. Усунення неполадок хроматографічної системи, що призводять до зміни форми хроматографічних піків
 - 7.2.1. Проблеми, пов'язані з відсутністю піків, або їх малою величиною
 - 7.2.2. Уловлювання компонентів. Розмивання

тильної гілки піка

7.2.3. Перевантажені піки

7.2.4. Розщеплені піки

7.2.5. Інвертовані (від'ємні) піки

Контрольні запитання і задачі

8. Основи хімічної метрології

8.1.1. Точність аналізу. Статистична обробка
результатів аналізу

8.1.2. Кількісні характеристики аналітичної
методики

Контрольні запитання і задачі

Відповіді на контрольні задачі

Предметний покажчик

Література

СКОРОЧЕННЯ ТА СИМВОЛИ, АНГЛІЙСЬКИЙ ЕКВІВАЛЕНТ

Позначення у посібнику	Назва англійською	Назва українською/російською	Позначення, що зустрічаються у літературі
1	2	3	4
Параметри хроматограми			
t_R	Retention time	Час утримування / Время удерживания	t_R
V_R	Retention volume	Утримуваний об'єм / Удерживаемый объем	V_R
t'_R	Adjusted retention time	Виправлений час утримування / Исправленное время удерживания	t'_R
V'_R	Adjusted retention volume	Виправлений утримуваний об'єм / Исправленный удерживаемый объем	V'_R
t_0	Dead time	Мертвий час / Мертвое время	t_m
w	Peak base width	Ширина піку при основі	b, μ
$w_{0,5}$	Width half-height	Ширина піку на половині висоти	$\mu_{0,5}, b_{0,5}$
-	Mobile phase	Рухома фаза / Подвижная фаза	-
-	Stationary phase	Нерухома фаза / Неподвижная фаза	-
h	Peak height	Висота піку	h
S	Peak area	Площа піку	A
F_{as}	Asymmetry factor	Фактор асиметрії / Фактор асимметрии	A_x, v

1	2	3	4
Хроматографічні умови			
D	Distribution coefficient	Коефіцієнт розподілу / Коэффициент распределения	K
α	Selectivity coefficient	Коефіцієнт селективності, фактор розділення	α
H, BETT	Height equivalent to theoretical plate	Висота, еквівалентна теоретичній тарілці	HETP
N	Number of theoretical plates	Число тарілок	N
R _s	Resolution factor	Критерій роздільної здатності / Критерий разрешения	R _s
Q	Capacity	Навантаження, ємність колонки	Q
F	Flow rate	Швидкість потоку об'ємна	ω
-	Drift of baseline	Дрейф базової лінії	-
k'	Capacity factor	Коефіцієнт ємності / Коэффициент емкости	k'
-	On-column	Безпосереднє введення в колонку / Непосредственный ввод в колонку	-
-	Retention gap	Пустий капіляр	-
Статистичні параметри			
D	Error	Похибка / Ошибка	D
S	Standard deviation	Стандартне відхилення / Стандартное отклонение	SD
Δ	Confidence interval	Довірчий інтервал / Доверительный интервал	CI
S _r	Relative standard deviation	Відносне стандартне відхилення / Относительное стандартное отклонение	RSD

1	2	3	4
Детектори			
C_{DL}	Detection limit	Межа виявлення / Предел обнаружения	DL
C_{LoQ}	Limit of quantitation	Межа кількісного визначення / Предел количественного обнаружения	LoQ
C_{max}	Higher limit of linier range	Верхня межа лінійного діапазону / Верхний предел линейного диапазона	C_{max}
τ	Time constant	Стала часу / Постоянная времени	τ
S_{blank}	Blank signal	Сигнал фону / Сигнал фона	S_{blank}
δ	Noise level	Рівень шуму / Уровень шума	δ
ДТП	Thermal- conductivity detector	Детектор по теплопровідності	
ПД	Flame ionization	Полуменево-іонізаційний	FID
ПФД	Flame photometric	полуменевофотометричний	FPD
ЕЗД	Electron capture	електронзахоплювальний	ECD
ТІД, АФД	Thermo-ionic	Термоіонний, азотнофосфорний	TID

ПЕРЕДМОВА

Метою спецкурсу з капілярної газової хроматографії є навчання основам роботи на газовому хроматографі й вмінню розробки та оптимізації методик газохроматографічного аналізу.

Газова хроматографія – це сучасний ефективний метод розділення та аналізу рідких та газових сумішей органічних сполук та неорганічних газів, без якого неможливо уявити собі роботу аналітичних лабораторій фармацевтичних, санітарно-гігієнічних, криміналістичних та екологічних служб.

Для розуміння процесів, що відбуваються в колонці, інжекторі й детекторі та вміння оптимізації хроматографічних методик у посібнику викладено основне рівняння лінійної ідеальної хроматографії, теорії теоретичних тарілок Мартіна та дифузійну, критерій розділення, детально розглянуто вплив властивостей та параметрів колонки на її роздільну здатність, розмивання зон у випарнику й детекторі та способи його усунення.

Також у посібнику розглянуто класифікацію, будову та властивості капілярних колонок; будову та принцип роботи блоків введення проби, термостату, полуменев-іонізаційного, термоіонного, електронзахоплювального, полуменев-фотометричного детекторів та детектора по теплопровідності, особливості введення проб у газовий хроматограф; властивості детекторів. Окремі розділи присвячені причинам та способам усунення неполадок газохроматографічної системи, проведенню якісного та кількісного аналізу.

Матеріал викладено, враховуючи базові знання читачів із загальних хімічних дисциплін: фізична, аналітична та органічна хімія.

1. ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО РОЗДІЛЕННЯ

1.1. ПРИНЦИП ХРОМАТОГРАФІЧНОГО РОЗДІЛЕННЯ

Розділити складну суміш речовин, що мають близькі фізико-хімічні властивості, можна шляхом багатостадійного процесу сорбції-десорбції. Більш повного розділення можна досягти, якщо на ефект багаторазового встановлення фазової рівноваги накласти кінетичний фактор. Тобто через поверхню поділу фаз в кожному напрямку переносяться молекули речовин. Молекули, що виходять з рухомої фази, повертаються до неї, але не в попередній елемент її об'єму, а в новий.

Кожний з компонентів суміші при контакті з адсорбентом розподіляється між фазами згідно до його адсорбційних властивостей. Внаслідок безперервного руху потоку рухомої фази лише частина молекул встигає розподілитися між двома фазами. Інша частина продовжує рух і взаємодіє з наступним «вільним» шаром сорбенту. Тому хроматографічна зона компонента має певну товщину, яка залежить від багатьох факторів, зокрема швидкості потоку рухомої фази. Частина сорбованих молекул очікує на десорбцію. Це займає певний час. Тому молекули компонента рухаються повільніше за рухому фазу. Через різну спорідненість до сорбенту компоненти перебувають у фазі сорбенту різний час, тому рухаються з різними швидкостями. Внаслідок цього відбувається розділення речовин.

На рис.1.1 зображено схему хроматографічної зони (в центрі концентрація речовини більша ніж по периферії) і концентраційний профіль речовини у зоні, тобто розподіл концентрацій речовини по довжині зони.

Відповідно до розподілу речовини у зоні, концентраційний профіль проходить через максимум і асимптотично наближується до нуля з обох боків.

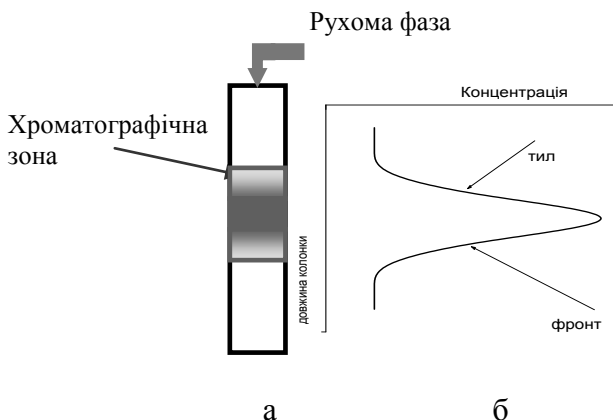


Рис.1.1. Схема хроматографічної зони (а) (у центрі концентрація більше); (б) концентраційний профіль

Можна дати таке визначення:

➡ *Хроматографія – це процес розділення, що базується на переміщенні зони речовини вздовж шару сорбенту і пов'язаний з багаторазовим повторенням актів сорбції-десорбції.*

У газовій хроматографії рухома фаза – газ, як нерухомі фази застосовують тверді і рідкі матеріали, внаслідок чого розрізняють газо-адсорбційну і газорідинну хроматографію. *Механізми розділення, відповідно: адсорбційний та розподільний.*

1.2. ВИКОРИСТАННЯ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ В АНАЛІЗІ

Методи газової хроматографії доповнюють можливості високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) і навпаки. Методом газової хроматографії можна розділяти і аналізувати *термічно стійкі та легкі речовини*, тобто речовини з температурами кипіння до 400°C,

молекулярною масою до 400 а.о. В основному це органічні сполуки. Нелеткі та полярні сполуки аналізують методом ВЕРХ. Деякі органічні сполуки з помірною леткістю та полярністю, можна аналізувати як ГХ, так і ВЕРХ. Напр., ароматичні аміни, триазини, фталати, вітаміни, гліколі, бензидини, антиоксиданти, нітрили, альдегіди, кетони.

Методом ГХ можна проводити розділення, якісний і кількісний аналіз, препаративне розділення. Також можна досліджувати фізико-хімічні параметри та властивості речовин: коефіцієнти розподілу, ізотерми сорбції, структуру сполук, пружність пари, температуру кипіння, площу поверхні, полярність, тощо.

1.3. БУДОВА ТА ПРИНЦИП РОБОТИ ГАЗОВОГО ХРОМАТОГРАФА

Лабораторні газові хроматографи призначені для аналізу газових та рідких сумішей органічного та неорганічного походження. Розділення компонентів може відбуватися в ізотермічному або програмованому режимах нагріву колонок. Для детектування використовуються різноманітні детектори. Сигнал детектора за допомогою відповідного інтерфейсу перетворюється в цифрову форму для наступної комп'ютерної обробки.

Принципова схема хроматографа наведена на рис.1.2. Газ-носіє з балону через стандартний балонний редуктор потрапляє на вхід пневматичного модуля і далі - у випарник. Проба (рідка або газова) вводиться у випарник, там підхоплюється газом-носієм і потрапляє до колонки.

Серцем будь-якого хроматографу є хроматографічна колонка, яка розташовується у термостаті. Через колонку постійно тече потік газу-носія. Цей потік можна регулювати вручну або автоматично. В колонці сполуки розділяються і по черзі потрапляють у детектор на виході з колонки. Сигнал детектора обробляється комп'ютером і подається як залежність сигналу від часу розділення.

Термостат може підтримувати температуру від -80 до 450°C. Температура термостату під час хроматографування може бути або сталою, або програмованою, тобто змінюватися з певною швидкістю.

Сучасний газовий хроматограф керує газовими потоками випарників, детекторів за допомогою вмонтованої системи *електронного керування потоками газів* (ЕКПГ).

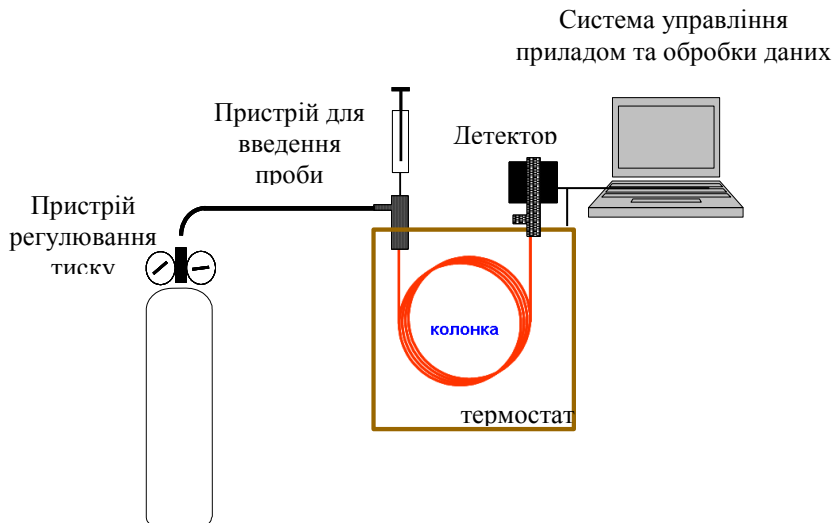


Рис. 1.2. Схема будови газового хроматографа

Треба зауважити, що хроматограф як окремого приладу не існує, так як і комп'ютера. Існує хроматографічна система в певній конфігурації або комплектації.

1.4. ХАРАКТЕРИСТИКИ ХРОМАТОГРАМИ

1.4.1. Характеристики утримування

Під час хроматографування на екрані комп'ютера записується *хроматограма* – залежність сигналу детектора від часу аналізу. Хроматограму інакше ще називають кривою елюювання. На рис.1.3

схематично зображено хроматограму одного компонента, що утримується, і одного, що не утримується.

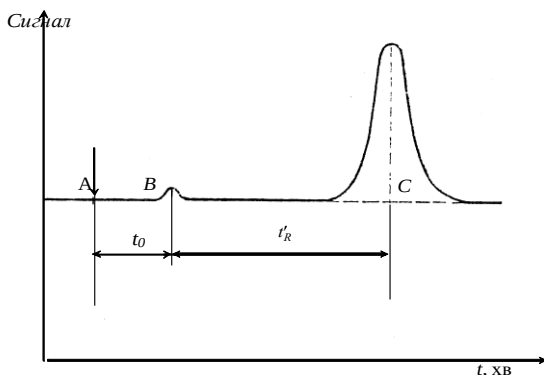


Рис. 1.3. Хроматограма:

A – момент введення проби; **B** – пік речовини, яка не сорбується;
Сигнал – сигнал детектора

В деякий момент часу A ($t=0$) у колонку вводять речовину і пропускають газ-носіє з сталою швидкістю. Інтервал часу від моменту введення проби до досягнення максимуму піку називають **часом утримування** t_R . Час утримування аналіту визначається не тільки часом його перебування у сорбенті, але й часом перебування поза сорбентом (t_0) у мертвому об'ємі: між зернами сорбенту або в порожнині капіляру, у випарнику, у детекторі. Це не ефективний час, тому його називають мертвим. Він дорівнює часу виходу з колонки компонента, який зовсім не утримується. Наприклад, при застосуванні ДПП t_0 можна знайти, пропустивши через колонку метан.

Вільний час (t_0) хроматографічної системи в цілому залежить від геометричних розмірів колонки: довжини, діаметру, для набивних колонок – від діаметру зерна сорбенту та щільності його упакування, для капілярних – від величини порожнини колонки. Також t_0 прямо пропорційно залежить від об'єму лайнеру і об'єму комірки детектора. Через це в хроматографічних системах з однаковою нерухомою фазою, але з різними геометричними розмірами колонки, інжектора і детектора, вільний час може бути різним. Тому справжню сорбційну здатність даної хроматографічної системи, від

якої залежить швидкість просування речовини, характеризують так званим **виправленим часом утримування** t'_R .

Знаючи об'ємну швидкість потоку рухомої фази F , можна обчислити утримуваний об'єм V_R :

$$V_R = t'_R F \quad (1.9).$$

За дотримання однакових умов проведення хроматографічного виправлених час утримування t'_R є характеристичною величиною для кожної речовини. Його використовують для ідентифікації компонентів суміші.

Для кількісного хроматографічного аналізу використовують висоту (h) хроматографічного піку або його площу (S).

1.4.2. Гаусів розподіл. Критерій Еттре. Фактор асиметрії

В умовах лінійного розподілу концентрації речовини у хроматографічній зоні її розмивання в колонці підпорядковується нормальному (гаусовому) розподілу незалежних величин. Крива Гауса описується рівнянням

$$y = e^{-\frac{(x-t_R)^2}{2\sigma^2}} \cdot \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \quad (1.12),$$

де y , x – координати кривої, σ^2 – дисперсія, яка характеризує розсіювання випадкової величини відносно t_R , σ – стандартне відхилення, що відповідає ширині піку на висоті 0,882 h .

Гаусів пік – крива з симетричною формою і заокругленою верхівкою.

Для гаусових піків спостерігається рівність (**критерій Еттре**) [6]

$$w_0 = 1,698 w_{0,5}, \quad (1.13)$$

де w_0 – ширина хроматографічного піка при основі, $w_{0,5}$ – ширина хроматографічного піка на половині його висоти, h .

В умовах реальної хроматографії у першому наближенні можна вважати пік гаусовим, якщо величина $w_0/w_{0,5} = 1,67 \dots 1,73$.

При більших відхиленнях від гаусової форми симетрію характеризують за допомогою **фактора асиметрії** (F_{as}), який обчислюють за одним з рівнянь:

$$F_{as} = c/d \quad [6], \quad F_{as} = w_{0,05}/2a \quad [5], \quad (1.14)$$

де s і d – відстань між висотою та гілками піку, тильною та фронтальною, відповідно, на $1/10$ висоти піку, a – відстань між висотою та фронтом на $1/20$ висоти піку, $w_{0,05}$ – ширина піка на $1/20$ його висоти (рис. 1.4.).

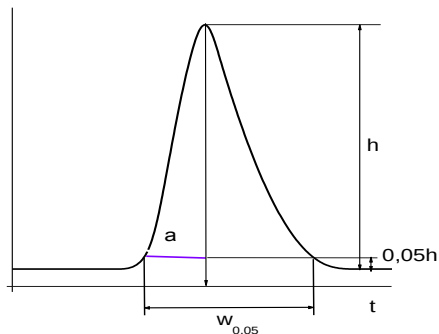


Рис. 1.4. Схема отримання даних для обчислення фактора асиметрії

Причини зміни форми піків розглядаються у розділі 7.2.

1.5. ОПИСАННЯ ПІКУ З ПОЗИЦІЙ ЛІНІЙНОСТІ ТА ІДЕАЛЬНОСТІ ПРОЦЕСУ

Залежність кількості сорбованої з газової фази речовини (C_a) від її концентрації у газовій фазі (C) у стані рівноваги називається *ізотермою сорбції*: $C_a = f(C)$.

Ізотерми адсорбції (у випадку твердого сорбента) бувають декількох типів: лінійна (Генрі), випукла (Ленгмюра), увігнута (Фрейндліха), S-подібна, Н-типу (при хемосорбції) [2, 3].

Ізотерми сорбції (у випадку рідкого сорбенту) мають лінійний характер.

Лінійна ізотерма описується рівнянням $C_a = \Gamma \cdot C$,

де Γ – коефіцієнт Генрі (розподілу речовини між двома фазами, одна з яких газова).

Коефіцієнт розподілу визначають у статичному режимі за рівноважного стану і обчислюють за рівнянням:

$$\Gamma = \frac{C_a}{C} . \quad (1.15)$$

Якщо сорбент твердий, то розмірність коефіцієнту розподілу [л/кг], оскільки C_a вимірюють у [ммоль/г], а в газовій фазі у [моль/л], якщо ж сорбент – рідкий, то коефіцієнт розподілу – безрозмірна величина, оскільки концентрація в обох фазах вимірюється у [моль/л].

Коефіцієнт розподілу залежить від хімічної природи сорбенту і сорбату, також від температури процесу.

За малих концентрацій сорбатів всі ізотерми адсорбції мають лінійний характер. Тому хроматографічне розділення треба проводити за малих концентрацій речовин.

Ознакою лінійного діапазону є незалежність часу утримування речовини від її кількості, введеної в колонку.

Виходячи з вище викладеного, залежно від розподілу концентрації речовини між фазами розрізняють лінійну і нелінійну хроматографію. Якщо розподіл речовин підпорядковується лінійній залежності кількості сорбованої речовини від її рівноважної концентрації в розчині, то говорять про *лінійну* хроматографію. *Нелінійна* хроматографія – випадок, коли розподіл між двома фазами носить нелінійний характер, тобто при великих концентраціях настає насичення адсорбенту [3].

Хроматографічний процес можна вважати *ідеальним*, якщо сорбційна рівновага встановлюється миттєво. Реальний процес є *неідеальним*, оскільки швидкість адсорбції має певну величину. Вона лімітується швидкістю дифузії молекули до поверхні, яка залежить від природи речовини і середовища. Молекули в колонці дифундують до нерухомої фази. При цьому тільки частина молекул встигає дифундувати до поверхні вузької ділянки сорбенту. Інша частина молекул переноситься рухомою фазою дещо далі по колонці. Тому вони сорбуються на наступній ділянці сорбенту. Таким чином утворюється зона речовини певної ширини. Вона рухається по колонці, ще більше розширюється. Внаслідок цього хроматографічний пік при основі має ширину, що відповідає ширині зони. Чим більша швидкість дифузії, тим менше розмивання зони.

На практиці найбільш розповсюдженою є *лінійно-неідеальна* хроматографія, коли розподіл між нерухомою та рухомою фазами описується лінійною ізотермою адсорбції, а рівновага сорбції встановлюється протягом певного проміжку часу.

Ідеальним можна вважати явище адсорбції молекул з газової фази. Розглянемо математичний опис кількісних характеристик лінійно-ідеальної хроматографії. В цьому випадку переміщення речовини уздовж хроматографічної колонки під час руху рухомої фази описується рівнянням Кисельова:

$$U_c = \frac{\omega}{V_o + V_a \cdot \frac{dC_a}{dC}} \quad (1.16),$$

де U_c – лінійна швидкість переміщення речовини уздовж шару сорбенту; ω – об'ємна швидкість потоку рухомої фази; V_o та V_a – об'єми рухомої (вільний об'єм колонки) та нерухомої фаз з розрахунку на одиницю довжини колонки, відповідно; C та C_a – концентрація та вміст речовини в рухомій та нерухомій фазах, відповідно.

У випадку лінійної ізотерми адсорбції $dC_a/dC = C_a/C = \Gamma$, тому рівняння приймає вигляд:

$$U_c = \frac{\omega}{V_o + V_a \cdot \Gamma} \quad (1.17).$$

У випадку рідкої нерухомої фази замість коефіцієнта Генрі (Γ) використовують коефіцієнт розподілу (D).

З наведеного рівняння випливає, що швидкість переміщення речовини в хроматографічній колонці зростає при збільшенні швидкості потоку рухомої фази і є тим меншою, чим більша величина коефіцієнта Генрі, тобто чим краще адсорбується речовина на даному адсорбенті.

Треба мати також на увазі, що при зменшенні об'єму (кількості) адсорбенту V_a , а також вільного об'єму V_o з розрахунку на одиницю довжини колонки швидкість руху речовини збільшується відповідно залежності (1.16). Тому розділення речовин на мікроколонках (з малим діаметром) з щільно упакованим сорбентом або в тонкому шарі сорбенту відбувається, як правило, швидше ніж на великих за розмірами хроматографічних колонках.

Для характеристики переміщення речовин в хроматографічній колонці лінійна швидкість руху u_c є незручною величиною, тому що вона залежить від швидкості потоку рухомої фази. Використовують відносну швидкість

$$\text{руху зони } R_F = \frac{U_c}{U_o}.$$

Газова рухома фаза при хроматографічному розділенні практично не адсорбується. Через те для неї $\Gamma=0$, і відповідно до рівняння (1.27) лінійна швидкість рухомої фази визначається як:

$$U_o = \frac{\omega}{V_o} \quad (1.18),$$

тобто швидкість переміщення рухомої фази визначається її об'ємною швидкістю та вільним об'ємом колонки. Відносна швидкість переміщення речовини в колонці дорівнює:

$$R_F = \frac{U_c}{U_o} = \frac{V_o}{V_o + V_a \cdot \Gamma} = \frac{1}{1 + \sigma \cdot \Gamma} \quad (1.19),$$

де $\sigma = V_a/V_o$. Отже, R_F не залежить від швидкості потоку рухомої фази, але залежить від величини коефіцієнта Генрі.

Утримуваний об'єм адсорбата (V_R), як і утримуваний об'єм рухомої фази (V_o), зворотно пропорційні їхнім швидкостям переміщення в хроматографічній колонці. Тому, орієнтуючись на рівняння (1.19) отримуємо:

$$\frac{V_R}{V_o} = 1 + \sigma \cdot \Gamma; \quad V_R = V_o + V_a \cdot \Gamma \quad (1.20).$$

Враховуючи, що $V'_R = V_R - V_o$, рівняння перетвориться у вираз

$$V'_R = V_a \cdot \Gamma \quad (1.21),$$

з якого випливає, що виправлений утримуваний об'єм (V'_R) дорівнює добутку коефіцієнту Генрі (коефіцієнту розподілу) на величину об'єму нерухомої фази. Таким чином за рівнянням (1.21) можна приблизно передбачити час виходу речовини і загальний час розділення.

1.6. РОЗДІЛЬНА ЗДАТНІСТЬ. ОПТИМІЗАЦІЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО РОЗДІЛЕННЯ

1.6.1. Залежність роздільної здатності від селективності та ефективності



Роздільна здатність колонки – це можливість отримання двох окремих хроматографічних піків, розділених до базової лінії.

Роздільна здатність залежить від селективності колонки та ефективності всієї хроматографічної системи. Щоб отримати розділені піки за якомога менший час, піки мають бути вузькими.

Селективність колонки відображається на хроматограмі як відстань між максимумами піків. Ефективність впливає на ширину піка.

Селективність сорбенту – це вибірковість його взаємодії з компонентами суміші, яка залежить від хімічної природи та структури сорбенту та хімічної природи сорбатів.

Чим далі відстоять один від одного верхівки піків і чим вузьчі піки, тим вище роздільна здатність.

На рис.1.5 наведено хроматограми двох речовин (1 і 2), отриманих за різних умов. У випадку (а) внаслідок не оптимальних умов розділення широкі піки перекриваються, тобто розділення речовин не повне. У випадку (б), оптимізовано умови розділення, і за тих самих часів утримування речовин 1 і 2 отримані вузькі піки, що не перекриваються, розділення відбулося повністю.

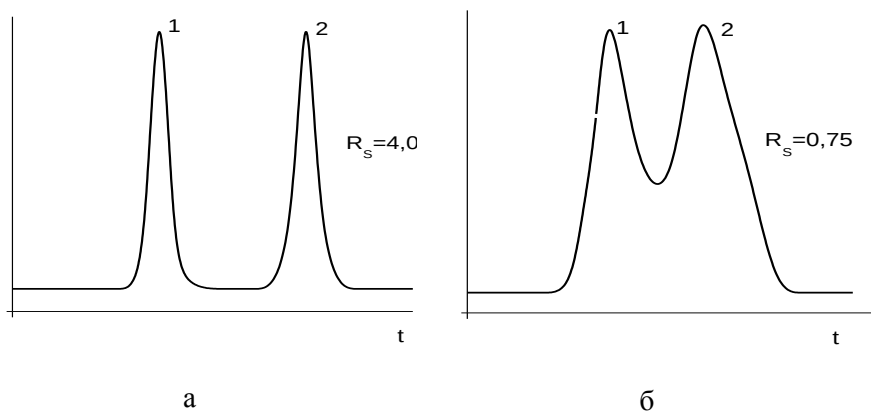


Рис.1.5. Вплив ширини хроматографічного піку на роздільну здатність хроматографічної системи

Математично селективність можна оцінити як відстань між піками (ступінь розділення): $\Delta V'_R = V'_{R(2)} - V'_{R(1)}$ і, згідно рівнянню 1.21, $\Delta V'_R = V_a(\Gamma_2 - \Gamma_1)$. З цього рівняння видно, що селективність залежить від різниці коефіцієнтів розподілу визначуваних компонентів і кількості нерухомої

фази. Якщо $\Gamma_1 = \Gamma_2$, то розділення на даному сорбенті неможливе, речовини елююватимуться одним піком.

Інший спосіб математичної оцінки селективності – *коефіцієнт селективності (фактор розділення) α* :

$$\alpha = \Gamma_2 / \Gamma_1. \quad (1.22)$$

У цьому рівнянні має задовольнятися умова $\Gamma_2 > \Gamma_1$.

Одної величини α недостатньо для оцінки роздільної здатності колонки, навіть, якщо $\alpha \gg 1$. Треба знати, чи розділятимуться основи хроматографічних піків. Для цього треба знати ефективність розділення.

Ефективність колонки – *здатність системи опиратися розмиванню хроматографічних зон*. Речовина в колонці просувається у вигляді зони певної ширини. Чим вужче ширина зони, тим менше ширина хроматографічного піку при основі.

Математично ефективність колонки характеризують висотою, еквівалентною теоретичній тарілці (BETT) (див. теорію теоретичних тарілок [7]). Висота тарілки – поняття умовне. Під *BETT розуміють шар сорбенту, на якому встигає встановитися сорбційна рівновага*. Чим менша висота тарілки, тим вище ефективність колонки.

Щоб порівнювати колонки різної довжини, застосовують ще одне умовне поняття – число теоретичних тарілок (**N**) – безрозмірна величина, що пов'язує час утримування речовини з шириною її хроматографічного піка. Обчислити число тарілок можна за хроматографічним піком будь-якої речовини за експериментальними рівняннями:

$$N = 16 \cdot \left(\frac{t_R}{w} \right)^2, \quad N = 5,55 \cdot \left(\frac{t_R}{w_{0,5}} \right)^2, \quad (1.23)$$

де w – ширина піку при його основі, мл, $w_{0,5}$ – ширина піку на половині висоти, мл.

Число тарілок і BETT пов'язані так:

$$N = \frac{l}{H}, \quad \text{де } l - \text{довжина колонки, см.} \quad (1.24)$$

Тобто чим вужче пік, тим вище якість колонки.

Чим більше тарілок, тим вище ефективність.

Кількісною характеристикою роздільної здатності є **критерій роздільної здатності** (R_s). R_s пов'язаний з селективністю та ефективністю таким рівнянням:

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k'}{k' + 1} \right) \quad (1.25).$$

В цьому рівнянні є ще один важливий параметр утримування - **коефіцієнт ємності (фактор утримування)** (k') колонки, який обчислюють за рівнянням:

$$k' = \frac{t_R}{t_o} \quad (1.26)$$

Він показує, у скільки разів речовина довше перебуває у нерухомій, ніж у рухомій фазі під час проходження через колонку. В процесі оптимізації методики хімік намагається підібрати всі умови таким чином, щоб величина k' була оптимальною.

З одного боку, для повного розділення речовини мають достатньо довго перебувати в колонці, це призводить до великих часів утримування.

З іншого боку необхідно, щоб час розділення був малим, тобто часи утримування – малі.

Величини k' для газової хроматографії лежать в діапазоні 1 – 50.

Вплив на критерій роздільної здатності кожної величини рівняння 1.13 можна представити графічно і розглянути окремо (рис. 1.6).

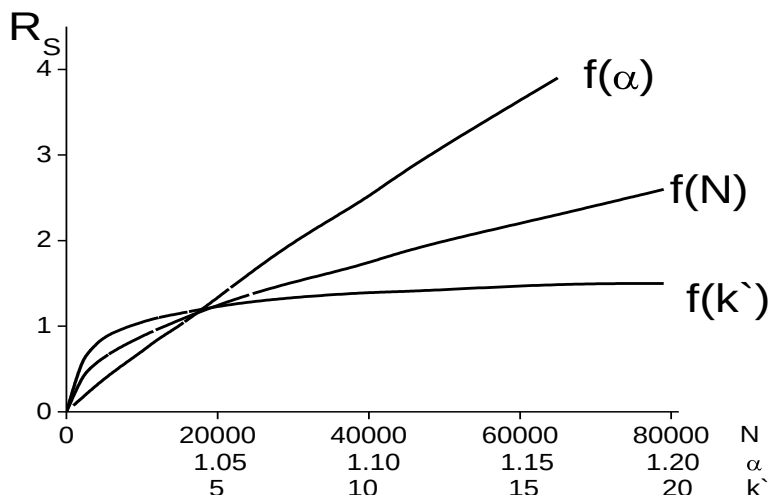


Рис. 1.6. Залежність критерію роздільної здатності (R_s) від селективності (α), ефективності (N) і коефіцієнту ємності (k') колонки

Найбільше на критерій роздільної здатності впливає селективність. Тобто, погану роздільну здатність неможливо покращити підвищенням ефективності, якщо вибрана неселективна нерухома фаза.

Вплив ефективності (N) менший. Збільшення довжини колонки вдвічі, тобто збільшення ефективності вдвічі, збільшує критерій розділення всього в корінь квадратний з 2.

На селективність сильно впливає температура, а на ефективність – швидкість потоку газу-носія. Селективність із збільшенням температури зменшується, але при цьому збільшується ефективність. Збільшення коефіцієнта селективності (α) на 2 % знижує вимоги до ефективності в 4 рази.

Для документування розділення критерій роздільної здатності можна обчислити за параметрами хроматографічних піків за рівняннями:

$$R_s = \frac{2\Delta t_R}{w_{0(1)} + w_{0(2)}} \quad R_s = \frac{1,18\Delta t_R}{w_{0,5(1)} + w_{0,5(2)}} , \quad (1.27)$$

де $\Delta t_R = t_{R(1)} - t_{R(2)}$, w_0 і $w_{0,5}$ – ширина піка при основі і ширина піка на половині його висоти, відповідно.

На рис.1.7 зображено хроматографічні піки 1 і 2, розділені до базової лінії. В такому випадку критерій роздільної здатності дорівнює 1,5. Розділення хроматографічних піків 3 і 4 характеризуються критерієм роздільної здатності 1,0, що є достатнім для якісного і кількісного аналізу. Хроматографічні піки 3 і 4 розділені набагато краще, для них критерій роздільної здатності 8,0. Великий критерій розділення не є необхідним, а в деяких випадках навіть показує недостатньо оптимізовані умови хроматографічного розділення, на яке витрачається більше часу, ніж необхідно.

За великих значень критерію роздільної здатності, можна пробувати оптимізувати розділення, змінюючи температуру термостату і швидкість потоку газу-носія.

Слід зазначити, що висота, еквівалентна теоретичній тарілці, мало залежить від величин коефіцієнтів розподілу, але значно залежить від фізичних умов хроматографування, зокрема від:

- температури,
- розміру зерен сорбенту та щільності його упакування для набивних колонок, або товщини нерухомої фази для капілярних колонок,
- коефіцієнтів дифузії сорбату в розчині та у фазі сорбенту,
- швидкості потоку рухомої фази, тощо.

Тому величину H для даної колонки можна визначити на підставі кривої елювання практично будь-якої речовини за умови $t_R > t_0$. Виходячи з припущення, що форма піку описується кривою Гауса, кількість тарілок та висоту тарілки можна розрахувати з таких рівнянь.

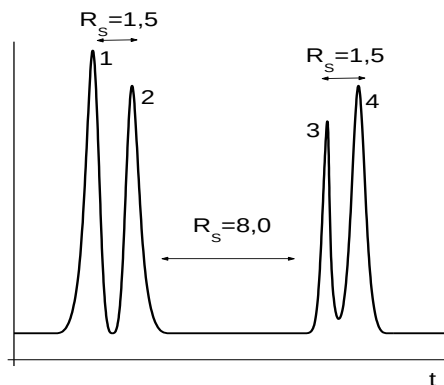


Рис.1.7. Критерій роздільної здатності за різних часів утримування та ширин піків

1.6.2. Залежність ефективності хроматографічної системи від швидкості потоку рухомої фази

У динамічних умовах рівновага розподілу сорбату між фазами не встановлюється, і на розмивання хроматографічної зони впливає також дифузія молекул сорбату та інші процеси масообміну.

Врахувавши ці фактори, *Ван Деємтер* запропонував рівняння, яке пов'язує *BETT (H)* з лінійною швидкістю (*U*) потоку рухомої фази [7]:

$$H = A + \frac{B}{U} + C \cdot U \quad (1.28).$$

Коефіцієнт *A* показує вклад *вихрової дифузії*, що залежить від розміру частинок сорбенту і щільності і рівномірності його упакування. Коефіцієнт *B* пов'язаний з *поздовжньою* дифузією речовини в напрямках обох кінців колонки. Чим менше швидкість потоку рухомої фази, тим більше розмивання хроматографічної зони за рахунок *поздовжньої* дифузії молекул у рухомій фазі. Коефіцієнт *C* показує *опір масопередачі* в обох фазах. Швидкість дифузії у твердій або рідкій нерухомій фазі менша за швидкість дифузії у рухомій фазі. Це призводить до розмивання хроматографічної зони. Чим більше швидкість потоку рухомої фази, тим більше розмивання

хроматографічної зони, бо не встигає встановитися сорбційно-десорбційна рівновага на вузькій ділянці сорбенту. Отже, вплив швидкості на розмивання хроматографічної зони не однозначний.

(див. дифузійну теорію [7])

Залежність (1.28) графічно зображена на рис.1.8. Видно, що на сумарній кривій залежності ВЕТТ від швидкості потоку рухомої фази спостерігається діапазон швидкості, що відповідає мінімальній величині ВЕТТ. Швидкості на цій ділянці є оптимальними для повного розділення речовин.

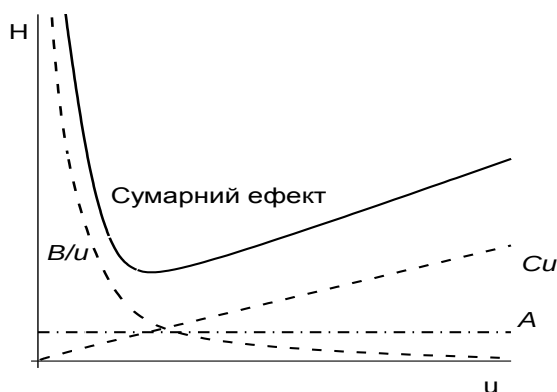


Рис.1.8. Вплив дифузійних факторів на висоту тарілки

Параметри, які об'єднані в коефіцієнтах A , B і C , визначити експериментально або обчислити теоретично важко, а іноді практично неможливо. На практиці оптимальний діапазон величин швидкості визначають експериментально таким чином. Хроматографують речовини на даній колонці при різних швидкостях потоку рухомої фази, за отриманими хроматографічними піками обчислюють число тарілок і висоту тарілки і будують залежність H від швидкості. З цієї залежності обирають оптимальний діапазон швидкості.

Природа газу-носія

Зауважимо, що діапазон оптимальної швидкості залежить від природи рухомої фази. У менш вязкому середовищі швидкість дифузії молекул є

більшою, отже меншим є опір масопередачі і ефективнішим розділення речовин в більш широкому діапазоні швидкості потоку газу-носія. На рис.1.9 наведено значення густин та вязкості трьох газів. Для H_2 цей діапазон більш широкий, для He - вузький, для N_2 взагалі оптимальною є одна величина швидкості, але при цьому для N_2 оптимальна швидкість потоку при мінімальній ВЕТТ з трьох газів, тобто використання азоту забезпечує максимальну ефективність системи. Отже, чим менша в'язкість і густина газу-носія, тим ширший діапазон оптимальної швидкості.

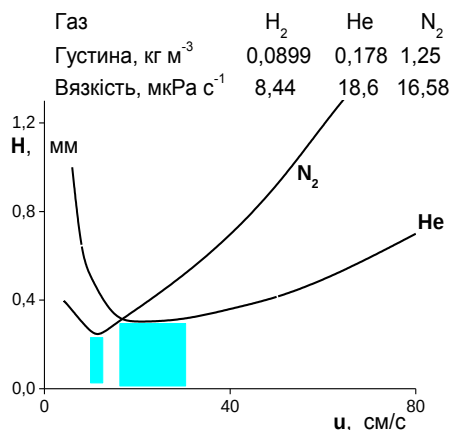


Рис.1.9. Залежність ВЕТТ (H) від швидкості потоку рухомої фази

Переваги H_2 : найменша вязкість і густина, що забезпечує більш широкий діапазон оптимальної швидкості і менший перепад тиску прокачування через довгі колонки, найбільша теплоємність, що дає найбільшу чутливість в катарометрі (ДТП), але водень – вибухонебезпечний, що вимагає тримати балони поза приміщенням. He – інертний і вибухобезпечний газ, близький за вязкістю до H_2 , але має нижчу теплоємність. N_2 має свої переваги: він інертний, дешевий, отже доступніший, аніж He , і має ліпші властивості як допоміжний газ, ніж He , але має вузький діапазон оптимальної швидкості і невелику теплоємність.

Підсумовуючи викладене у розділах 1.4 – 1.6, можна зробити такі висновки:

- роздільна здатність залежить від селективності нерухомої фази і ефективності хроматографічної системи в цілому;

- селективність залежить від хімічної природи сорбенту і сорбатів, температури, селективність зменшується при збільшенні температури;
- ефективність колонки збільшується із зміною таких параметрів:
- в набивних колонках - зменшення діаметр зерна сорбенту, щільніше його упакування (при цьому зменшується вихрова дифузія, менший опір масопередачі у нерухомій фазі),
- зменшення товщини плівки рідкої нерухомої фази (при цьому менший опір масопередачі у нерухомій фазі),
- збільшення швидкості дифузії сорбату в рухомій фазі, тобто зменшення в'язкості рухомої фази (менший опір масопередачі у рухомій фазі),
- збільшення температури (зменшується опір масопередачі).

 *Оптимізація хроматографічної методики полягає у виборі фізичних параметрів, при яких розділення відбуватиметься за мінімальний час з високою ефективністю із збереженням фактора симетрії близьким до 1.*

1.7. ОСНОВНІ ПОЛОЖЕННЯ ГАЗОРІДИННОГО РОЗПОДІЛУ

В аналітичній практиці газорідинна хроматографія має більш широке застосування, ніж газоадсорбційна. Це зумовлене широким асортиментом рідких нерухомих фаз (полімерів для капілярів) і широким діапазоном лінійності ізотерм сорбції.

Основні положення газоадсорбційного розподілу можна освіжити в пам'яті по [2,3].

Розглянемо основні положення газорідинного розподілу речовин.

Спочатку розглянемо залежність тиску пари речовини від її розчинності.

За законом Дальтона:

загальний тиск (p_{total}) системи дорівнює сумі парціальних тисків (p_i) всіх компонентів суміші:

$$p_{total} = \sum p_i \quad (1.29)$$

З закону Дальтона випливає, що тиск спричинений даним газом еквівалентний його мольній частці у газовій суміші:

$$\frac{p_i}{p_{total}} = \frac{n_i}{n_{total}} = x_{g(i)} \quad , \quad (1.30)$$

$$P_i = P_{\text{total}} \cdot x_{g(i)}, \quad (1.31)$$

де n – кількість моль, $x_{g(i)}$ – мольна частка компоненту у газовій фазі.

Для розбавленого газу за даних умов, можна користуватися концентрацією компонента у суміші:

$$x_{g(i)} = \text{const} \cdot C_{g(i)}, \quad (1.32)$$

де const – стала, що враховує перетворення мольної частки у концентраційні одиниці

$$P_i \cong C_{g(i)} \quad (1.33)$$

За законом Рауля:

тиск пари розчиненого компоненту над його розчином прямо пропорційний його мольній частці у розчині, а сталою пропорційності є тиск пари чистого компоненту.

Для ідеальних розчинів:

$$P_i = P_i^0 \cdot x_{s(i)}, \quad (1.34)$$

де $x_{s(i)}$ – мольна частка компоненту у розчині.

Для реальних розчинів взаємодії, що відбуваються між частинками у розчині, враховують так:

$$P_i = P_i^0 \cdot \gamma_i \cdot C_{s(i)}, \quad (1.35)$$

де γ_i – коефіцієнт активності.

Коефіцієнт активності (γ_i) – поправковий фактор для концентрації, який перетворює її у реальну концентрацію (активність) в розчині.

За законом Генрі:

у так званому ідеальному розчині існує лінійна залежність між парціальним тиском і мольною концентрацією:

$$P_i = H \cdot x_i, \quad (1.36)$$

де H – стала Генрі – основа газової хроматографії і парофазного аналізу (див розділ 3.10).

В ідеальному розчині:

$$H = P_i^0. \quad (1.37)$$

Запишемо p_i , поєднавши рівняння (1.31) і (1.35):

$$P_i = P_{\text{total}} \cdot x_{g(i)} = P_i^0 \cdot \gamma_i \cdot C_{s(i)}. \quad (1.38)$$

Як вже зазначалося вище, у системі, яка представляє собою ідеальний розчин, замість концентрації можна застосувати мольну частку. Тоді:

$$\frac{P_{\text{total}}}{P_i^0 \cdot \gamma_i} = \frac{x_{S(i)}}{x_{g(i)}} = \frac{C_{S(i)}}{C_{g(i)}} = K, \quad (1.39)$$

де K – коефіцієнт розподілу.

Можна записати

$$K \cong \frac{1}{P_i^0 \cdot \gamma_i} \quad (1.40)$$

➡ *Тобто, коефіцієнт розподілу обернено пропорційний тиску пари чистої речовини та її коефіцієнту активності.*

Коефіцієнт селективності обчислюється як співвідношення коефіцієнтів розподілу

$$\alpha = K_2/K_1 = \frac{\gamma_1 \cdot P_1^0}{\gamma_2 \cdot P_2^0}. \quad (1.41)$$

Якщо коефіцієнти активності двох близьких за хімічною природою речовин у даному сорбенті є близькими, тобто $\frac{\gamma_1}{\gamma_2} = 1$, то передбачити селективність розділення можна на основі тиску пари чистих речовин P_1^0 і P_2^0 .

Контрольні запитання

1. За рахунок чого відбувається розділення речовин у хроматографії?
2. Напрями використання хроматографічних методів.
3. Дайте визначення хроматографії.
4. Які сили міжмолекулярної взаємодії призводять до утримування молекул у нерухомій фазі?
5. Наведіть схему газового хроматографа та опишіть принцип його дії.
6. Які властивості повинні мати речовини, щоб їх можна було визначати методом газової хроматографії?
7. Наведіть коротку характеристику газів-носіїв. Які властивості повинна мати рухома фаза у газовій хроматографії? Які гази використовуються як рухома фаза? Чим обумовлюється вибір газу-носія?

8. Яким чином, окрім аналізу, можна використовувати результати визначень методом газової хроматографії?

9. В чому фізичний сенс коефіцієнту розподілу і від яких факторів він залежить?

10. Опишіть вихідну криву елюентного аналізу. На основі яких параметрів проводиться якісний і кількісний аналіз?

11. Який вплив має мертвий час на характеристики утримування? Від чого залежить мертвий час?

12. Опишіть основні ознаки гаусового розподілу величин.

13. Наведіть формулу критерію Еттре.

14. Наведіть формулу для обчислення фактору асиметрії. Який діапазон величин фактору асиметрії припустимий для кількісного аналізу?

15. Що означає «лінійна-ідеальна хроматографія»?

16. Якою є хроматографія в реальних умовах?

17. Наведіть основне рівняння лінійно-ідеальної хроматографії і поясніть фізичний зміст величин, які до нього входять. Які висновки можна зробити на основі цього рівняння?

18. Який сенс криється у понятті «роздільна здатність хроматографічного розділення»?

19. Дайте якісне описання теорії еквівалентних тарілок. Основні величини, які вводять ця теорія.

20. Поясніть суть дифузійної теорії. Рівняння Ван Деємтера.

21. Опишіть експериментальний спосіб визначення оптимальної швидкості потоку рухомої фази.

22. Від яких факторів залежить ВЕТТ? Поясніть, чому збільшення часу утримування призводить до розмивання кривих елюювання.

23. Наведіть фактори, від яких залежать селективність і ефективність розділення.

24. Від яких параметрів залежить роздільна здатність хроматографічної колонки? Представте на рисунку свої пояснення.

25. Що означає, оптимізувати хроматографічне розділення?

26. Сформулюйте закон Дальтона.

27. Сформулюйте закон Рауля, Генрі і запишіть вираз для коефіцієнту газорідинного розподілу.

28. На основі яких фізичних параметрів сорбатів можна передбачити селективність розділення в газорідинній хроматографії?

2. ВЛАСТИВОСТІ ТА ВИБІР ХРОМАТОГРАФІЧНИХ КОЛОНОК. ТЕРМОСТАТ КОЛОНОК

У хроматографічній колонці відбувається розділення речовин завдяки їхній різній сорбційній здатності. *Правильний вибір нерухомої фази забезпечує високу селективність розділення і є запорукою високої роздільної здатності.* ➡ За низької селективності нерухомої фази всі спроби покращити роздільну здатність під час експерименту збільшенням ефективності не дають позитивного результату.

2.1. КЛАСИФІКАЦІЯ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ КОЛОНОК

Історично першими у газовій хроматографії використовували набивні колонки. Такі колонки мали відносно низьку ефективність. Довжина сучасних набивних колонок складає 2...5 м (внутрішній діаметр 1...7 мм). Наприкінці 70-х років (20 сторіччя) навчилися виготовляти капілярні колонки з плавленого кварцу довжиною 5...150 м (внутрішній діаметр 0,05...0,53 мм), ефективність яких набагато вище, ніж набивних.

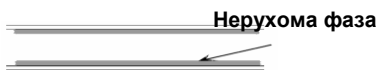
За способом наповнення розрізняють набивні та капілярні колонки.

Набивна колонка – це трубка (металева, скляна, полімерна), що заповнена (набита) адсорбентом у вигляді зерен. Адсорбенти в таких колонках можуть бути:

- мікропористими,
- поверхнево-пористими,
- непористими.

Капілярна колонка – це трубка малого діаметру (капіляр), на внутрішню поверхню якої нанесено шар нерухомої фази. Нерухома фаза може бути і твердою, і рідкою.

Капілярні колонки можуть бути заповнені нерухомою фазою не



повністю. Їх називають *відкритими капілярними колонками*.

Виготовляють і такі капілярні колонки, що повністю заповнені нерухомою фазою. Їх називають *мікронасадовочними (закритими) капілярними колонками*.

Розрізняють три типи відкритих капілярних колонок:

- Wall Coated Open Tubular, (WCOT),
- Surface Coated Open Tubular, (SCOT),
- Porous Layer Open Tubular, (PLOT).

Кожний тип колонок призначений для розділення певних сумішей речовин.

WCOT колонки - відкриті капілярні колонки (ВКК), в яких тонка плівка нерухомої фази нанесена на внутрішню поверхню капіляру. Діаметр таких колонок складає 0,05 - 0,53 мм. Товщина покриття 0,1 - 0,8 мкм. Як нерухомі фази застосовують полімери (нев'язкі рідини, полісилоксани, поліетиленгліколі, каучуки). Ці рідини зшивають на поверхні або прищеплюють до поверхні капіляру. Такі колонки мають малу ємність. Частота використання *WCOT* колонок складає 90% від використання всіх капілярних колонок.

SCOT колонки – відкриті капілярні колонки (ВКК-), на внутрішню поверхню капіляра нанесено шар адсорбенту, покритого плівкою нерухомої фази. У таких колонок низька інертність. Але можна використовувати широкий асортимент нерухомих фаз.

PLOT колонки - відкриті капілярні колонки з тонким пористим шаром адсорбенту (ВКК-ПШ). Колонки придатні для аналізу сполук, що за кімнатної температури перебувають у газовому стані, а також легких вуглеводнів. До недоліків колонок цього типу відносять меншу ефективність, нижчу інертність і меншу відтворюваність в часі ніж у ВКК.

Надалі будемо обговорювати саме *WCOT* колонки.

Капілярні колонки мають як переваги, так і недоліки. Перевагою є висока ефективність і висока роздільна здатність. Найбільш серйозним обмеженням використання капілярних колонок є їх низька ємність по пробі.

Ємність колонки - це кількість речовини, яку можна ввести в колонку для аналізу без погіршення її ефективності. Для набивних колонок вона на декілька порядків вища, ніж для капілярних. Тому, набивні колонки

використовуються в основному для аналізу газів і високолетких компонентів, яким потрібно більше сорбенту для взаємодії.

2.2. ВИГОТОВЛЕННЯ КАПІЛЯРНИХ КОЛОНОК

Слід пам'ятати, що роздільна здатність колонки залежить від якості її виготовлення.

Корпус капілярної колонки виготовляють з кварцу. Багато типів скла придатні для витягування, але тільки синтетичний плавлений кварц достатньо інертний.

Вихідна заготовка кварцу потрапляє у високотемпературну піч (~2000°C), де з неї формують капіляр. Для отримання ефективної капілярної колонки сталість її внутрішнього і зовнішнього діаметрів контролюють за допомогою лазерного датчика. При витягуванні у печі отримують прямі гнучкі капіляри. Щоб помістити у термостат їх закручують у спіраль і намотують на каркас. Чим більший діаметр рамки каркасу, тим менше напруга матеріалу і, відповідно, вища якість колонки.

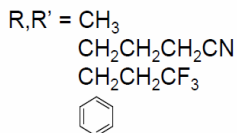
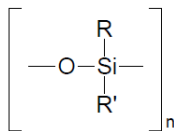
Силанольні групи ($\equiv\text{Si-OH}$) на поверхні кварцу взаємодіють зі сполуками, які містять тиольну ($-\text{SH}$), гідроксильну ($-\text{OH}$), аміно ($-\text{NH}_2$) або карбоксильну ($-\text{COOH}$) групи. Тому кварцовий капіляр дезактивують, тобто заміщують силанольні групи силанізуючими реагентами.

Кварцевий капіляр взаємодіє з вологою, яка руйнує зв'язки силіцій-кисень з утворенням силанольних груп, що призводить до утворення тріщин. Тому кварц вкривають захисним шаром. Найбільш розповсюдженими є покриття з полііміду.

Нерухомі фази наносять на внутрішню поверхню капіляру.

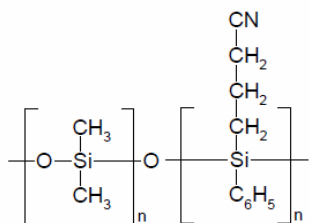
2.3. ВЛАСТИВОСТІ КАПІЛЯРНИХ КОЛОНОК ЗАЛЕЖНО ВІД ТИПУ НЕРУХОМОЇ ФАЗИ

Оскільки газохроматографічне розділення проводиться при підвищених температурах, нерухомі фази капілярних колонок повинні мати високу термічну стабільність і бути нелеткими. З цих причин, як нерухомі фази у капілярних колонках найчастіше застосовують полісілоксани та поліетиленгліколі (див. табл.2.1).



Полісилоксани – найбільш розповсюджені фази. Полісилоксани містять силіцій-кисневий ланцюжок з двома функціональними групами (R і R') біля кожного атома силіцію. Для досягнення селективного розділення

речовин використовують полісилоксани з функціональними групами різної природи та концентрації (табл.2.1).



Наприклад, ціанопропилфенілполісилоксан містить одночасно ціанопропільні та фенільні групи.

Ще однією широкоживаною фазою є **поліетиленгліколі (ПЕГ)** та їх етери.

Селективність розділення **HO-(CH₂-CH₂-O)_n-H**

досягається зміною молекулярної маси ПЕГ (від 950 до 15000) та природою замісників, табл. 2.1. Наприклад, поліетиленгліколь терефталевої кислоти випускається під торговою назвою карбовакс 20М.

В специфікації (описі) колонки зазначають такі відомості: склад нерухомої фази, її полярність, число тарілок, хроматограма стандартної суміші.

Колонки класифікують за полярністю нерухомої фази, та діапазоном термічної стабільності, табл.2.1. Верхня межа темічної стабільності позначена двома числами, напр., 325/350°C. Перше число – ізотермічна температура, друге число – гранична температура програмування. При ній можна витримувати колонку не більше 10-15 хв. В специфікаціях колонки також можна знайти перелік речовин, які можна розділяти на даній колонці.

Треба пам'ятати, що часи утримування компонентів на однакових нерухомих фазах різних фірм виробників можуть бути різними. Тому перед використанням колонки необхідно провести аналіз стандартної суміші і визначити часи утримування компонентів на даній колонці.

Селективність колонки

Полярність нерухомої фази у значній мірі визначає селективність колонки для даної проби. Тому, нерухомі фази поділяють на два класи – полярні і неполярні. Змінюючи полярність фази, можна значно змінити часи утримування речовин. У випадку необхідності розділення сполук з різними

функціональними групами, чим вище полярність нерухомої фази, тим вище селективність колонки. Більш селективне розділення гомологів навпаки досягається на неполярних колонках.

➡ Чим вище полярність нерухомої фази, тим менша її хімічна і термічна стійкість.

Табл. 2.1.

Деякі рідкі нерухомі фази

Склад	Полярність	Досліджувані речовини	Діапазон температур, °C
100% диметилполісилоксан (синтетичний каучук)	Неполярна	Феноли, вуглеводні, аміни, сірковмісні сполуки, пестициди, поліхлоровані бензоли	-60 ÷ 325
100% диметилполісилоксан (в'язка рідина)	«	Похідні амінокислот, ефірні масла	0 ÷ 280
5% дифеніл, 95% диметилполісилоксан	«	Жирні кислоти, метилові складні ефіри, алкалоїди, ліки, препарати, галогенвмісні сполуки	60 ÷ 325
14% ціанопропіл-фенілполісилоксан	Середня	Ліки, стероїди, пестициди	-20 ÷ 280
50% феніл, 50% метилполісилоксан	«	Ліки, стероїди, пестициди, гліколі	60 ÷ 240
50% ціанопропілметил, 50% феніл	«	Жирні кислоти, метилові складні ефіри, ацетати алдитола	60 ÷ 240
50% трифторпропілполісилоксан	«	Галогенвмісні сполуки, ароматичні сполуки	45 ÷ 240
Поліетилєн-гліколь, модифікований терефталєвою кислотою	Полярна	Кислоти, спирти, альдегіди, акрилати, нітрили, кетони	60 ÷ 240

Поліетиленгліколі	«	Вільні кислоти, спирти, етери, етерні масла, гліколіз. розчинники	60 ÷ 220
-------------------	---	---	----------

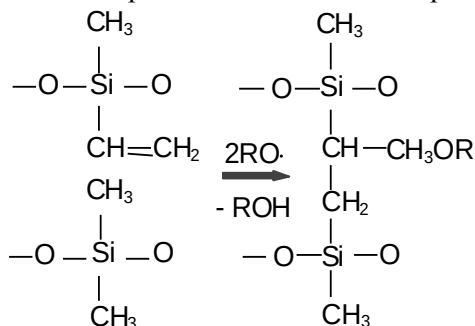
Стандартизація колонки

Однорідність нанесення фази

Чим вище однорідність нанесення нерухомої фази, тим ефективніше розділення речовин. Однорідність нанесення фази наводиться у відсотках від теоретично можливої. Для неполярних фаз рівномірність нанесення складає 90-100%. Полярні фази менш рівномірно змочують поверхню неполярного кварцу, тому однорідність їх нанесення становить 60-80% і, відповідно, ефективність полярних колонок дещо нижча.

Імобілізація фази

Для досягнення стабільної роботи колонки необхідними є зшивка і/або прищеплення нерухомої фази. **Поперекова зшивка фази** – це реакція, що призводить до зв'язування окремих ланцюгів полімерної фази з утворенням макромолекулярної сітки. **Прищеплення нерухомої фази** – це хімічне зв'язування нерухомої фази з поверхнею капіляру. Поперекова зшивка нерухомої фази досягається при дії на неї ініціаторів (гама-випромінювання) та зшиваючих реагентів (пероксидів, озону, азосполук). Схема типової реакції з використанням зшиваючого реагенту – пероксидного радикалу $\cdot\text{OR}$:



Колонки зі зшитими фазами можна промивати розчинниками для регенерації, а з незшитими - не можна.

В деяких випадках для досягнення необхідної селективності розділення з комерційних хроматографічних фаз готують колонки зі змішаними фазами або послідовно з'єднують колонки з різними нерухомими фазами. Можна також синтезувати потрібну фазу з базових нерухомих фаз. *Наприклад, обробкою поліетиленгліколевої фази терефталевою кислотою, можна отримати нову фазу, яка містить кислотні групи. Така фаза успішно застосовується для розділення неетерифікованих жирних кислот.*

2.4. ВИБІР КОЛОНКИ ДЛЯ АНАЛІЗУ. ОПТИМІЗАЦІЯ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО ПРОЦЕСУ

Завдання хроматографіста - провести розділення швидко, з оптимальною роздільною здатністю із збереженням симетрії піків.

Важливими характеристиками хроматографічної методики є:

- роздільна здатність колонки;
- чутливість;
- час аналізу;
- екобезпечність;
- вартість аналізу.

Хроматографіст може змінювати роздільну здатність, час аналізу, чутливість методики.

Роздільна здатність є функцією селективності, ефективності та коефіцієнту ємності колонки (п.1.6). Роздільна здатність пропорційна кореню квадратному з числа тарілок. Збільшуючи число тарілок вдвічі (тобто довжину колонки вдвічі), можна збільшити роздільну здатність лише в корінь квадратний з двох. Але при цьому час аналізу збільшується вдвічі. Ефективність впливає на роздільну здатність в меншій мірі, ніж селективність. Найбільш вагомим фактором, що впливає на роздільну здатність, є селективність. Тобто, правильно обрана нерухома фаза є запорукою високої роздільної здатності. Що стосується коефіцієнту ємності (k'), то він сильно впливає лише в діапазоні від 1 до 4. Подальше збільшення k' не призводить до покращення роздільної здатності, лише погіршує ефективність, оскільки збільшення часу перебування речовини в колонці призводить до розмивання її зони та збільшення час аналізу.

Вплив фізичних параметрів колонки на її роздільну здатність

Діаметр колонки (d_c). Діаметр колонки визначає роздільну здатність і ємність колонки.

Чим менший внутрішній діаметр колонки, тим ліпша її роздільна здатність: $R_s \approx d_c^{-2}$.

Чим більший діаметр колонки, тим більша її ємність: $Q_s \approx d_c^3$.

Товщина покриття (d). Товщина покриття визначає ємність колонки і тривалість розділення.

Чим більша товщина плівки, тим більша ємність колонки $Q_s \approx d$.

Зі збільшенням товщини плівки пропорційно збільшуються час аналізу $t \approx d$ і коефіцієнт ємності $k' \approx d$. В ізотермічному режимі збільшення товщини плівки вдвічі призведе до збільшення k' вдвічі.

Хроматографіст повинен пам'ятати:

- чим товстіша фаза, тим менш доступною є поверхня капіляру для активних речовин, наприклад, таких, що утворюють водневі зв'язки, тим більш симетричними будуть піки.
- чим товща фаза, тим більше продуктів її деградації потрапляє в детектор і виникає дрейф нульової лінії. Збільшення рівня нульової лінії, тобто шумів, призводить до збільшення межі виявлення.

Довжина колонки (l). Довжина колонки визначає час аналізу $t_R \approx l$ і роздільну здатність, $R_s \approx l^{1/2}$.

Довжину колонки слід обирати залежно від поставленої задачі. Якщо лабораторія виконує рутинні аналізи, а роздільна здатність залишає свободу вибору, то ліпше розрізати колонку навпіл і таким чином зменшити тривалість розділення. Ще й отримати дві колонки. В дослідницькій лабораторії ліпше залишити високу ефективність, витратити більше часу, доки не розробили правильну методику.

З вище викладеного можна підсумувати, що зміна одного параметру впливає на інший.

Чим менший діаметр колонки, тим ліпша ефективність. Оскільки при зменшенні діаметру колонки збільшується роздільна здатність, то довжину колонки при цьому можна зменшувати, таким чином зменшиться час аналізу.

Але зменшувати діаметр колонки можна до певної межі. Деколи малий діаметр може призвести до неправильних результатів.

Негативним наслідком зменшення внутрішнього діаметру є зменшення ємності колонки. При цьому втрачається чутливість. До того ж зменшується динамічний діапазон хроматографічної системи в цілому.

Динамічний діапазон. Наступний приклад пояснить сенс вище написаного (рис.2.2).

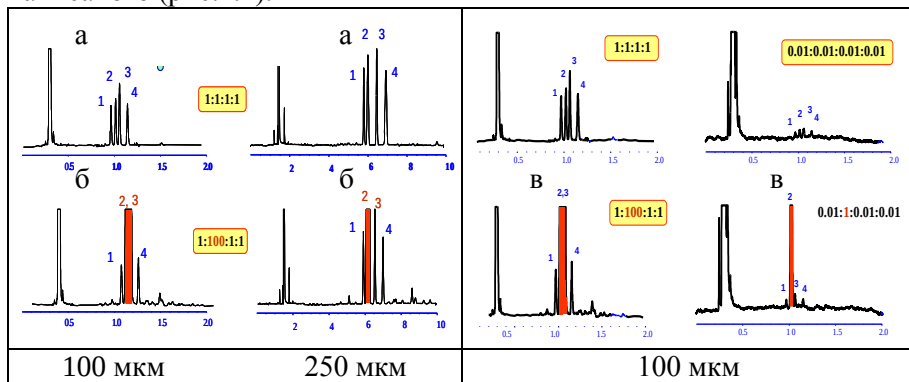


Рис.2.2. Вплив діаметру колонки на динамічний діапазон

Приклад 1. Суміш з 4-х речовин у концентраційному співвідношенні 1:1:1:1 хроматографували на двох колонках з діаметрами 100 і 250 мкм. На обох колонках суміш розділилася (рис.2.2, а). Тільки час аналізу на колонці з діаметром 250 мкм в 5 разів більший.

Приклад 2. Хроматографували другу суміш тих самих речовин де концентрацію речовини 2 збільшили у 100 разів. Видно (рис.2.2, б), що на колонці з діаметром 100 мкм піки речовин 2 і 3 злилися! А на другій колонці розділення відбулося!

Отже, нема сенсу у швидкому аналізі, якщо компонент перевантажує колонку і зливається з іншим.

Щоб зменшити концентрацію речовини 2, що призведе до звуження її піку і покращить його розділення з піком 3, розбавили суміш у 100 разів. Результати хроматографування (рис.2.2, в): розбавлення призвело до того, що на першій колонці піки компонентів з малими концентраціями злилися з шумом. Тобто, ці речовини можуть бути втрачені при неправильному підході до аналізу!

Висновки.

1. Колонки з малим діаметром можна використовувати, у разі потреби *швидкого* розділення речовин, які містяться у пробі у *близькому концентраційному співвідношенні*, або коли *домішки визначати не треба* та їх *піки можна втрачати*.

2. Зменшення діаметру колонки обумовлює зменшення її ємності, що призводить до звуження *динамічного діапазону системи*, тобто робить неможливим одночасний аналіз речовин, концентраційне співвідношення яких в розчині різне.

3. Колонки з великим діаметром маючи велику ємність, поступаються в роздільній здатності.

4. Зменшення товщини покриття призводить до:

добре	погано
· збільшення ефективності колонки; · можливого аналізу за нижчих температур; · зменшення часу аналізу; · зменшення виносу фази – менший дрейф за підвищених температур;	· збільшення активності поверхні колонки – викривлення піків активних сполук; · зниження ємності скорочення динамічного діапазону хроматографічної системи.

Пошук компромісу між діаметром, довжиною і товщиною нерухомої фази колонки і оптимальних фізичних параметрів хроматографічного розділення – завдання хроматографіста!

2.5. ОБСЛУГОВУВАННЯ КОЛОНКИ

При інсталяції (установленні) кварцової колонки її необхідно трохи надрізати, при цьому слід захищати хімічними окулярами очі від скла!

Зберігати колонку слід заглушивши обидва її кінці. Необхідно уникати пошкодження захисного покриття.

Колонки, які довго не використовувалися, або були забруднені в процесі довгої експлуатації необхідно кондиціювати. *Кондиціонують* колонку шляхом нагрівання до температури: на 20-25°C нижчої граничної ізотермічної температури колонки, на 20-25°C більшої граничної

температури методики, але при цьому вона не вище за першу. Капілярні колонки віджигают ь 1-3 години, набивні – 8 годин або ніч до зникнення відчутних шумів базової лінії.

Недостатня чистота газу-носія та аналіз проб, несумісних з даною колонкою, можуть суттєво знизити термін її служби.

На якість колонки негативно впливають окислення і перегрів фази. Силіконові фази стійкі до дії води, але нестійкі до кислих проб. Зшита і незшита фази карбовакс 20М легко окиснюються киснем. Шкідлива також вода.

Деякі фази руйнуються під дією сірковуглецю та діетилового ефіру.

Шкідливий вплив позначений у специфікації (описі) колонки. Нерухома фаза може руйнуватися на перших 1-2 м колонки при введенні проби без дільника потоку або безпосередньому введенні в колонку.

2.6. БУДОВА ТА ПАРАМЕТРИ ТЕРМОСТАТУ КОЛОНОК

Термостат газового хроматографа призначений для підтримання температури або програмованого нагрівання розміщених в ньому колонок.

Всередині корпусу термостату розташовані нагрівальна спіраль і вентилятор, який рівномірно розповсюджує повітря, нагріте біля спіралі, по всій внутрішній частині.

Залежно від фірми-виробника робочі характеристики термостатів дещо відрізняються. У табл. 1.2 наведені характеристики термостату хроматографа Agilent 6890.

Табл. 1.2

Характеристики термостата Agilent 6890

Характеристика	Діапазон величин
Діапазон температур	Від -80 °С (при охолодженні рідким N ₂) або від -60 °С (при охолодженні CO ₂)
Максимальна температура	450 °С
Програмування температури	До 6 етапів лінійних змін
Максимальна тривалість хроматографічної розгонки	999,99 хв
Швидкість лінійної зміни	Від 0 до 120 °С/хв (залежно від

температури

: конфігурації приладу

Флуктуації температури під час хроматографування призводять до поганої відтворюваності часів утримування t_R . Тому, для усунення впливу зовнішніх факторів (температури, тиску) на відтворюваність якісних та кількісних характеристик аналізу в сучасних хроматографах пристрій *електронне керування потоками газів* (ЕКПГ) використовує датчики атмосферного тиску і температури

Оскільки колонка має певний діаметр і товщину нерухомої фази, вона не може миттєво набувати сталої температури при нагріванні в термостаті. Тому потрібно *урівноважувати* колонку певний час.

Час урівноважування для набивних колонок складає 3 хв, для капілярних – 0,5 хв.

Контрольні запитання та задачі

1. На які типи поділяють хроматографічні колонки?
2. Наведіть класифікацію сучасних капілярних колонок.
3. Дайте визначення навантаження або ємності хроматографічної колонки.
4. Яким чином виготовляють капілярні кварцові колонки?
5. Чому і яким чином треба стандартизувати нову колонку?
6. Які фази є більш термічно стійкими: з полярною чи неполярною нерухомою фазою?
7. Чи впливає полярність нерухомої фази на час утримування?
8. Для яких кварцових колонок якість покриття краще: з полярною чи неполярною нерухомою фазою, і чому?
9. Що таке поперекова зшивка і прищеплення нерухомої фази і для чого їх проводять?
10. Які параметри хроматографічного аналізу є важливими?
11. Поясніть вплив діаметру колонки на ємність капілярної колонки та ефективність розділення.
12. Які дії можна виконати, якщо на хроматограмі, отриманій на капілярній колонці діаметром 0,25 мм піки мають розмитий фронт і фактор асиметрії 0,30?

13. Поясніть вплив довжини колонки на ефективність розділення та час аналізу.

14. В чому полягає проблема динамічного діапазону при зменшенні діаметру колонки?

3. ВВЕДЕННЯ ПРОБ У ХРОМАТОГРАФІЧНУ СИСТЕМУ

Електронне керування потоками газів (ЕКПГ). Сучасні хроматографи оснащені електронним пристроєм керування швидкостями потоків і тиском всіх газів у приладі.

Для усунення впливу зовнішніх факторів (температури, тиску) на відтворюваність якісних та кількісних характеристик аналізу плата керування ЕКПГ використовує датчики атмосферного тиску і температури, які розташовані на модулях пневматичного регулювання швидкостей потоків. Результати вимірювань ЕКПГ швидкості потоку і тиску приводить до нормальних умов: 25°C, 1 атм.

Система введення проби включає дозуючі пристрої (випарники, крани) і допоміжні частини (лайнери, мікрошприци, септи, пастки).

Гази в систему подаються з балонів. Звичайно використовуються очищені гази, але й вони потребують додаткового очищення від кисню та парів води перед потраплянням в інжектор.

3.1. ДОЗУЮЧІ ПРИСТРОЇ (ІНЖЕКТОРИ)

Дозуючі пристрої (дозатори) призначені для введення у хроматографічну колонку певної кількості проби.

Конструкція дозаторів визначається агрегатним станом проб та типом і ємністю колонки. Для введення *газоподібних* проб використовують *крани, рідких – інжектори-випарники*.

В аналітичній практиці мають справу з різноманітними за величиною та агрегатним станом пробами, тому універсального дозуючого пристрою немає. Використовують декілька типів *дозаторів* і багато *способів введення проби*.

3.2. СПОСОБИ ВВЕДЕННЯ ПРОБ

Спосіб введення проби в колонку залежить від агрегатного стану і кількісного складу проби.

Використовують такі способи і пристрої введення проб:

- *Випарник для набивних колонок. У набивні колонки введення рідких сумішей об'ємом 0,1 - 10 мкл.*
- *Випарник для капілярних колонок. У капілярні колонки з діленням потоку введення рідких сумішей об'ємом 0,1 - 10 мкл.*
- *Випарник для капілярних колонок. У капілярні колонки без ділення потоку введення рідких сумішей об'ємом 0,1 – 10 мкл.*
- *З програмуванням температури (PTV) багатократне введення рідких сумішей об'ємом 0,1 - 1000 мкл через випарник з віддувкою розчинника.*
- *Холодне введення рідкої проби безпосередньо в колонку.*
- *Введення рідин або газів через кран-дозатор.*
- *Інтерфейс для введення газових проб.*
- *Динамічний парофазний пробовідбірник.*
- *Статичний парофазний пробовідбірник.*
- *Піролізер.*
- *Термодесорбція.*

3.3. ВИМОГИ ДО ВВЕДЕННЯ ПРОБИ

Навіть при сучасному рівні розвитку капілярної газової хроматографії, введення проби в капілярну колонку залишається одним з самих головних джерел помилок в подальшому аналізі.

Правильне введення проби в колонку має задовольняти нижче наведені вимоги.

1. Склад проби, що вводиться в колонку, має бути ідентичним складу досліджуваної суміші. Порушення ідентичності може бути викликано такими причинами:

- наявність у випарнику “мертвого” об’єму, що не продувається;
- дискримінація компонентів проби при її випаровуванні;
- втрата частини проби до її потрапляння в колонку;
- хімічні реакції між компонентами проби, термодеструкція компонентів у випарнику;
- каталітична дія матеріалу випарника (вставки).

2. При багаторазовому введенні однакової проби за сталих умов її величина (об’єм або маса) не повинна змінюватись (в межах допустимої похибки 1-3%), тобто має відтворюватись. Зміна величини проби може відбуватися через:

- непостійність умов дозування;
- недосконалість системи дозування;
- особливостями конструкції голки;
- помилку оператора.

3. Розмивання проби при її введенні в колонку з випарника і розведення газом-носієм повинно бути мінімальним (чим вужче початкова зона проби, тим вища ефективність розділення). Для класичної капілярної колонки допустима ширина вихідної з випарника зони у часі має бути не більше 1 с. Ступінь розмивання залежить від:

- конструкції інжектора;
- об’єму лайнера в інжекторі;
- температурного режиму випарника;
- ступеня ділення потоку;
- швидкості введення проби в колонку (розмивання зворотно пропорційне швидкості потоку).

4. Величина проби вибирається з урахуванням ємності колонки, чутливості детектора. Вона повинна бути не більша за ємність колонки і не менша за чутливість детектора.

3.4. ВИПАРНИКИ-ИНЖЕКТОРИ

Мікрошприци. У капілярний випарник рідку пробу вводять мікрошприцями ємністю від 1 до 10 мкл. У таких шприцах як поршень використовується калібрована проволочка з вольфраму або неіржавіючої сталі. Поршень і циліндр шприца взаємно притерті. Герметичність шприца досягається за рахунок набраної у шприц рідини, яка змочує супряжені поверхні поршня і циліндра.

Недоліком таких шприців є порожниста голка з великим об'ємом (2 мкл). Частина рідини з голки не витискається при повному введенні поршня в циліндр, і тому частково випаровується при введенні голки у гарячий випарник. Кількість рідини, що втрачається з голки, залежить від глибини введення і тривалості перебування голки у випарнику і є не контрольованою величиною, що є суттєвим джерелом невідтворюваності величини проби при ручному введенні.

Цей недолік відсутній у шприцах, в яких дозований об'єм знаходиться в голці. Циліндр мікрошприців зроблений зі скла, тому їхній другий недолік – низька механічна стійкість.

Оператор з певним досвідом може вводити пробу з відтворюваністю 1,5-3%.

Шприци після введення чергової проби треба ретельно промивати розчинником.

3.4.1. Випарники для введення рідких проб у капілярну колонку

Випарник складається з металевого корпусу, всередину якого вставлено скляну трубку - *лайн*ер, в якому безпосередньо випаровується проба. Лайнер діаметром 4÷6 мм, довжиною зазвичай 7÷10 см. Вгорі лайнера розташована притиснута до нього *мембрана* з силіконової гуми. Вона відокремлює внутрішню частину хроматографа від довкілля. Внизу лайнера кріпиться капілярна колонка, яка свої початком заходить в його отвір.

Корпус випарника має власну систему нагріву. Корпус нагрівається до попередньо встановленої високої температури, яка відрізняється від температури термостата. На рис.3.1. наведено випарник у розрізі.

Проба вводиться в інжектор за допомогою шприца вручну або механічного пробовідбірника - автосамплера, шляхом проколювання мембрани голкою (синоніми мембрани - септа, прокладка).

Як зазначалося в розділі 2.3, для коректного газохроматографічного визначення важливо, щоб у лайнері не було об'єму, що не продувається газом-носієм. Наявність такого об'єму призводить до тривалого дифузійного вимивання з неї аналіту, що викликає розмивання зони аналіту в колонці і значну асиметрію хроматографічного піку.

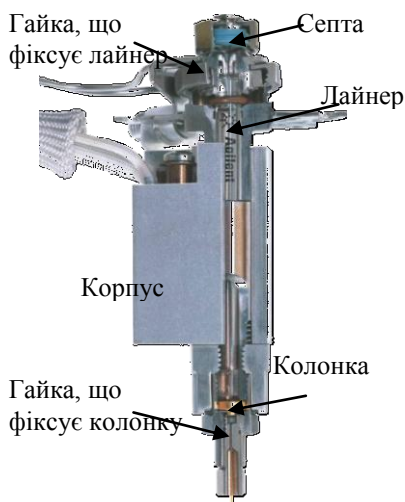


Рис.3.1. Інжектор-випарник у розрізі, фірма Agilent (фото надано компанією Alsi.chrom)

У випарнику усі компоненти проби повинні миттєво випаруватись. Для досягнення його температуру випарника по-можливості виставляють на 30-50°C вище за температуру кипіння самого висококиплячого компоненту суміші. Але можливим є й варіант, коли температура інжектора-випарника дещо нижче температури кипіння декількох високиплячих компонентів суміші.

Оптимальну температуру випарника встановлюють експериментально. Починають з меншої температури і слідкують, як змінюються характеристики піків. Якщо збільшення температури

випарника призводить до збільшення числа тарілок, то початково обрана температура є малою. Але надмірне підвищення температури є небажаним, тому що може викликати термодеструкцію компонентів або перегрів початкової ділянки колонки. Також при надмірному нагріванні мембрана поступово втрачає еластичність, через що порушується герметичність системи.

Септа. Тривалість безпечного застосування мембрани, окрім температури випарника, залежить від кількості інжекцій проби та якості голки. Задирки, нерівні поверхні, що виникають внаслідок пошкодження голкою, скорочують термін її придатності. Крихти мембрани можуть потрапляти в лайнер, це призводить до появи «хвостів» піків, зниження ефективності. При появі таких ефектів лайнер треба помити, продути газом-носієм. Заміну мембрани проводять в міру необхідності. Коли на хроматограмі відсутні піки компонентів, однією з причин може бути старіння мембрани, яка вже не герметизує систему.

Лайнер - камера випаровування. Лайнер виготовляють зі скла (переважніше) або з неіржавіючої сталі.

Лайнер виготовлений зі скла має свої переваги:

- рівномірний прогрів всієї зони випаровування;
- мінімальна сорбційна і каталітична активність;
- прозорість скла дає можливість візуального контролю його забруднення вуглецем, що дозволяє вчасно замінювати лайнер.

Об'єм лайнера повинен бути таким, щоб аліквота проби при випаровуванні займала весь об'єм лайнера. Наприклад, в лайнер об'ємом 1 см³ не слід вводити рідку аліквоту більшу 1 мкл.

При застосуванні прийому ділення потоку важливо, щоб пари проби у лайнері ефективно *перемішувались* і гомогенізувались з газом-носієм для їх рівномірного (лінійного) ділення. Інколи для підвищення ефективності перемішування вставку заповнюють скловатою, скляними кульками.

Режими роботи випарника

Капілярний випарник може функціонувати у 2-х режимах: з діленням потоку і без ділення потоку, які мають два підтипи: введення проби при нормальному тискові і введення проби з імпульсом тиску. У режимі з

діленням/без ділення потоку випарник витримує вхідний тиск джерела газу 120 psi. Це відповідає вимогам використання більшості типів колонок.

Імпульс тиску використовують при введенні великої кількості проби.

Введення з діленням потоку як правило використовується для аналізу основних, макроконцентрованих компонентів, без ділення потоку – для аналізу домішок.

Потік газу-носія, що подається з балону, ділиться на два нерівні потоки. Невеликий потік (2,3 мл/хв) обдуває септу знизу і викидається в атмосферу. Друга частина потоку проходить крізь лайнер (рис.3.2).

Навіщо треба обдувати септу? Коли голка шприца витягується з лайнера, малесенька частина проби залишається на нижній частині септи. Щоб залишки проби не заважали наступному аналізу, мембрану обдувають потоком газу.

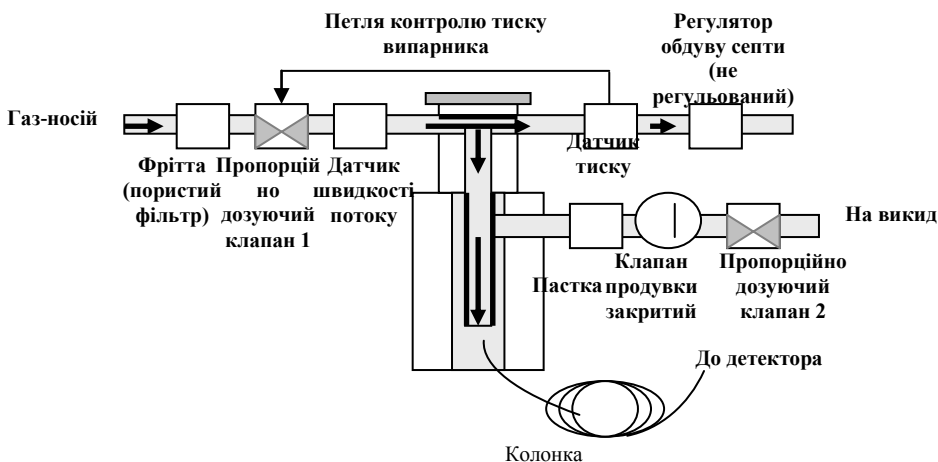


Рис. 3.2. Схема роботи випарника для капілярних колонок в режимі без ділення потоку

Режим введення проби з діленням потоку

Коли вміст визначуваних речовин значно більший за межу їхнього визначення потрібно зменшити об'єм проби, що вводиться саме в колонку. Це призведе до зменшення навантаження на колонку, звуження зони проби на вході в колонку, внаслідок чого покращиться розділення і якість аналізу.

Проте об'єм рідкої проби, що вводиться мікрошприцом, фізично не можна зменшити нижче 0,1 мкл. Тоді застосовують інший підхід - зменшення об'єму газової проби, що утворюється у випарнику з рідкої проби. Для цього застосовують режим ділення потоку – ділення газової проби у випарнику перед входом в колонку на дві нерівні частини.

В недорогих хроматографах газова система стабільно працює при потоках газу не менше 2-3 мл/хв, тому за швидкостей газу через колонку < 3 мл/хв для колонок з діаметром < 0,32 мм необхідно застосовувати ділення потоку.

Невелика частина проби з випарника потрапляє в колонку, а більша частина виходить через канал викиду, що регулюється клапаном 2 (рис. 3.3.). Відношення величини потоку через колонку до величини потоку на викид (коефіцієнт ділення) задається заздалегідь. Коефіцієнт ділення може бути в межах 5...200.

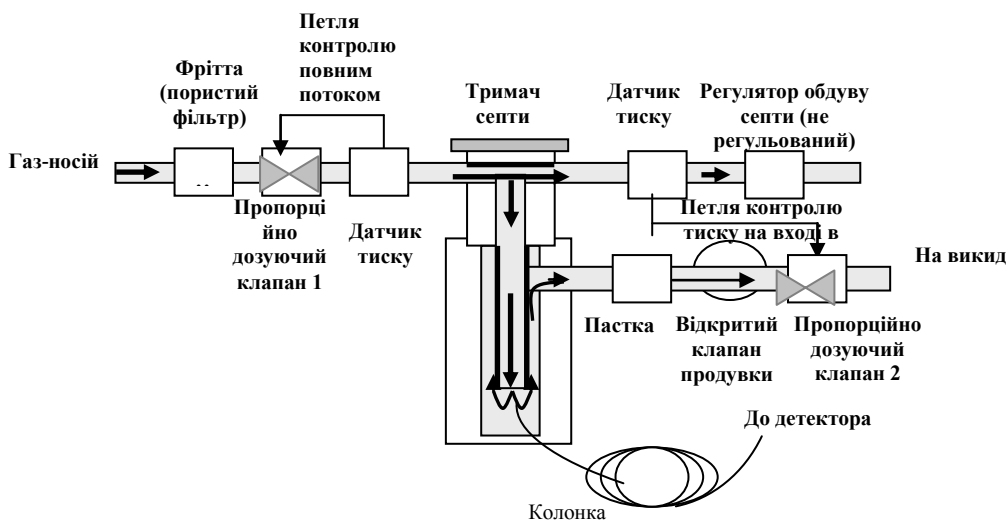


Рис. 3.3. Схема роботи випарника для капілярних колонок в режимі з діленням потоку

Наприклад, при заданій сталій швидкості потоку через колонку 2 мл/хв і діленні потоку 1:50, потік на викид має бути 100 мл/хв. Тоді: потік на вході у випарник = потік на обдув септи (3 мл/хв) + потік

через колонку (2 мл/хв) + (100 мл/хв) потік через дозуючий клапан 2 = 105 мл/хв.

Всі потоки організовані за допомогою трьох клапанів тонкого регулювання.

Клапан 2 повертається, створюючи переріз певного діаметру, що і створює швидкість потоку на викид.

Вибір коефіцієнта ділення потоку. При необхідній ширині вихідної зони проби з випарника 1 с (див. «вимоги до введення проб») і об'ємі лайнера 1 мл, об'ємна швидкість потоку з випарника, складає 1,0 мл/с або 60 мл/хв. Щоб у колонку потрапляв потік з заданою швидкістю 2 мл/хв треба відкинути 30 частин потоку з випарника, тобто співвідношення потоків 1:30.

Система економії газу. Щоб зменшити витрати газу-носія у режимі ділення потоку, розроблена схема економії газу, що йде на викид.

Тиск газу на вході в колонку і швидкість потоку через колонку підтримуються на заданому рівні, в той час як тиск потоку на викид зменшується через певний час до заданої величини. Не рекомендується зменшувати потік через клапан 2 менше ніж 20 мл/хв.

Технічно, зменшення потоку на викид відбувається таким чином:

після введення проби у випарник і промивання лайнера трьома об'ємами газу-носія (час продувки задається) клапан потоку на викид повертається, що звужує прохід, і загальний потік зменшується до заданого мінімуму.

Якщо в керуючій програмі хроматографа вибрана система економії газу, потік на викид залишається на зменшеному рівні, поки не натиснута клавіша **Prep Run** (підготовка до разгонки). Як тільки натиснули клавішу **Prep Run**, клапан потоку на викид повертається в положення, яке дозволяє протікати необхідному великому потоку газу. Тому після натискання клавіші **Prep Run** треба швидко вводити пробу, щоб не витратити газ-носії.

Час продувки. Об'єм лайнера - 1 мл, потік через колонку - 2 мл/хв. За таких параметрів проба об'ємом 1 мкл буде знаходитись у вставці 30 с. Кількісне перенесення проби в колонку відбувається при троекратному промиванні лайнера. $0,5 \text{ хв} \times 3 = 1,5 \text{ хв}$. Час продувки має бути 1,5 хв.

При потоці 5 мл/хв, проба буде знаходитися у вставці 0,2 хв. Час продувки $= 0,2 \text{ хв} \times 3 = 0,6 \text{ хв}$.

Режим введення проби без ділення потоку

У режимі введення проби без ділення потоку при натисканні клавіші **Prep Run** клапан на викид (рис.3.3) закривається і вся проба з випарника потрапляє в колонку. Після переходу проби в колонку і промивання лайнера газом-носієм клапан 2 відкривається таким чином, щоб через нього протікав потік 20 мл/хв. Це дає можливість вимивати з лайнера важколеткі компоненти.

Наприкл., при сталій швидкості газу через колонку - 2 мл/хв, сталому потоці обдува мембрани - 3 мл/хв, потоці на викид - 20 мл/хв, швидкість загального потоку у випарник дорівнює 25 мл/хв.

У режимі без ділення потоку аналіз є більш чутливим, порівняно з режимом з діленням потоку.

В табл.3.1 наведено діапазон параметрів випарника.

Режим введення імпульсом тиску

У режимі введення проби без ділення потоку може виникати проблема невідповідності об'єму газової суміші, що утворюється з рідкої проби, об'єму лайнера. Це призводить до втрати частини проби. Останнє викликає дрейф базової лінії, появу «гостьових» піків на хроматограмах, розмивання тилу піку. Для мінімізації цього ефекту можна збільшувати об'єм лайнера або зменшувати об'єм рідкої проби, зменшувати температуру випарника або збільшувати (імпульс) тиск газу-носія.

Використання збільшення тиску газу-носія технічно виконується таким чином: при введенні зразка у випарнику швидко підвищують тиск (рис.3.4), а одразу після потрапляння проби в колонку тиск зменшують до звичайного. Імпульс тиску виносить пробу з випарника в колонку швидше, ніж при звичайному введенні, і проба має менший об'єм. В результаті покращується розділення. Крім того менший час перебування проби у випарнику, зменшує імовірність її можливого термічного руйнування.

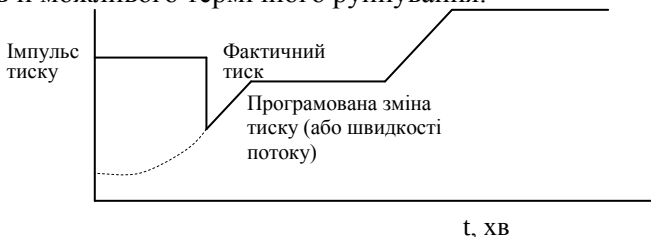


Рис.3.4. Програмування тиску при введенні проби імпульсом тиску

3.4.2. Випарники для введення проби у набивні колонки

Ці випарники можуть застосовуватись для введення проб у набивні колонки, а також капілярні колонки з великим діаметром при потоках, що перевищують 10 мл/хв.

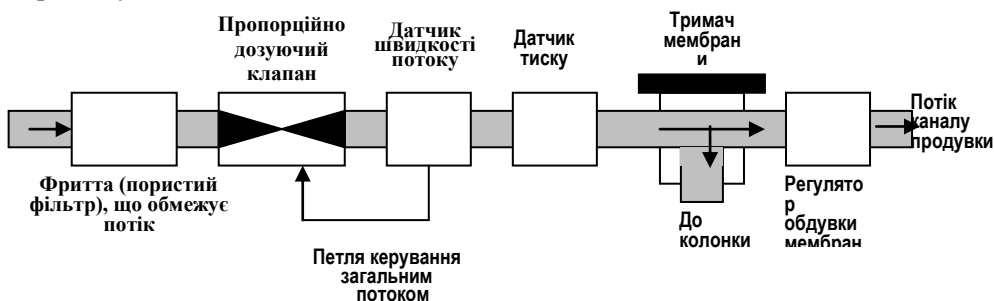


Рис.3.5. Схема роботи випарника для набивних колонок в режимі сталого потоку

Для капілярних колонок керування газовими потоками здійснюється шляхом регулювання тиску в системі (рис.3.5). У випадку товстих набивних колонок регулюють величину газового потоку. Відповідно газовий хроматограф має містити як датчики тиску так і датчики вимірювання потоків газів.

3.5. БЛОК ГАЗОПОСТАЧАННЯ

3.5.1. Плівковий вимірювач швидкості потоків газів

Для вимірювання швидкості потоку газів використовується *плівковий вимірювач потоків газів*. Він являє собою скляну трубку з поділками (рис.3.6) і тонким скляним відростком, в нижній частині трубки розміщується ємність з мильним розчином. З ємності протягом декількох секунд вичавлюється мильний розчин таким чином, щоб меніск розчину був вище отвору входу газу. Потік газу створює мильну плівку, яка виноситься з

поток газу. Відстань між двома поділками у мл, яку подолає плівка, приведена до одиниці часу, і є об'ємною швидкістю газу.

Такий рахівник не вмонтований в хроматограф, а використовується для періодичних перевірок - вимірювань швидкості потоку газу на виході з колонки або детектора.

Плівковий рахівник з каліброваними циліндрами 1, 10 і 100 мл/хв, придатний як для вимірювання малих швидкостей потоку (газ через капілярні колонки), так і для великих (потік повітря через ДТП) зображений на рис.3.6. З метою автоматизації та спрощення реєстрації моменту перетину плівкою поділок, він оснащений лазерним датчиком вимірювання часу подолання відстані між двома поділками.

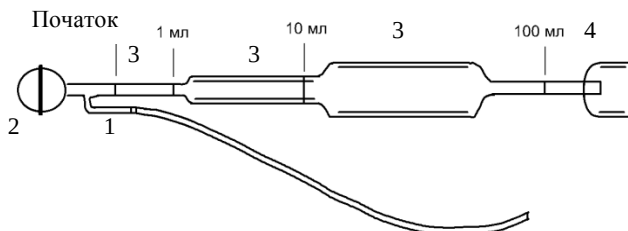


Рис.3.6. Пінний вимірювач швидкості потоків для трьох діапазонів:

1 – отвір входу газу, 2 – об'єм з мильним розчином,
3 – калібровані циліндри, 4 – зона виходу газу

3.5.2. Хімічні пастки

Чистота газів є важливою вимогою при роботі з високочутливими детекторами, в яких домішки можуть викликати збільшення шуму базової лінії. Для додаткового очищення газів-носіїв застосовують хімічні пастки.

Пастку заповнюють сорбентом, склад якого залежить від призначення пастки. Основні домішки – це пари води і кисень. Наприклад, молекулярні сита - для уловлювання вологи, активоване вугілля - для кисню. Періодично пастки треба очищати від забруднень.

Всі пастки потребують періодичної регенерації чи заміни при пропусканні від одного до чотирьох балонів газів-носіїв. Пастки для кисню замінюються на нові, а пастки для кисню регенеруються прожарюванням.

3.6. ДИСКРИМІНАЦІЯ КОМПОНЕНТІВ ПРОБИ ПРИ ВВЕДЕННІ ПРОБИ

При роботі з випарником (інжектором) для капілярних колонок в режимі ділення потоку важко уникнути **дискримінації** компонентів проби, яка проявляється у невідповідності *складу проби на виході з колонки складу проби, що вводили у випарник*.

Дискримінація компонентів проби найбільше виражена, коли компоненти проби присутні в різних концентраціях і мають різну леткість і полярність.

Дискримінація компонентів проби може відбуватися в інжекторі-випарнику і в голці шприца.

Дискримінація компонентів проби у випарнику

У лайнері інжектора проба має випаруватись і однорідно перемішатися з газом-носієм, і далі ділитися. За заданим коефіцієнтом. Причому все це має відбуватися швидко, оскільки потік газу-носія швидко переносить частину проби в колонку. Але через значну різницю у леткості та концентрації речовин цей процес для висококиплячих речовин не встигає відбуватися.

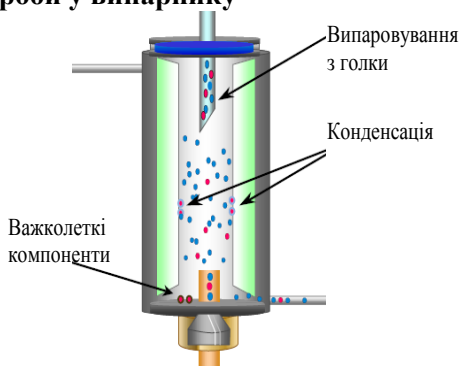


Рис. 3.7. Дискримінація у випарнику та у голці

Часто в місті ділення потоку проба являє собою суміш парів летких речовин і неоднорідних крапель висококиплячих речовин.

Тому у випарнику може відбуватися нелінійне ділення проби для висококиплячих речовин. Вони ще не випарувались і потрапляють з потоком на викид. Вони дискримінуються по леткості.

Схематично випарник і процеси, що у ньому відбуваються, зображено на рис. 3.7.

Лінійність ділення проби означає, що співвідношення ділення компонентів у точці ділення дорівнює попередньо встановленому і однакове для всіх компонентів проби.

Якщо суміш містить компоненти з різною леткістю і концентрацією, то лінійне ділення потоку неможливе.

Нелінійність ділення потоку обумовлена низкою причин:

- 1) різною швидкістю дифузії компонентів проби;
- 2) неповним випаровуванням;
- 3) нестабільністю співвідношення ділення потоку.

Ці причини призводять до неможливості швидкого і рівномірного випаровування і перемішування всіх компонентів.

Усунення дискримінації в інжекторі-випарнику

Нелінійність ділення потоку зводять до мінімуму шляхом повного випаровування проби і перемішування її з газом-носієм в інжекторі перед тим, як проба потрапить у колонку. В місці ділення через різницю у леткості речовин проба недостатньо однорідна. Щоб уникнути неоднорідності цієї суміші:

- підвищують температуру введення проби;
- використовують лайнери спеціальної форми: перекинутий кухоль, спіральний тощо.

Для досягнення ефективного теплопереносу і ретельного перемішування газу-носія з пробой лайнери заповнюють насадками: скловатою, носіями або скляними кульками. Використовують лайнери різної довжини, діаметру, зі змінним діаметром.

Використання таких лайнерів дозволяє усунути дискримінацію одних компонентів проби, але може викликати дискримінацію інших. Тому підбір оптимальних умов введення – індивідуальне питання для кожної конкретної суміші.

Через насадку у лайнері може відбуватися дифузійне розмивання зон. Компонент буде витікати з випарника широкою смугою, що формує широку зону на початку колонки, яка залишається такою і при детектуванні. Щоб уникнути розмивання зони, застосовують ефекти фокусування проби (п.3.7).

Дискримінація компонентів проби у голці шприца

Більшість проблем, пов'язаних з дискримінацією, обумовлено недоліками голки шприца. Випаровування проби починається в самій голці, яка

нагрівається у випарнику ще до натискання поршня. А під час того, як поршень натискають і проба виштовхується у лайнер, розчинник і легколеткі компоненти випаровуються швидше за висококиплячі. Останні частково залишаються на стінках голки і виводяться при витягуванні голки з випарника. Це призводить до дискримінації високо киплячих компонентів проби.

Швидке введення проби гарячою голкою забезпечує мінімальну дискримінацію компонентів проби, обумовлену шприцом.

При введенні проби гарячою голкою набирають пробу в шприц таким чином, щоб між нею і поршнем не було повітряної пробки. Наприклад, у шприц ємністю 10 мкл набирають 2 мкл проби і піднімають поршень до 5 мкл. Таким чином в голці буде повітря. Після введення голки у випарник її витримують там 3-5 с, голка нагрівається до температури випарника. Після цього швидко опускають поршень.

В такому випадку у всіх компонентах суміші буде достатній час для випаровування.

Рекомендації до введення проби з діленням потоку:

- перевага надається вимірюванням методом внутрішнього стандарту, коли вимірюють відносні площі піків; метод зовнішнього стандарту рекомендують у поєднанні з введенням холодною голкою, програмуванням температури випарника або автоматичним введенням проби;
- при ручному введенні перевагу надають швидкому введенню проби гарячою голкою;
- уникати аналізу легколетких компонентів;
- можна наповнити вставку скловатою або скляними кульками.

В деяких випадках неможливо провести аналіз з діленням потоку з високою точністю. Але деякі проби не можна аналізувати без ділення потоку, оскільки їх неможливо розбавляти, такі як розріджувачі, розчинники, газоподібні проби.

Дискримінація компонентів проби відсутня при введенні без ділення потоку, при безпосередньому введенні в колонку.

Рекомендації до введення проби без ділення потоку:

- застосовувати метод внутрішнього стандарту;
- використовувати автосамплер;

- при визначенні речовин з температурами кипіння нижче 150°C застосовувати ефект розчинника, висококиплячих – «холодне уловлювання»;

- для реалізації ефекту розчинника температура термостата має бути на 20-30°C нижче за ткип розчинника;

- при ручному введенні проводити введення проби «гарячою голкою»;
- об'ємна швидкість газів-носіїв – гелію або водню - понад 2 мл/хв;
- довше продувати лайнер (50-80 с);
- без ділення потоку не можна визначати компоненти, які елюються раніше за розчинник;

- у випадку полярних розчинників форма піків суттєво покращується при застосуванні ефекту розчинника в пустому капілярі.

Щоб уникнути розмивання проби при введенні без ділення потоку застосовують *ефекти фокусування*.

3.7. ПРОБЛЕМА РОЗМИВАННЯ ВХІДНОЇ ЗОНИ

 Розмивання хроматографічної зони проби відбувається в часі і просторі. Розмивання зони в часі обумовлено малою швидкістю переносу проби з випарника в колонку. Потрапляючи в колонку, проба розподіляється по деякій частині довжини колонки. Це є розмивання проби в просторі.

Розмивання вхідної зони призводить до утворення широких зон компонентів і, як наслідок, широких піків, що сильно погіршує роздільну здатність. Занадто широка вхідна зона взагалі робить аналіз неможливим. Вузькі вхідні зони утворюються, якщо швидкість переносу проби з випарника у колонку достатньо велика (згідно вимог, ширина зони має бути не більше 1 с) або/і використовується режим ділення потоку. Також для звуження вхідних зон застосовують явища фокусування компонентів.

У процес фокусування-звуження зони, яка розмилася у випарнику, роблять внесок механізми: ефект розчинника і термічне фокусування. Звуження зони, розмитої в просторі, відбувається за рахунок фокусування на нерухомій фазі з використанням порожнього капіляру.

Ефект розчинника. Цей ефект застосовують для низькокиплячих речовин. Температура колонки під час введення проби має бути на



20-30°C нижчою температури кипіння розчинника. Тоді розчинник конденсується на початку колонки, утворюючи рідку краплю. Компоненти проби концентруються в цій краплі. Після введення всієї проби підвищують температуру колонки, розчинник випаровується і починається розділення проби.

Наприклад, при розділенні суміші C_7 - C_{10} , розчинник - гексан, температурний режим можна обрати такий: 40-120 °C, 20 °C/хв.

Для C_6 , C_7 , C_8 , C_9 і C_{10} температура кипіння складає, відповідно, 68,7 °C, 98,4 °C, 125,7 °C, 150,7 °C, 174 °C [wikipedia.org].

Початкова температура (40 °C) на 28 °C менше температури кипіння гексану (68,7 °C), далі температура піднімається (без витримування) з швидкістю 20 °C/хв, достатньо великою для прискорення розділення, але не занадто великою, щоб не піддавати тонку нерухому фазу різкому перепаду температур.

 **Термічне фокусування.** Цей механізм ще називають «холодне уловлювання». Цей ефект застосовують для висококиплячих речовин. «Холодне уловлювання» проводять при температурі колонки, достатній для конденсації речовин, і при якій можливе випаровування розчинника. У такому випадку ефект розчинника не досягається. Можна звужувати зону в колонці, застосовуючи і ефект розчинника, і термічне фокусування. При термічному фокусуванні ефективне звуження зон компонентів відбувається, якщо різниця температури колонки і температура кипіння речовини достатньо велика - більше 100-150°C.

Наприклад, при розділенні суміші C_{13} - C_{15} , розчинник - гексан, температурний режим можна обрати такий: 90-180 °C, 20 °C/хв, 180 °C (1 хв).

Для C_6 , C_{13} , C_{14} і C_{15} температура кипіння складає, відповідно, 68,7 °C, 234 °C, 252 °C, 270 °C [wikipedia.org].

Початкова температура (90 °C) на 144 °C менше за температуру кипіння тридекану (234 °C), далі температура піднімається (без витримування) з швидкістю 20 °C/хв, достатньо великою для прискорення розділення, але не занадто великою, щоб не піддавати тонку нерухому фазу різкому температурному перепаду. При кінцевій температурі витримують колонку 1 хв, щоб всі компоненти встигли розділитися.

Концентрування компоненту при холодному уловлюванні, а значить звуження його зони, збільшується в міру збільшення числа атомів вуглецю в молекулі (більш висококипляча речовина).

Якщо проба містить компоненти з великим діапазоном температур кипіння, то треба застосовувати ефект розчинника, при цьому для висококиплячих компонентів буде відбуватися звуження зони завдяки термічному фокусуванню.

Розмивання зон в просторі є наслідком ефекту розчинника.

3.7.1. Безпосереднє введення проби в колонку

***Безпосереднє введення проби** – це метод “холодного” введення, що ґрунтується на введенні рідкої проби в колонку.*

Перевагою такого способу є усунення дискримінації в лайнері, відсутність мембран, які можуть бути джерелом додаткових помилок.

На рис.3.8 зображено пристрій з клапаном типу «качиний ніс» для холодного введення проби в колонку. Такий клапан на відміну від своїх попередників не має рухливих частин. Він являє собою дві стулені **гумові** пелюстки, розташовані перед входом у колонку. Щоб не зламати голку, використовують направляючу голку. Для введення проби натискають направляючу, яка проходить між пелюстками. Голку шприца промокають, щоб видалити з її зовнішньої поверхні пробу. Голку вводять у направляючу, кінець голки опиняється у колонці. В цей момент направляючу голку відпускають, вона виходить з поміж пелюсток, і вони тепер обжимають голку. Швидко натискають поршень шприца і виводять голку з колонки. Під клапаном розташований фільтр з пористого матеріалу, який слугує для обдуву клапана холодним повітрям. Клапан постійно продувається.

Проби об'ємом 0,5-2 мкл слід вводити швидко, одномоментним натисканням поршня, у холодну колонку. При повільному введенні проби частина проби може прилипати до зовнішньої поверхні голки. При швидкому введенні краплі потрапляють на внутрішню стінку колонки далеко від голки.

Недоліком методу безпосереднього введення проби в колонку є високі вимоги до чистоти проби. Пробу слід очищувати, або використовувати передколонку, роль якої може виконувати пустий капіляр в однойменному методі, або можна проводити холостий дослід і віднімати хроматограму

розчинника від хроматограми проби, таким чином позбавляючись піків забруднювачів.

Неможливо кількісно визначати мікрокомпоненти, які більш леткі, аніж макрокомпоненти та елюються до них: макрокомпонент поводить себе подібно до розчинника, тому піки мікрокомпонентів будуть розмитими.

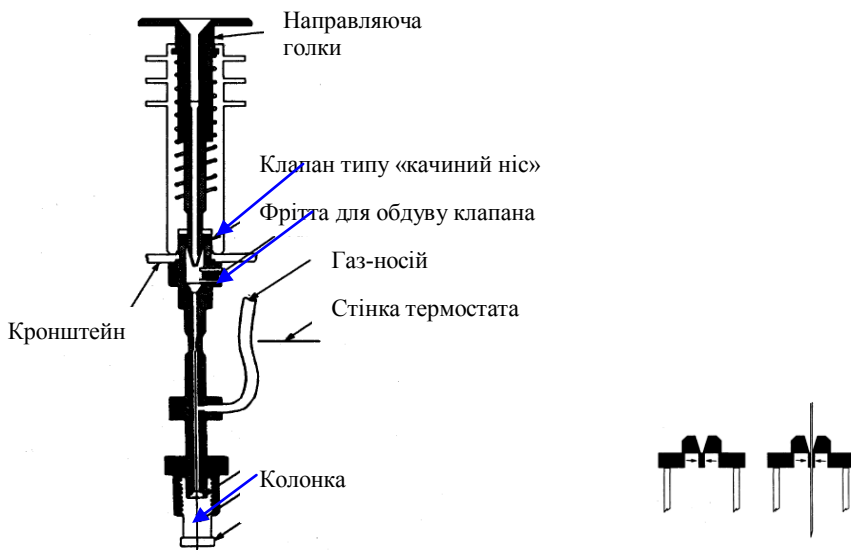


Рис.3.8. Пристрій для холодного введення проби в колонку. Клапан типу «качиний ніс»

Що відбувається в колонці при безпосередньому введенні проби? (рис.3.9). Проба потрапляє в колонку в рідкому стані як крапля. Далі відбувається теж саме, що і при ефекті розчинника (див. Механізми фокусування).

. Якщо на початковій ділянці колонки міститься нерухома фаза, то, як показали дослідження:

- 1) розмивання зони, а значить і хроматографічних піків, завжди більше при введенні проби в режимі без ділення потоку, ніж з діленням потоку;
- 2) розмивання більше, ніж при використанні порожнього капіляру.

Знов ж таки зауважимо, що при формуванні довгої зони затоплення надалі утворюються сильно розмиті піки. Це можна усунути при використанні *порожнього капіляра*.

3.7.2. Механізми фокусування. Застосування порожнього капіляру

В процес фокусування сполук у капілярній колонці перед початком хроматографічного розділення роблять внесок три механізми: ефект розчинника, термічне фокусування і фокусування на нерухомій фазі. Перші два механізми мають місце на початку колонки і мають значення при/без використанні пустого капіляру. Реалізація третього механізму відбувається тільки у пустому капілярі.

Розглянемо, що відбувається у колонці при застосуванні ефекту розчинника і термічного фокусування, а також при безпосередньому введенні проби в колонку.

Проба вводиться у колонку у вигляді рідкої краплі при безпосередньому введенні або перетворюється у рідку краплю (ефект розчинника). Температура термостата в цей момент менша температури кипіння розчинника. У колонці рідка проба рухається під дією газу-носія і розтікається по поверхні. Речовини і розчинник розподіляються по деякій частині внутрішньої поверхні колонки, доки не утвориться зона стійкої плівки розчинника. Довжина й однорідність цієї зони має велике значення для ефективності розділення.

Ділянку, що змочується розчинником, ще називають *зоною затоплення*. Її довжина має бути якомога меншою, оскільки речовини розподіляються по всій цій ділянці і ширина хроматографічної зони компоненту буде пропорційною довжині цієї ділянки.

Довжина зони затоплення залежить від діаметра колонки, об'єму проби, температури, товщини нерухомої фази, спорідненості розчинника до нерухомої фази.

У випадку високої спорідненості розчинника до нерухомої фази буде добре змочуватись її поверхня (малополярний розчинник і малополярна нерухома фаза), зона затоплення буде короткою й однорідною, її довжина може складати 20 см на мкл проби. У випадку полярного розчинника і малополярної нерухомої фази рідка крапля не розтікається по поверхні фази через погану змочуваність розчинником нерухомої фази. Це призводить до

утворення довгої неоднорідної у вигляді маленьких крапель зони, довжина якої може складати 2 – 4 м на мкл проби.

Якщо об'єм аликвоти проби >2 мкл, то змочуваність буде поганою при будь-якій полярності розчинника, і розмивання зони буде настільки великим, що зробить аналіз неможливим.

На рис.3.9, (а) показано ефект розчинника з утворенням коротких гомогенних зон затоплення. З підвищенням температури колонки розчинник в зоні затоплення починає випаровуватися з кінця, що ближчий до інжектора. В останній момент випаровування від розчинника залишається маленька крапля у тому кінці зони затоплення, що ближчий до детектора. Високолеткі сполуки, випаровуючись услід за розчинником з одного боку, і продовжуючи потрапляти з інжектора-випарника з іншого – захоплюються цією малою краплею. Фактично цей залишок розчинника проявляє себе як глибока плівка нерухомої фази і високолеткі сполуки концентруються і фокусуються в ній. Цим можна пояснити появу гострих піків на тильній гілці піка розчинника.

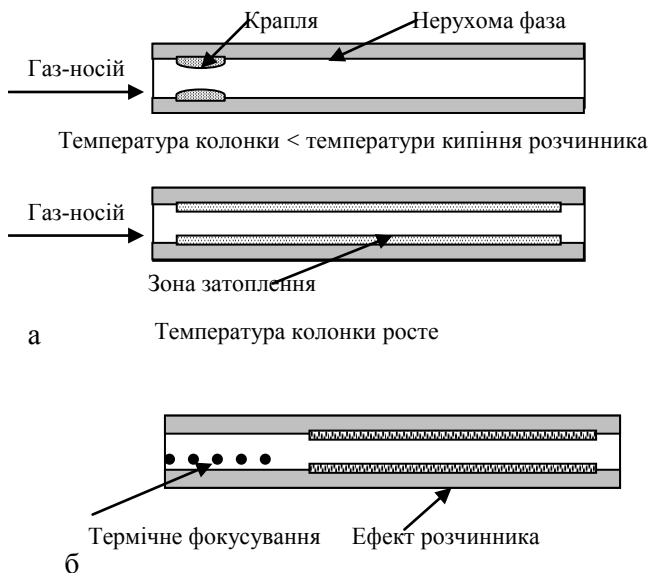


Рис. 3.9. Ефект розчинника і ефект термічного фокусування.

--- - леткі речовини фокусуються у краплі розчинника,

- висококиплячі речовини фокусуються за рахунок термічного фокусування і розподіляються по всій зоні затоплення

Зона затоплення буде короткою і гомогенною, якщо початкова температура колонки на 20-30°C нижча за температуру кипіння розчинника. При більш високих початкових температурах колонки, що наближаються до температури кипіння розчинника, зона затоплення довга і неоднорідна або взагалі не утворюється. У випадку неоднорідної зони затоплення форма хроматографічних піків погіршується. Часи утримування речовин стають не відтворювані від аналізу до аналізу. Якщо ж зона затоплення не утворюється, ефект розчинника не спрацьовує і звуження піків не відбувається.

Робимо висновок: треба правильно обирати температурний режим термостату, а саме в даному обговоренні, початкову температуру програмованого режиму термостату!

На рис.3.9, (б) показаний ефект термічного фокусування. В той час коли розчинник і високолеткі компоненти вже беруть участь у процесі хроматографування, сполуки з середньою і малою леткістю залишаються рівномірно розподіленими уздовж зони затоплення, що поступово зникає. Вони залишаються «розчиненими» у нерухомій фазі на місці, де була зона затоплення, доти, доки температура колонки не почне підвищуватися. З ростом температури молекули компонента починають випаровуватися одночасно, тобто хроматографічний процес починається одночасно у різних точках ділянки нерухомої фази, де була зона затоплення.

Довжина зони затоплення визначає початкову ширину хроматографічної зони компоненту. Короткі зони затоплення – причина формування вузьких зон компонентів, а значить - гострих хроматографічних піків. Довгі неоднорідні зони – причина формування широких зон компонентів, і далі - розмитих піків. Такий наслідок з'являється через те, що хроматографічний процес для даної сполуки (тобто його рух уздовж колонки) починається одночасно по всій ділянці нерухомої фази, де була зона затоплення, оскільки нерухома фаза однорідна в цій ділянці колонки. Цього можна уникнути, вилучивши нерухому фазу на початку колонки – створивши порожній капіляр.

Фокусування на нерухомій фазі з використанням порожнього капіляру.

Породжній капіляр – це деактивована всередині трубка, з'єднана з колонкою, або деактивована передня частина колонки. В англomовній літературі таку пусту частину колонки називають *retention gap*, що дослівно перекладається як уловлююча пастка.

Порожній капіляр використовують при застосуванні ефектів фокусування та при безпосередньому введенні проби в колонку. Умови використання - температура колонки не перевищує температуру кипіння розчинника.

Що відбувається в порожньому капілярі? Механізм фокусування на нерухомій фазі подібний до механізму ефекту розчинника.

Проба потрапляє в колонку в рідкому стані при безпосередньому введенні або конденсується в «холодному капілярі» і перетворюється у рідку краплю. Формується зона затоплення (рис.3.10) на ділянці колонки, де відсутня нерухома фаза. На відміну від ефекту розчинника (рис.3.9, а), де з ростом температури всі молекули однієї сполуки одночасно беруть участь в хроматографічному процесі, у порожньому капілярі з ростом температури розділення не починається.

Леткі компоненти концентруються у затопленій зоні за рахунок ефекту розчинника. З ростом температури розчинник поступово випаровується, починаючи з частини зони, ближчої до інжектора-випарника. В останній момент випаровування від розчинника залишається маленька крапля у тому кінці зони затоплення, що ближчий до детектора. Високолеткі сполуки, концентруються у цій маленькій краплі.

З ростом температури далі по черзі випаровуються важколеткі сполуки з ділянки, де була зона затоплення. При цьому газ-носії переносить пробу далі по капіляру. Молекули однієї сполуки випаровуються і рухаються по капіляру, доки не зустрінуть нерухому фазу, де утримуються і таким чином фокусуються на вузькій ділянці. Хроматографічний процес починається з цієї вузької зони. На відміну від фокусування у колонці, де хроматографічний процес починається одразу з нерухомої фази по всій постзоні затоплення.

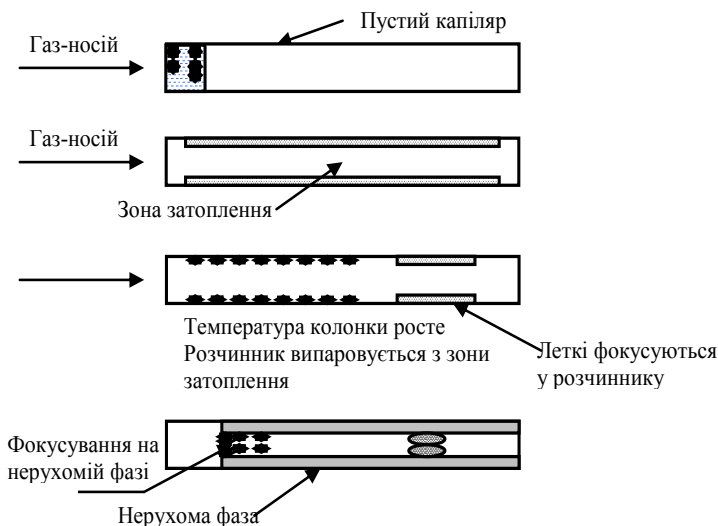


Рис.3.10. Процеси в порожньому капілярі, що призводять до звуження вхідної зони

Властивості капілярів.

У випадку використання колонки з деактивованою початковою частиною, деактиватор обирається залежно від типу розчинника. Як було показано раніше, коротка однорідна зона затоплення утворюється при гарній змочуваності поверхні. Тому при використанні неполярного розчинника кращим деактиватором є гексаметилдисилазан. Початкова частина колонки буде містити гексаметилдисилазанову плівку, яка на порядок тонша за плівку нерухомої фази, тому дуже слабо утримує компоненти суміші. При використанні полярних розчинників деактивуючий реагент має бути полярним, наприкл., поліетиленгліколь. Можна створити універсальний порожній капіляр, деактивуючи його поверхню реагентом середньої полярності.

У випадку використання окремого пустого капіляру, він з'єднується з колонкою перехідником, що затискається, (pres-fit). Перехідники можуть бути металевими, поліімідними або скляними. Діаметр порожнього капіляру має бути таким самим як і діаметр колонки. Довжина порожнього капіляру залежить від довжини зони затоплення, яка в свою чергу залежить від типу розчинника і змочуваності поверхні.

Для неполярних розчинників довжина затопленої зони складає 20-30 см на мкл проби. Для полярних розчинників довжина ділянки порожнього капіляру має складати 100 см на кожний мкл введеної проби.

Наприклад, експериментальні умови аналізу тригалометанів [2] у розчиннику - воді:

Колонка	30 м × 0,53 мм × 2,65 мкм Ultra-1	Як видно, на 1 мкл проби використовується 5 м порожнього капіляру
Пустий капіляр	5 м × 0,53 мм	
Спосіб введення	Безпосереднє в колонку	
Аліквота	1 мкл	
Температура печі	50°C (1 хв)-200°C, 10°C /хв	

Використання порожнього капіляру у капілярній газовій хроматографії, як і передколонки у ВЕЖХ, має ряд переваг. Використання порожнього капіляру в режимі без ділення потоку або при безпосередньому введенні проби:

- дозволяє зберігати високу роздільну здатність при введенні великих аліквот > 2 мкл до 10 мкл. (Велика аліквота потрібна для підвищення чутливості визначення). Розмиті у капілярі зони далі фокусуються на нерухомій фазі.

- запобігає забрудненню колонки нелеткими компонентами. Періодичне обрізання декількох забруднених сантиметрів капіляру звичайна процедура в ГХ.

Застосування безпосереднього введення проби в колонку з використанням порожнього капіляру може бути альтернативою парофазному статичному і динамічному аналізу.

Література

1. Высокоэффективная газовая хроматография / Под ред. Хайвер К.
2. F. David, P. Sandra, S.S. Stafford. Application of retention gap for optimized capillary GC. / Hewlett Packard. A.N. 228-245.

3.9. КРАНИ ДЛЯ ВВЕДЕННЯ ПРОБ ТА КЕРУВАННЯ ГАЗОВИМИ ПОТОКАМИ

Для введення газових проб використовують поворотні *крани-дозатори*. Їх також застосовують для перемикавання газових потоків у багатоколонкових системах.

Поворотний кран складається з корпусу зі штуцерами (отворами) і поворотної рухливої частини - втулки. У втулці є канали, через які може проходити газ.

Проба газу дозується у градуйованій трубці (контурі) - *петлі*.

На рис. 3.11 - зображений 6-ходовий кран для введення газових проб.

В положенні «Завантаження» закритий контур (петля) замикається з потоком проби газу (рис.3.11, off, канали 1, 6). При цьому колонка замикається з газом-носієм з балону (рис.3.11, off, канали 5, 4). В положенні «Введення» закритий контур з'єднується з потоком газу-носія (рис.3.11, on, канали 5, 6), проба подається в колонку і починається аналіз.

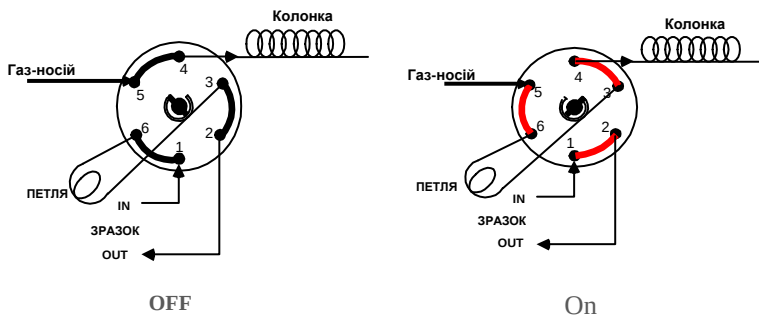


Рис.3.11. Схема роботи 6-портового газового крану: положення завантаження в контур (off) і положення введення проби в ГХ (on)

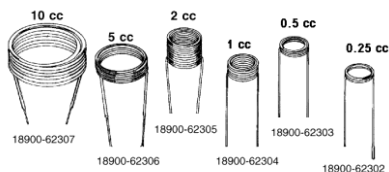


Рис.3.12. Петлі для дозування газових проб

Для дозування проби використовують петлі з неіржавіючої сталі (рис.3.12) об'ємом від 0,25 до 10 см³.

Існує два способи подачі газу-носія в хроматографічну систему: 1) з використанням випарника, 2) з використанням тільки електронного керування потоками газів.

У першому способі можливим є використання як випарника для набивних колонок (PP¹ – Inlet), так і капілярного випарника (S/SL² – Inlet), а також інтерфейса для летких сполук. При цьому існує два способи підключення крану: кран без залучення інжектора-випарника (Valve Upstream of the Injection port) і з залученням інжектора-випарника (Valve Downstream of the Injection port). Схема Downstream з'єднання 6-портового крану для дозування газових проб з використанням випарника (для набивних і капілярних колонок) показана на рис.3.13. Газ-носіє вводиться в систему за допомогою випарника, потім потрапляє через кран у петлю і далі через кран у колонку.

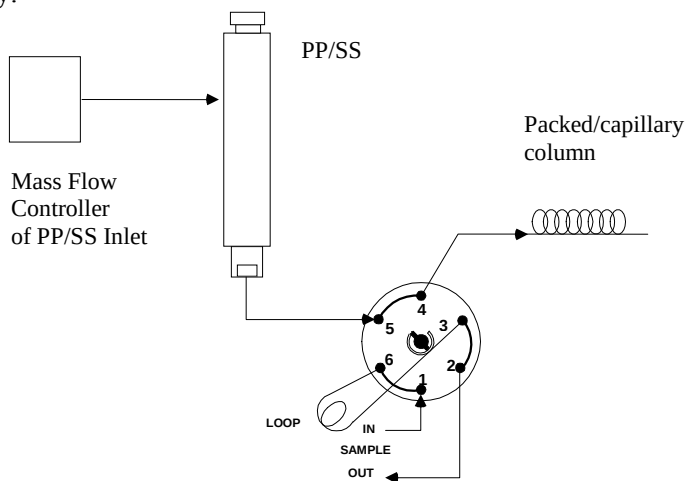


Рис.3.13. Схема подачі газів у хроматографічну систему через кран з використанням інжектора-випарника (Downstream)

¹ PP -

² S – split = з діленням потоку, SL – splitless= без ділення потоку.

3.9. ПАРОФАЗНИЙ АНАЛІЗ

3.9.1. Статичний (рівноважний) парофазний аналіз

У газохроматографічному аналізі парової фази першим етапом є насичення газового простору леткими компонентами, що містяться у рідкій фазі. Для цього рідку пробу поміщають в герметично закриту посудину (віалу тощо), залишаючи вільною певну частину її простору. Термостатують віалу при необхідній температурі певний час. При цьому газовий простір, що контактує з рідиною, насичується леткими компонентами. Переніс парової фази у колонку відбувається після досягнення рівноваги між двома фазами. Тому такий варіант називають

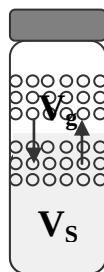


Рис.3.14. Парофазна система

статичним або рівноважним парофазним аналізом.

На рис.3.14. зображена парофазна система з двома фазами у віалі: проба - рідка фаза (S) і газова фаза (G). Ця система характеризується такими величинами: V_S – об'єм проби, V_g - об'єм газової фази, V_v – об'єм віалі, C_S – концентрація аналіту у рідкій фазі, C_g – концентрація аналіту у газовій фазі.

Особливістю парофазного насичення полягає у тому, що після встановлення рівноваги об'єм рідини (проби) у віалі не змінюється.

Співвідношення об'ємів позначимо як:

$$\beta = \frac{V_g}{V_S} . \quad (3.1)$$

Початкова концентрація аналіту (C_0) дорівнює: $C_0 = W_0/V_S$, де W_0 – початковий вміст аналіту у пробі.

Після встановлення рівноваги аналіт розподіляється між двома фазами. Його концентрація у рідкій (C_S) та у газовій (C_g) фазах складає:

$$C_S = W_S/V_S , \quad (3.2)$$

$$C_g = W_g/V_g . \quad (3.3)$$

Розподіл можна описати за допомогою коефіцієнту розподілу K :

$K = C_s/C_g$, і, виходячи з рівнянь (3.1) і (3.3),

$$K = \frac{W_s}{W_g} \cdot \beta. \quad (3.4)$$

Коефіцієнт розподілу залежить від розчинності аналіту в рідкій фазі. Для добре розчинних компонентів K – великий, для мало розчинних K – малий.

Виходячи з рівнянь 3.1 і 3.4 можна записати:

$$C_g = \frac{C_0}{K + \beta}. \quad (3.5)$$

За певних умов K і β є величинами сталими, тому:

$$C_g = \text{const} \cdot C_0. \quad (3.6)$$

Іншими словами, концентрація аналіту у газовій фазі прямо пропорційна його початковій концентрації.

В газовій хроматографії основною кількісною характеристикою хроматографічного піку є його площа (S). Вона є прямо пропорційною вмісту (концентрації) аналіту у пробі. У випадку парофазного аналізу площа хроматографічного піка прямо пропорційна концентрації аналіту у газовій фазі:

$$S = \text{const} \cdot C_g. \quad (3.7)$$

Враховуючи 3.6 можна записати

$$S = \text{const} \cdot C_0. \quad (3.8)$$



Це базова залежність для парофазного аналізу.

Стала (const) в цьому рівнянні залежить від багатьох параметрів, тому обчислити її дуже важко. Отже, обчислення можна проводити тільки порівнюючи площі піків визначуваних речовин з площами піків стандартних речовин.

Поєднавши 3.5 і 3.7, отримаємо:

$$S \cong C_g = \frac{C_0}{K + \beta}. \quad (3.9)$$

Це рівняння показує залежність площі хроматографічного піку, отриманого хроматографуванням аліквоти парової фази, що перебувала у стані рівноваги з пробію, від концентрації аналіту у пробі (C_0), коефіцієнту розподілу (K) та співвідношення об'ємів фаз (β).

Важливим є правильно дозувати парову фазу.

3.9.1.1. Основні положення парофазного методу

Кількісний парофазний аналіз базується на двох основних положеннях:

- площа хроматографічного піку компонента прямо пропорційна концентрації компоненту у пробі;
- обчислення проводять шляхом висока площі піку компонента з площею піку стандарту, це забезпечує високу відтворюваність аналізу.

Для розуміння процесу парофазного аналізу звертаємося до рівнянь 1.29 – 1.40.

З рівняння 1.40 видно: зменшення коефіцієнту розподілу компонента між рідкою і газовою фазами означає збільшення концентрації компоненту i в газовій фазі C_g у стані рівноваги, а це покращує чутливість парофазного аналізу.

Чутливість парофазного аналізу означає: отримати якомога більшу площу піку при даній концентрації компонента у пробі (C_0). Чим більша площа піка при даній концентрації, тобто чим більша концентрація компоненту у газовій фазі (C_g), тим меншу концентрацію аналіту можна визначити у пробі.

При даній концентрації компонента у пробі (C_0) змінювати його концентрацію у газовій фазі віали можна, змінюючи об'єм пробки у віалі (V_s) та її температуру.

Збільшити чутливість парофазного аналізу можна також, збільшуючи аліквоту, яка вводиться у колонку. Але цей фактор має обмежене застосування через малу ємність колонки.

Залежність тиску пари чистої речовини від температури експоненційна:

$$\log p_i^0 = -\frac{B}{T} + C, \quad (3.10)$$

де B і C – сталі, що враховують природу речовини, T – абсолютна температура (K), p_i^0 – тиск пари чистої речовини.

$$\text{Рівняння (3.10) записують як } \log K = \frac{B}{T} - C', \quad (3.11)$$

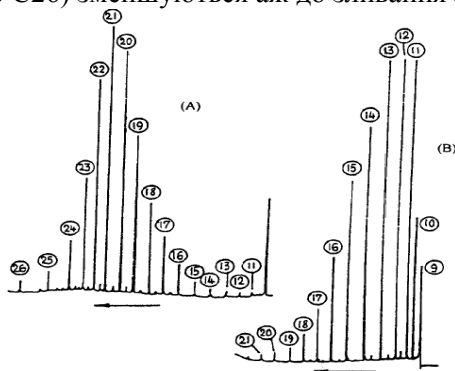
де K – коефіцієнт розподілу, C' – стала, що враховує природу речовини і розчинника.

Експоненціальне збільшення парціального тиску при зростанні температури спостерігається для гомологічних рядів:

$$\log p_i^0 = -a \cdot n + b \quad (3.12)$$

де n – число атомів карбону у молекулі, а і b – константи.

Дослідження показали, що у суміші гомологічного ряду алканів, в якій кожний компонент міститься в однаковій концентрації, парціальний тиск парів, отже, і концентрація низькокиплячих компонентів (компонентів з меншим числом атомів карбону) у газовій фазі набагато більша, ніж висококиплячих компонентів. На хроматограмі (рис. 3.15) суміші з однаковою концентрацією гомологів C_9 - C_{26} , отриманій аналізом парової фази (рис.3.15, В), площі піків сполук C_9 - C_{15} великі, на відміну від хроматограми рідкої проби (рис.3.15, А), де піки цих компонентів майже не видно. В той же час піки C_{16} - C_{26} на хроматограмі рідкої проби (рис.3.15, А) великі, а на парофазній хроматограмі (рис.3.15, В) поступово (від C_{16} до C_{26}) зменшуються аж до зливання з фоном.



**Рис. 3.15. Хроматограф суміші алканів C_9 - C_{26} .
(А) – рідка проба, (В) – парова фаза.**

3.9.1.2. Вплив температури на чутливість парофазного аналізу

Вплив температури на чутливість парофазного аналізу, тобто на площу піку, залежить від властивостей аналіту, зокрема його розподілу між двома фазами.

Площа піку аналіту у паровій фазі, як показано вище, прямо пропорційна його концентрації у газовій фазі (3.9), а значить прямо пропорційна концентрації аналіту у пробі:

$$S=f(C_g)=f(C_o) \text{ .}$$

При збільшенні температури збільшується концентрація компоненту у газовій фазі (C_g). Тому збільшується чутливість парофазного визначення.

Згідно (3.9) і (3.11) є два варіанти залежності чутливості парофазного аналізу від температури:

- значна залежність спостерігається, коли $K \gg \beta$, тоді згідно (3.9) $S = \frac{C_0}{K}$.
- незначна залежність спостерігається коли $K \ll \beta$, тоді $S = \frac{C_0}{\beta}$.

Вплив температури на площу піку для трьох речовин з різними коефіцієнтами розподілу при однаковому фазову співвідношенні показано на рис.3.16.

Для цих речовин рівняння, згідно 3.11, що показують вплив температури на коефіцієнт розподілу такі:

етанол	$\log K = 2205/T - 3,910$	$r = 0,9998$	
метилетилкетон	$\log K = 1936/T - 3,955$	$r = 0,9977$	(3.13)
толуол	$\log K = 963/T - 2,631$	$r = 0,9982$	

Як видно з рис.3.16 і рівнянь 3.13, значно залежить від температури площа піку етанолу, для якого $K \gg \beta$, в меншій мірі залежить площа піку метилетилкетону, для якого $K > \beta$, не значно залежить площа піку толуолу, для якого $K < \beta$.

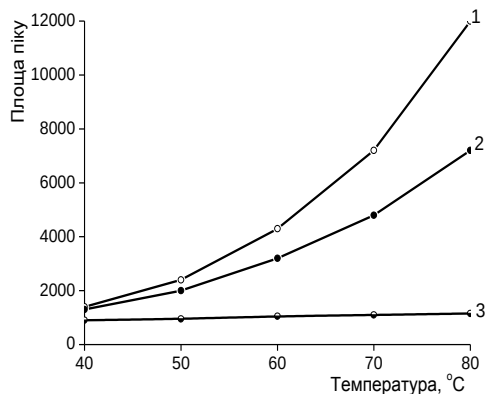


Рис.3.16. Вплив температури на чутливість парофазного аналізу (площу піку).
 $\beta=3,46$. 1 - етанол, 2 – метилетилкетон, 3 – толуол

Температура термостатування для кожної проби має обиратися зважаючи на багато критеріїв. Треба пам'ятати:

- деякі аналіти дуже чутливі до високої температури і навіть за високої температури можуть руйнуватися або окиснюватися у віалі;
- пари розчинника визначають загальний тиск у газовій фазі віалі, а концентрації компонентів суміші такі малі, що навряд здатні значно впливати на загальний тиск. У випадку низькокиплячого розчинника, тиск у газовій фазі віалі дуже високий. Тому перевагу треба надавати розчинникам з більшою температурою кипіння;
- високий тиск парової фази може ускладнювати переніс її аліквоти за допомогою шприца;
- автоматизований переніс аліквоти передбачає накладання додаткового тиску на пробу у віалі. Така процедура при високому початковому тиску у віалі може призводити до витікань або навіть до поломки віалі.

3.9.1.3. Вплив фазового співвідношення на чутливість парофазного аналізу

Розглянемо вплив фазового співвідношення на площу піка для компонентів з різними коефіцієнтами розподілу.

Введемо поняття *фазова частка*, яку тут зручніше застосовувати, ніж фазове співвідношення:

$$\phi_s = V_s / V_v \quad (3.14)$$

де V_s – об'єм проби, V_v – загальний об'єм віали.

Фазова частка пов'язана з фазовим співвідношенням

$$\varphi_s = \frac{1}{1 + \beta} \quad (3.15)$$

Розглянемо чутливість парофазного аналізу для чотирьох сполук з різними коефіцієнтами розподілу і для двох граничних варіантів фазової частки 0,2 і 0,8, що означає, що у віалі об'ємом 1 мл міститься 0,2 мл і 0,8 мл рідини, відповідно. Взагалі, у віалу можна поміщати і менше, ніж 0,2 мл проби, а от фазова частка 0,8 є максимально допустимою.

- Для сполук з $K=0,20$, при $\phi_s = 0,8$ $\beta=4$, тоді згідно (3.9) чутливість парофазного аналізу у 9 разів вища, ніж при $\phi_s = 0,2$.

- Для сполук з $K=1,0$, відмінність чутливості у вказаному діапазоні ϕ_s є також значною (у 4 рази).

- Для сполуки з $K=20$, різниця чутливості у вказаному діапазоні ϕ_s складає біля 18%.

- В решті решт при $K=250$, різниця чутливості у вказаному діапазоні ϕ_s мала, лише 1,5%.

Висновок можна зробити такий: при гарній розчинності компонента у розчиннику коефіцієнт розподілу великий, і згідно, 3.9 і 3.15, співвідношення фаз не впливає на чутливість парофазного аналізу, при зменшенні розчинності компонента у розчиннику коефіцієнт розподілу зменшується, і згідно, 3.9 і 3.15, чим більше об'єм проби, тим більша чутливість парофазного аналізу.

3.9.1.4. Вплив складу проби на чутливість парофазного аналізу

Розглянемо вплив складу проби на чутливість парофазного аналізу. Як було зазначено, K залежить від розчинності аналіту у рідкій фазі. Розчинність залежить від взаємодії між молекулами аналіту та іншими частинками проби, тобто від властивостей аналіту та матриці проби. Ця взаємодія характеризується коефіцієнтом активності (γ). Змінивши природу

матриці зразка, тобто змінивши γ , можна змінити чутливість парофазного аналізу.

Згідно 3.4 і 3.7, чим менше коефіцієнт розподілу, тим вище чутливість парофазного аналізу. А згідно 1.40, коефіцієнт розподілу тим менше, чим більше γ , тобто чим менше розчинність аналіту у рідині.

Ми знаємо, що коефіцієнт активності у реальних розчинах не дорівнює 1, і за сталих умов коефіцієнт активності є величиною сталою. Щоб його збільшити, треба додати до розчину речовину, яка послабить взаємодію між аналіт – матриця і зменшить розчинність аналіту.

У випадку водних розчинів для зменшення взаємодії молекул аналіт – матриця додають електроліти (карбонат калію, сульфат натрію тощо) – висолювачі. Така техніка називається *висолюванням*. При додаванні електроліту до водного розчину збільшується його іонна сила, при цьому збільшується висолювання більш полярних речовин, отже зростає чутливість саме їх парофазного аналізу. Якщо в розчині присутні мало полярні речовини з малими коефіцієнтами розподілу, то чутливість їх визначення також зростає завдяки ефекту доданого об'єму.

Наприклад, введення 6 г карбонату калію у 5 мл проби збільшує її об'єм до 6,5 мл! При цьому фазове співвідношення β зменшується, що призводить до зростання чутливості аналізу речовин з малими коефіцієнтами розподілу, згідно 3.9.

Отже висолювання допомагає збільшити чутливість визначення полярних речовин. Тут треба наголосити, що збільшення чутливості спостерігається лише за великих концентрацій висолювача (20%), які викликають певні проблеми. При додаванні великої кількості електроліту:

- збільшується густина розчину, що збільшує необхідний час термостатування (до 1 год);
- вводяться додаткові забруднювачі, які дають хроматографічні піки;
- змінюється лінійний діапазон визначення більшості аналітів.

Тому застосовувати таку техніку треба обережно, вибираючи електроліт для нової проби, досліджувати його вплив.

Додавання води в суміш органічних розчинників з водою також викликає ефект висолювання неполярних та малополярних аналітів. В цьому випадку треба бути обережним, щоб не перевести аналіт в нерозчинний стан.

3.9.2. Техніка парофазного пробовідбору

Парофазний аналіз можна проводити у ручному або автоматичному пневматичному режимі.

Розрізняють три основних типи парофазного пробовідбору: газовий шприц, контрольована у часі система збалансованого тиску і петля надлишкового тиску.

3.9.2.1. Ручний пробовідбір за допомогою шприца

Аліквота парової фази відбирається за допомогою шприца (це може бути мікрошприц або медичний шприц) і вводиться у випарник хроматографа.

На рис.3.17, (а) показано три етапи статичного парофазного аналізу з використанням шприца для пробовідбору.

Перший етап – отримання рівноважної парової фази - передбачає розміщення рідкої проби у віалі, її герметичне пакування гумовою септою і термостатування при необхідній температурі протягом рекомендованого часу.

Другий етап – пробовідбір. Голкою гарячого шприца прокалюють септу і відбирають певний об'єм парової фази. Застосування нагрітого шприца запобігає конденсації компонентів проби на стінках шприца. Для того, щоб тиск у віалі після відбирання проби залишався рівним атмосферному, можна шприц попередньо заповнити розбавляючим газом (зокрема, повітрям), об'єм якого дорівнює об'єму проби. Розбавляючий газ зі шприца вводиться у посудину, а потім у шприц набирається проба.

Третій етап – введення аліквоти у хроматограф.

При відборі проби шприцом існують певні недоліки:

- При переносі аліквоти парової фази з віалі у хроматограф, змінюється об'єм аліквоти, через її розширення у шприці при переході до атмосферного тиску. Цей недолік можна усунути, використовуючи послідовно з'єднані шприц і багатоходовий газовий кран. Але тоді є можливими втрати речовин через сорбцію на стінках шприца, що спричиняє низьку відтворюваність площ піків. І шприц, і багатоходовий кран треба нагрівати.

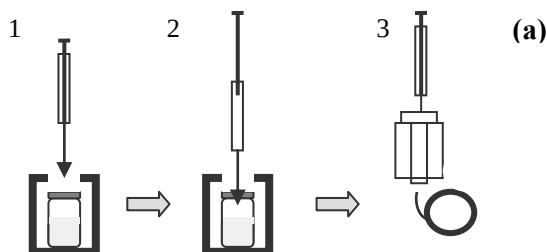
- Неконтрольована температура шприца призводить до конденсації компонентів проби на стінках шприца. Для усунення цієї проблеми рекомендовано між відборами проби зберігати шприц у печі при 90°C.

На рис.3.17, (б) показано два етапи статичного паровозного аналізу з використанням шприця і багатоходового крану. Таке поєднання усуває проблему конденсування компонентів проби на стінках шприця, тому що він використовується лише як насос. При витягуванні поршня з циліндра шприця (рис.3.17, (б) - 1) аліквота парової фази заповнює петлю. Далі кран переключається в положення 2 (рис.3.17, (б)), і газ-носії вимиває аліквоту з петлі в колонку, поршень шприця при цьому повертається в циліндр.

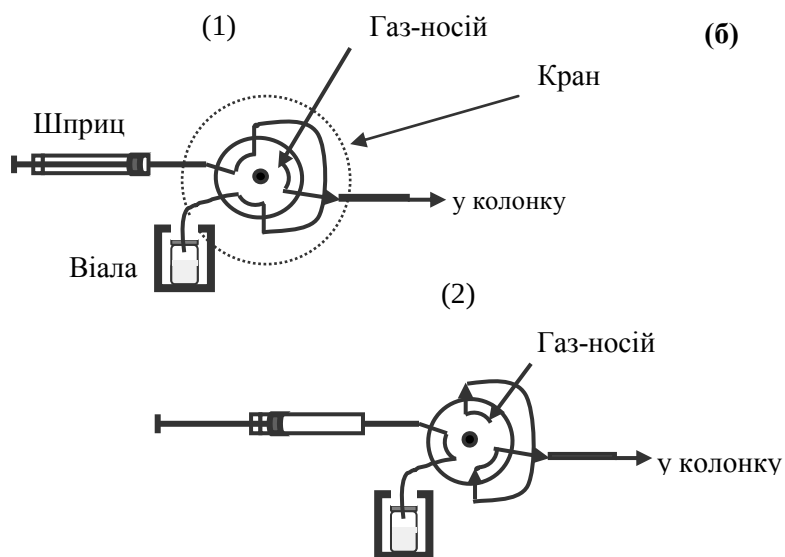
3.9.2.2. Пневматичний переніс парової фази в колонку

Пневматичне паровозне дозування проб виконується шляхом створення перепаду тиску між віалюю і хроматографічною колонкою. З'єднання газового простору віали з хроматографом забезпечує імпульсне введення проби, об'єм якої головним чином регулюється різницею тисків у віалі і в хроматографі і часом переносу аліквоти.

Забезпечення сталості перепаду тиску дозволяє досягти відтворюваності аліквоти на рівні 0,1%.



1. Отримання рівноважної парової фази. 2. Відбір аліквоти. 3. Введення аліквоти у хроматограф.



**Рис.3.17. Статичний парофазний аналіз: пробовідбір за допомогою шприца.
(а) - введення шприцом, (б) - введення петлею**

Система збалансованого тиску

Введення проби створенням збалансованого тиску у системі (надлишкового тиску у віалі) показано на рис.3.18.

Етап 1. Очікування рівноважного насичення парової фази пробною у віалі, голка при цьому герметизована.

Етап 2. Голка, рухаючись у нагрітому тримачі, проколює мембрану віали. Частина потоку газу-носія подається у віалу. У віалі створюється надлишковий тиск. Через деякий час (час створення надлишкового тиску) подача газу-носія перекидається вентилем V_1 .

Етап 3. Стиснутий газ у віалі розширюється, і таким чином під дією надлишкового тиску аліквота парової фази через голку переноситься нагрітою лінією у колонку. Переніс відбувається протягом певного часу.

 *Об'єм аліквоти контролюється створеним у віалі тиском і часом перенесення аліквоти в колонку.*

Петля надлишкового тиску

Введення проби за допомогою шестиходового газового крану, петля якого заповнюється під час зміни тиску в системі, показано на рис.3.19. Голка і кран обігріваються до придатної для запобігання конденсації компонентів проби температури.

Етап 1. У віалі парова фаза досягає рівноваги (рис.3.19, 1).

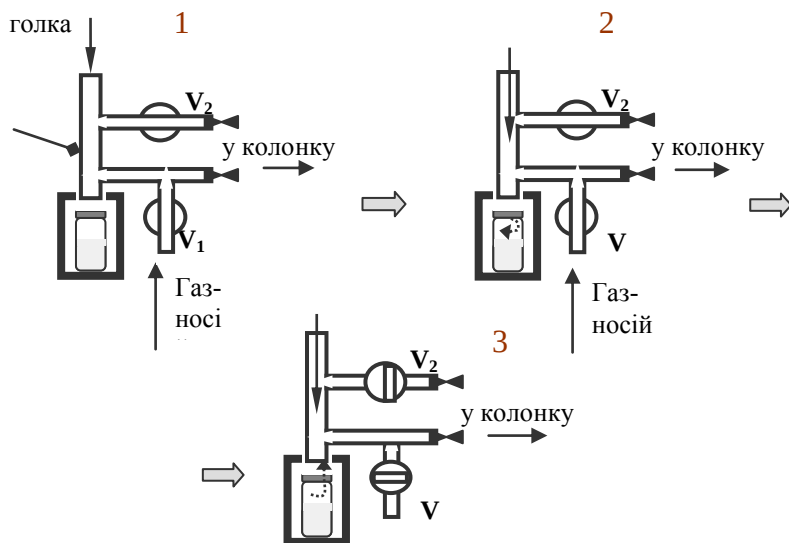
Етап 2. Газ-носії нагнітається у віалу до досягнення заданого тиску (рис.3.19, 2).

Етап 3. Кран перемикається в положення «заповнення петлі», віала тимчасово відкривається і петля заповнюється зразком (рис.3.19, 3).

Етап 3'. Кран перемикається й аліквота газом-носієм вимивається з петлі у хроматограф (рис.3.19, 3').

В цій схемі парофазного пробовідбору об'єм проби дорівнює об'єму петлі і не може змінюватися під час відбору.

 **Зауваження щодо відтворюваності парофазного пробовідбору.**
Неможливо отримати однакові площі піків послідовно відбираючи проби з однієї віали. Для паралельних вимірювань необхідно поміщати однакові кількості проби в декілька віал і проводити одночасний аналіз за однакових умов.



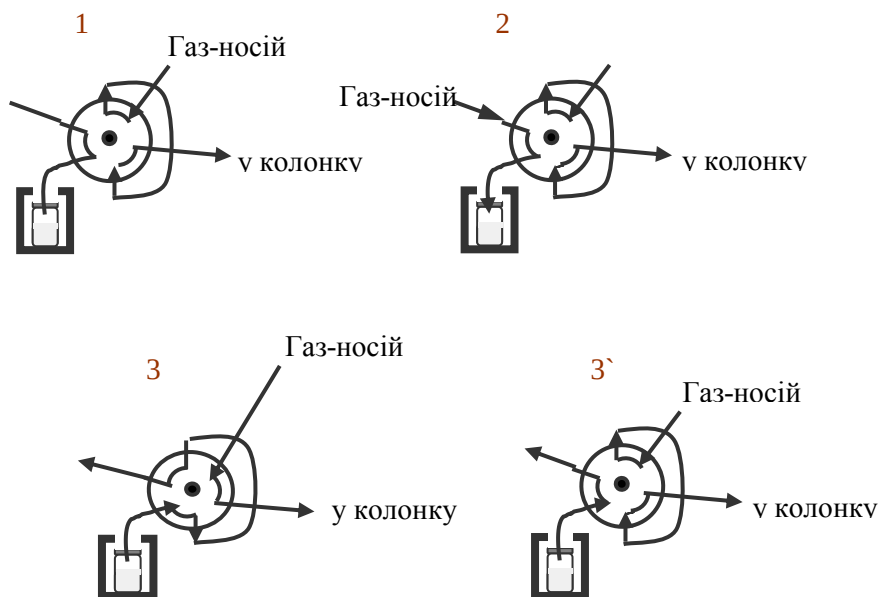
1. Отримання рівноважної парової фази. 2. Створення надлишкового тиску (див. напрямки стрілки). 3. Введення аліквоти у хроматограф.

Рис.3.18. Статичний парофазний аналіз: пробовідбір за допомогою системи збалансованого тиску

3.9.3. Динамічний парофазний аналіз

В цьому варіанті парофазного аналізу інертний (продувочний) газ барботується крізь рідку пробу, під час чого леткі компоненти вилучаються бульбашками газу і переносяться у *пастку* (концентраційний патрон). Пастка заповнюється адсорбентом, який утримує леткі компоненти, принесені продувочним газом. Далі пастку нагрівають до температури кипіння летких компонентів і пропускають крізь пастку газ-носії, який переносить леткі компоненти в колонку.

Такий аналіз парової фази називають *динамічний парофазний аналіз* або *продувка-та-уловлювання*.



1. Отримання рівноважної парової фази. 2. Нагнітання тиску у віалі. 3. Введення аликвоти в петлю. 3'. Введення аликвоти у хроматограф.

Рис.3.19. Статичний парофазний аналіз: пробовідбір за допомогою петлі надлишкового тиску

Література

Kolb B., Ettre S.L. Static headspace gas chromatography: theory and practice. Wiley VCH, Inc. 1997.

Контрольні запитання і задачі

1. Які переваги дає наявність системи ЕКПГ у хроматографі?
2. Чим визначається конструкція лайнерів інжекторів?
3. Назвіть вимоги до введення проби.

4. Де мають розташовуватись балони з H_2 за правилами техніки безпеки?

5. Які частини і пристрої входять до складу блока введення проби?

6. Які причини призводять до появи хибних піків в результатах хроматографування?

7. Які причини призводять до невідтворюваності величини проби?

8. До яких наслідків призводить розмивання проби у випарнику?

9. Які причини розмивання проби у випарнику?

10. Чим обмежується величина проби?

11. Опишіть склад випарника для введення рідких проб у капілярну колонку.

12. Які пристрої використовують для введення проб у випарник?

13. Яким чином вибирають температуру випарника для хроматографування?

14. З якого матеріалу виготовляють септу? Чим визначається тривалість використання септи?

15. Який мінімальний об'єм проби можна ввести мікрошприцем?

16. Зобразіть схематично роботу випарника для капілярних колонок в режимі з діленням потоку.

17. Навіщо обдувати септу?

18. Яким чином створюється ділення потоку у випарнику для капілярних колонок?

19. В яких випадках застосовується режим введення проби з діленням потоку?

20. Обчисліть потік на вході у випарник при швидкості потоку через колонку 5 мл/хв і діленні 1 до 50.

21. Яким чином створюється ділення потоку?

22. Що відбувається у випарнику для капілярних колонок при натисканні клавіші Prep Run?

23. Як обчислюють час продувки лайнера перед виходом в стан економії газу?

24. Обчисліть час продувки лайнеру об'ємом 2 мл при швидкості потоку через колонку 5 мл/хв.

25. Що відбувається у випарнику для капілярних колонок по закінченні часу продувки лайнера?

26. Опишіть роботу випарника для капілярних колонок в режимі без ділення потоку.

27. Опишіть роботу і наведіть схему випарника для набивних колонок.
28. Опишіть роботу і наведіть схему плівкового вимірювача потоків.
29. Для чого використовуються хімічні пастки?
30. Яке негативне явище має місце при введенні проби з діленням потоку?
31. В чому проявляється дискримінація проби?
32. Чим обумовлена дискримінація проби?
33. Що означає лінійність ділення потоку?
34. В яких випадках проявляється нелінійність ділення потоку?
35. Яким чином можна мінімізувати нелінійність ділення потоку?
36. Опишіть механізм дискримінації у голці шприца.
37. Яким чином можна мінімізувати дискримінацію через голку шприца?
38. Як ефекти застосовують для звуження вхідної зони в колонці?
39. Опишіть механізм ефекту розчинника. Для яких речовин його застосовують?
40. Опишіть механізм ефекту холодного уловлювання. Для яких речовин його застосовують?
41. Які наслідки має неправильний вибір початкової температури хроматографування?
42. Для чого застосовують ефекти фокусування?
43. Що таке “безпосереднє введення проби в колонку”?
44. Наведіть схему пристрою для безпосереднього введення проби в колонку.
45. Яких умов треба дотримуватися при безпосередньому введенні проби в колонку?
46. Опишіть механізм звуження зони при застосуванні порожнього капіляру.
47. Для чого використовують крани-дозатори?
48. З яких частин складаються крани-дозатори?
49. Наведіть схему роботи 6-ходового крану в положенні завантаження петлі і положенні введення в колонку.
50. В якому випадку застосовують парофазний аналіз?
51. Опишіть принцип статичного парофазного аналізу.
52. На яких положеннях ґрунтується парофазний аналіз?
53. Чи залежить чутливість парофазного аналізу від фазового співвідношення? В яких випадках залежність значна?

54. Яким чином можна підвищувати чутливість парофазного аналізу?
55. Опишіть способи введення парової фази у хроматограф у статичному режимі.
56. Опишіть принцип динамічного парофазного аналізу.

Приклад тест-контрольної

Запитання	Так	Ні
1. Система електронного керування потоками газів:		
А. використовує датчики атмосферного тиску і температури для усунення впливу зовнішніх факторів (температури, тиску) на відтворюваність якісних та кількісних характеристик аналізу.		
В. дозволяє автоматично вводити пробу.		
С. призначена для введення в колонку певної кількості проби.		
2. Наявність у випарнику “мертвого” об’єму, що не продувається, призводить до:		
А. Порушення герметичності у системі		
В. Порушення ідентичності складу проби, що введена в колонку, складу досліджуваної суміші		
С. Розмиванню хроматографічного піку		
3. Недостатня температура випарника призводить до:		
А. Розмивання хроматографічного піку		
В. Забруднення лайнера випарника		
С. Зменшенню селективності розділення		

4. ДЕТЕКТОРИ

Детектор – це пристрій, призначений для вимірювання певного фізико-хімічного або фізичного параметра, який є пропорційним її концентрації.

Від детектора залежить чутливість і точність хроматографічного аналізу. На сьогодні запропоновано понад 50 типів детекторів. Наприклад, детектор по теплопровідності (ДТП), іонізаційні детектори: полуменево-іонізаційний (ПІД), електронозахоплювальний (ЕЗД), термоіонний (ТІД), фотоіонізаційний (ФІД), мас-селективний (МС); полуменево-фотометричний детектор (ПФД), детектор густини (ДГ), детектор електропровідності (ДЕП), термохімічний (ТХД), тощо.

4.1. КЛАСИФІКАЦІЯ ДЕТЕКТОРІВ

Детектори поділяють на інтегральні та диференційні.

Інтегральний детектор реєструє зміну кількості речовини, що пройшла через детектор за певний час (рис.4.1).

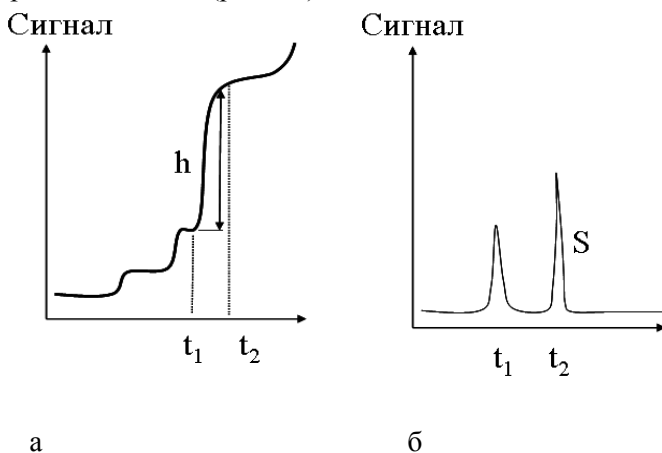


Рис.4.1. Сигнали інтегрального (а) і диференційного (б) детекторів

Диференційний детектор реєструє миттєву зміну концентрації або масової швидкості (мг/с) речовини, що пройшла через детектор.

Інтегральні детектори характеризуються відносно низькою чутливістю та значною інерційністю. Аналітичні сигнали вони реєструють у вигляді сходинок, які перетікають одна в одну (див.рис.4.1).

Диференційні детектори мало інерційні. Сигнали речовин реєструються в них як піки. Тому саме диференційні детектори наразі використовуються.

За селективністю детектори поділяють на універсальні і селективні. *Універсальні* детектори реєструють властивість, яку мають усі речовини, *селективні* – вимірюють властивість, притаманну певним речовинам.

За способом реєстрації сигналу детектори поділяють на поточкові і концентраційні.

Поточкові детектори є деструктивними. Молекули в них перетворюються на іони. Сигнал поточкового детектора пропорційний кількості молекул, яка досягла вимірювального елемента детектора за одиницю часу. В детекторі природа молекул змінюється, тому вона може бути зареєстрована лише однократно. Якби вимірювання проводились у замкненому об'ємі комірки детектора (за відсутності потоку), то сигнал детектора швидко зменшувався би з часом.

Сигнал поточкового детектора прямо пропорційний концентрації речовини і швидкості потоку:

$$E_j = A_j \cdot j, \quad j = C \cdot F \quad (4.1),$$

де E_j – сигнал поточкового детектора (мА або мВ); A_j – чутливість поточкового детектора (мА·с/мг або мВ·с/мг); j – масова швидкість речовини через детектор (мг/с); C – концентрація речовини в газі-носії (мг/см³); F – швидкість газу-носія (см³/с).

Межа виявлення (C_{DL}) поточкового детектора виражається в одиницях маса/час (г/с).

Концентраційні детектори не деструктивні, їх сигнал пропорційний концентрації речовини у вимірювальній комірці детектора. Природа сполуки в детекторі не змінюється. Якби у детекторі комірка була замкнена (відсутній потік), то кожна молекула могла би бути зареєстрована необмежену кількість разів і сигнал детектора залишався би сталим.

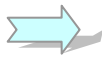
Сигнал концентраційного детектора прямо пропорційний концентрації речовини в комірці детектора:

$$E_c = A_c \cdot C \quad (4.2),$$

де E_c – сигнал концентраційного детектора (мВ); A_c – чутливість концентраційного детектора (мВ·см³/мг); C – концентрація речовини в газі-носії (мг/см³).

Межа виявлення концентраційного детектора виражається в одиницях маса/об'єм (г/дм³, г/см³).

Деякі детектори можуть проявляти себе як потокові, або концентраційні, залежно від їхніх робочих параметрів: швидкості потоку та температури.

 З огляду на вище розглянуту залежність сигналу детекторів різного типу від швидкості потоку газу-носія, можна зробити висновок: чутливість детектора залежить від швидкості потоку газу. У концентраційних детекторах чим більше швидкість потоку, тим менше число актів реєстрації встигає відбутися за одиницю часу, тим менше площа піку. У поточних детекторах збільшення швидкості потоку прямо пропорційно збільшує сигнал детектора, тобто збільшує висоту піку.

Залежність чутливості детектора від швидкості потоку газу-носія дещо ускладнюється від вище викладеної внаслідок специфіки механізмів роботи певних детекторів.

4.2. ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕТЕКТОРІВ

Важливими для аналізу характеристиками детектора є:

- чутливість,
- межа виявлення (C_{DL}),
- фоновий сигнал (S_{blank}),
- рівень шуму (δ),
- швидкість дрейфу нульової лінії,
- лінійний діапазон (ЛД),
- ефективний об'єм комірки детектора,
- час відгуку (τ),
- селективність.

Сигнал, який дає детектор хроматографа, за відсутності досліджуваних сполук, називається **фоновим** (S_{blank}).

Графічним відображенням залежності фонового сигналу від часу пропускання газ а-носія є базова лінія. У розділі 7 подається інформація про фактори, від яких залежить фоновий сигнал та рівень шуму.

Рівень шуму обумовлений шумами електричних компонентів вимірювальних приладів, складом газового потоку.

Фоновий сигнал присутній у кожного детектора, але для ДТП його виміряти неможливо, оскільки схема цього детектора побудована на принципі порівняння сигналів двох потоків.

Нестабільність фонового сигналу у часі проявляється двоюко:

- середнє значення фонового сигналу може бути сталим протягом тривалого часу, однак протягом коротких проміжків часу фоновий сигнал здійснює швидкі хаотичні відхилення від середнього значення – такі відхилення фонового сигналу називають *шумом*.

- фоновий сигнал повільно змінюється в один бік – це є *дрейф* базової лінії.

Розрізняють шум двох типів: високочастотний (ВЧ) (коливання) та низькочастотний (НЧ) (блукання) базової лінії.

Високочастотний шум або коливання базової лінії – це швидка короткострокова зміна фонового сигналу, що відбувається за проміжок часу, менший, аніж тривалість вимірювальної події, тобто час виходу хроматографічного піку.

Низькочастотний шум або “блукання” - це повільна зміна фонового сигналу, що відбувається за проміжок часу, спів розмірний з часом виходу хроматографічного піку.

Величина НЧ шуму дорівнює середній відстані між верхнім і нижнім максимальними відхиленнями базової лінії на відрізок, який дорівнює ширині піка (рис.4.2.).

Для вимірювання НЧ шуму необхідно, щоби прилад працював на рівні межі детектування, тоді на екрані комп’ютера спостерігається коливання і блукання базової лінії. НЧ шум вимірюється як ширина базової лінії по вісі сигналу детектора.

 Величина шуму представлена в одиницях сигналу детектору називається *рівнем шуму* (δ) (див. рис 4.2, 4.3).

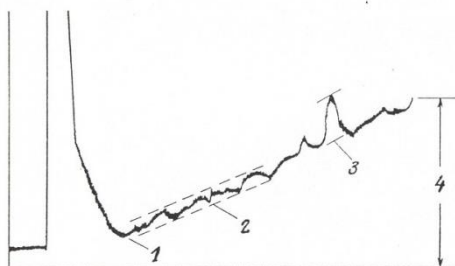


Рис. 4.2. Характеристики детектора

1 – ВЧ шум; 2 – НЧ шум; 3 – межа виявлення; 4 – дрейф

Дрейф – це спрямоване в один бік повільне зміщення нульової лінії, що відбувається протягом тривалого часу. Дрейф ускладнює кількісні вимірювання, але зазвичай його можна контролювати, оскільки він пов'язаний з режимом роботи хроматографа.

Від рівня шумів залежить найменша концентрація речовини, яку можна виявити.

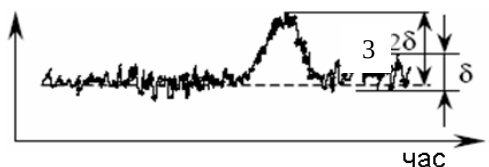


Рис. 4.3. Межа виявлення і рівень шуму

➡ *Межа виявлення* – це концентрація або маса речовини в детекторі в максимумі піка, коли відношення сигнал/шум дорівнює деякій умовній величині. Зазвичай вона дорівнює 3. Межу виявлення інакше називають *здатністю детектуватися*. Ця характеристика не залежить від параметрів колонки або величини проби. Кращою характеристикою є менше значення межі виявлення. Розмірність її залежить від типу детектора, а саме від того, концентраційний він чи потоковий. Обчислити C_{DL} можна:

$$C_{DL} = \frac{3 \cdot \delta \cdot C_{an} \cdot V}{S} \quad (4.3),$$

для потокового детектора

$$C_{DL} = \frac{3 \cdot \delta \cdot C_{an} \cdot V}{S} \cdot \frac{1}{F} \quad (4.4)$$

для концентраційного

де δ - рівень флуктуаційних шумів, мА; C_{an} - концентрація компонента у вихідній суміші (г/см³); S - площа піка, мА·с; V - об'єм проби (см³), F - швидкість потоку газу-носія, см³/с.

Визначити межу виявлення можна з використанням закладеного у Хімстанції хроматографу методу **NOISE.m**.



Чутливість відображає ступінь взаємодії речовини з детектором і визначає величину сигналу, який відповідає вмісту речовини в газі-носії.

Чутливість потокового детектора (мА·с/мг) визначають за формулою:

$$A_c = S/q \quad (4.4).$$

Чутливість концентраційного детектора (мВ·см³/мг) визначають за формулою:

$$A_c = S \cdot F/q \quad (4.5),$$

де S - площа піку, мВ·с; F - швидкість газу-носія (см³/с); q - кількість введеної проби, мг.

Кращою характеристикою методики є більша величина чутливості.

Зазвичай, чим чутливіший детектор, тим менша C_{DL} . Але буває і навпаки.

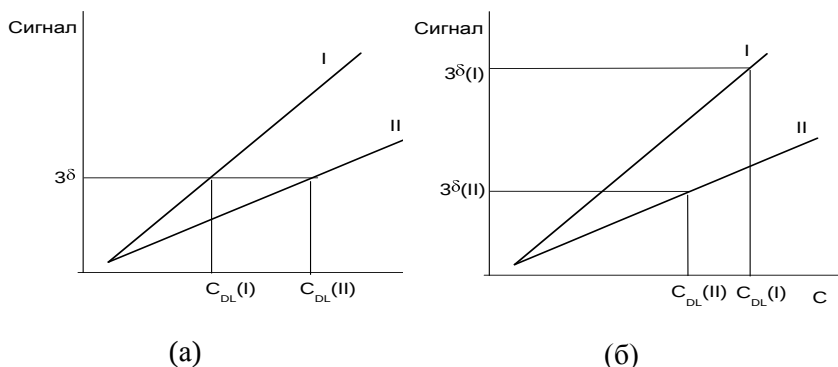
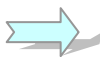


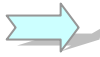
Рис.4.4. Залежність межі детектування від чутливості детектора і рівня шуму для детекторів з однаковим (а) і різним (б) рівнем шуму

 З двох детекторів з однаковим рівнем шуму меншу межу виявлення буде мати детектор з більшою чутливістю. Але детектор з нижчою чутливістю може мати меншу межу виявлення, коли в нього менший рівень шуму, ніж у детектора з більшою чутливістю.

Отже, значення сигнал/шум залежать від способу їх вимірювання, а також від форми хроматографічного піка та ефективності розділення.

Межу виявлення розглядають як параметр, еквівалентний чутливості. Однак треба пам'ятати, що це не є точно зворотно пропорційні величини. Межу виявлення розраховують на основі вимірювань, проведених в одній точці, а чутливість знаходять за тангенсом кута нахилу графічної залежності сигналу детектора від кількості визначуваної речовини.

Якщо залежність сигналу детектора від концентрації описується прямою лінією, то детектор називається лінійним.

 *Лінійний діапазон* - діапазон концентрацій або мас, всередині якого спостерігається лінійна залежність сигналу детектора від концентрації або маси речовини (рис.4.5).

Лінійний діапазон роботи детектора обмежений знизу - межею кількісного визначення (залежить від похибки і рівня шумів) а зверху - верхньою межею визначення (залежить від природи детектора).

Межа кількісного визначення C_{LOQ} - це найменша концентрація речовини, яку можна визначити за даною методикою. Її знаходять за градувальним графіком за 10σ -критерієм (більш детально див. п. 8.2).

 Абсолютне значення концентрації, перевищення якої змінює чутливість від сталого значення більше ніж на 3% (рис.4.5), називається *верхньою межею лінійності детектора* C_{max} .

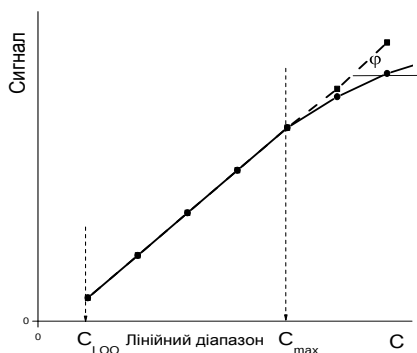


Рис.4.5. Лінійний діапазон і верхня межа лінійності детектора



Час відгуку (інерційність) – здатність детектора швидко реагувати на різку зміну концентрації речовини у потоці, що проходить через детектор. Інерційність є наслідком обмеженої швидкості фізичних або фізико-хімічних процесів, що визначають механізм детектування.

Інерційність – показник швидкодії. Для встановлення величини сигналу необхідний певний час. При зміні концентрації сигнал змінюється з деяким запізненням згідно формулі: $E = E_1(1 - e^{-t/\tau})$ (4.6), де $E_{птч}$ – поточний сигнал детектора; t – час з моменту зміни концентрації; τ – стала часу.

Стала часу τ характеризує час реакції детектора на зміну концентрації речовини. Стала часу – це час досягнення сигналу $E_{птч}$, величина якого складає 0,63 частки від попередньої величини сигналу ($E_{ппр}$):

$$E_{птч} = E_{ппр}(1 - e^{-1}) = 0,63E_{ппр} \quad (4.7)$$

З рівняння (4.7) видно, що τ має бути значно меншим за напівширину хроматографічного піку.

Так, наприклад, для ПД при ширині піку 0,1 с частота збору сигналу встановлюється на рівні 20 Hz.

Катарометр – більш інерційний, швидкість теплопередачі менша за швидкість утворення зарядів, і йому задаємо частоту збору сигналу 5 Hz.

Ефективний об'єм чутливого елементу детектора має бути малим порівняно з об'ємом газу-носія, в якому розподілений компонент, інакше зона речовини розмивається і досягнута у колонці ефективність зведеться

нанівець. Це особливо важливо при використанні капілярних колонок, внутрішній об'єм яких дуже малий.

Інколи τ збільшують для зменшення рівня шуму.

Селективність – характеристика, що визначає сигнал детектора по відношенню до різних сполук. Селективні детектори мають підвищену чутливість до деяких класів або груп сполук.

Відмінність в чутливості детектора до речовин можна оцінити за допомогою коефіцієнта відносної чутливості $K = \frac{A_x}{A_{ст}}$.

4.3. ПРОЦЕСИ, ЩО ВІДБУВАЮТЬСЯ В ГАЗОВІЙ ФАЗІ ПРИ ДІЇ НАПРУГИ

Сигналом іонізаційних детекторів є зміна *іонного струму*, викликана введенням у детектор досліджуваної речовини.

Іонний струм виникає в детекторі під дією джерела іонізації і електричного поля між електродами детектора. Джерелом іонізації може бути: радіоактивне випромінювання, полум'я, розряд, електронна та іонна емісія. В будь-який момент часу в детекторі досягається рівновага, яка характеризується рівністю швидкості утворення заряджених частинок та суми швидкостей рекомбінації і збору заряджених частинок на електродах. Швидкість збору визначає струм детектора. В іонізаційних детекторах створюються такі умови, за яких або густина заряджених частинок, або швидкість переносу їх в електричному полі залежить від складу газу.

Іонний струм – електричний струм, який створюється між електродами детектора усіма зарядженими частинками в газі.

Залежність сили струму в газовому середовищі від напруги між двома електродами в загальному випадку складається з трьох ділянок. Розглянемо рис.4.6.

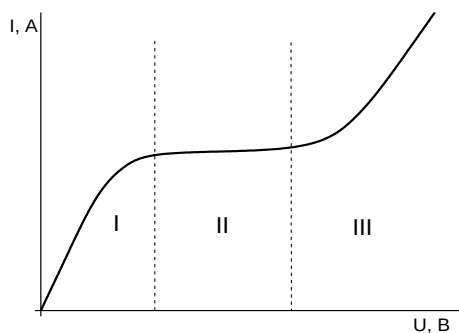


Рис. 4.6. Вплив напруги на силу струму в газовому середовищі

На ділянці I має місце *неповний збір заряджених частинок* і значна частина їх встигає рекомбінуватися. При постійній швидкості утворення і рекомбінації заряджених частинок в детекторі і постійній напрузі струм детектора визначається швидкістю переносу заряджених частинок у напрямку поля. Швидкість зарядів у напрямку поля характеризується *рухливістю*, яка чисельно дорівнює швидкості, яку набуває заряд в полі напруженістю 1 В/см. Рухливість пропорційна величині заряду і зворотно пропорційна масі частинки.

Якщо введення досліджуваної речовини викликає збільшення рекомбінацій або суттєве зменшення рухливості, струм детектора спадає, і це зменшення струму реєструється як пік речовини. Так працює електронезахоплювальний детектор. Іонізація газу-носія в цьому детекторі призводить до утворення позитивно заряджених іонів і електронів малої енергії. Майже весь струм переноситься електронами, бо їх рухливість завдяки малій масі на 3 порядки вище за рухливість іонів.

При введенні в детектор речовин що мають велику спорідненість до електронів, повільні електрони захоплюються ними з утворенням від'ємних іонів. При цьому зменшується густина заряджених частинок, струм падає.

Такий процес може бути реалізований тільки при малій напруженості поля детектора, коли енергія електронів невелика і вони доступні для захоплення, а значна частина іонів встигає рекомбінувати, не досягнувши електродів. Фоновий струм детектора має бути досить високим, щоб його зменшення було різким і знаходилося в діапазоні струмів, доступних для

вимірювання електрометром. В ланцюгу детекторів, що працюють на ділянці 1, напруга має бути стабільною.

За ділянкою неповного збору знаходиться ділянка 2, для якої є характерною *відсутність* рекомбінацій і *повний збір* всіх утворених зарядів. В цьому випадку іонний струм визначається тільки *швидкістю утворення зарядів*. Сигналом детекторів, які працюють на ділянці 2, є збільшення сили струму, яка викликана значним зростанням швидкості утворення заряджених частинок внаслідок іонізації досліджуваних компонентів. Саме так працює ППД. В ньому водневе полум'я є джерелом іонізації органічних сполук, при цьому струм насичення зростає пропорційно кількості речовини.

Детектори, що працюють в діапазоні насичення, найзручніші, оскільки їхній сигнал не залежить від напруги в широкому діапазоні другої ділянки, а також не залежить від рухливості і рекомбінації заряджених частинок. Окрім того при малому фоні струму легше досягти його стабільності, що дозволяє працювати в діапазоні вимірювання малих сигналів.

На ділянці 3 при високій напруженості поля насичення зростає за рахунок *розмноження зарядів* при введенні в детектор досліджуваних речовин. Так працюють аргоновий і гелієвий іонізаційні детектори. Тут при іонізації газу-носія забезпечується стала швидкість утворення зарядів: $A \rightarrow A^+ + e$. Звільнені електрони малої енергії розганяються сильним полем і при зіткненні з атомами газу-носія надають їм енергію, що переводить їх у збуджений стан: $A + e \rightarrow A^* + e$.

Повний збір іонів, що виникає в результаті первинної іонізації газу-носія, створює фоновий струм. Вірогідність переходу збуджених атомів газу в початковий енергетичний стан значно збільшується при введенні в детектор речовин, які мають близькі або менші потенціали іонізації, ніж енергія збудженого стану: $A^* + M \rightarrow A + M^+ + e$, утворені внаслідок вторинної іонізації заряди створюють додатковий струм, що є сигналом детектора на введену кількість речовини.

4.4. ПРИНЦИП РОБОТИ ДЕТЕКТОРІВ

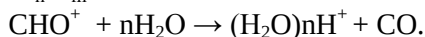
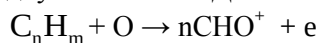
4.4.1. Полуменево-іонізаційний детектор

Дія полуменево-іонізаційного детектора (ПІД) ґрунтується на іонізації молекул органічних сполук у полум'ї водню.

Принцип роботи

Схема детектора показана на рис.4.7.

Потік газу-носія з колонки, змішаний з допоміжним газом, вносить компоненти суміші в пальник детектора. У пальнику полум'я з'являється і підтримується внаслідок горіння суміші водню і кисню. Пальник є одним з електродів. У форсунці пальника відбувається термічна деструкція молекул. Окиснення продуктів деструкції супроводжується хемііонізацією, при якій вся енергія хімічної реакції окиснення направлена на іонізацію. Рівняння процесів, що відбуваються в ПІД:



Додатно заряджені іони H_3O^+ під дією постійної напруги рухаються до колектора, що розташований над пальником детектора. За відсутності компонентів проби число утворюваних у полум'ї іонів мале. Сила струму мала - порядку 10^{-12} - 10^{-11} А. При потраплянні у детектор органічних речовин, їхнє окиснення призводить до збільшення кількості іонів, що призводить до зростання сили струму до 10^{-7} А.

Струм реєструється електрометром, сигнал перетворюється у цифровий вигляд і направляється до системи керування приладом.

Селективність та чутливість

ПІД не детектує воду, неорганічні сполуки, інертні гази, водень. Хоча детектор не реагує на воду, домішки парів води знижують його чутливість. Це пов'язують зі зменшенням температури полум'я внаслідок збільшення теплоємності газу. Крім того, за присутності парів води утворюються гідратовані іони гідроксонію, які через свою малу рухливість можуть не досягати колекторного електрода.

Чутливість ПІД пропорційна числу атомів карбону в молекулі.

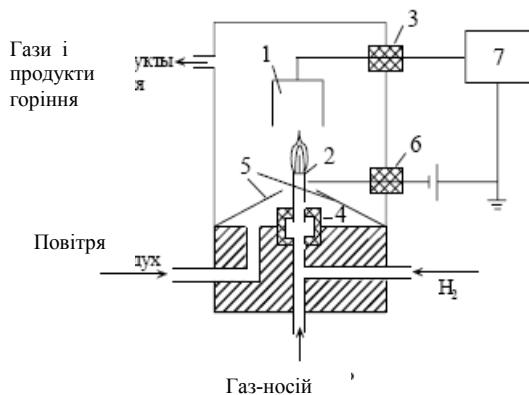


Рис.4.7. Схема полуменево-іонізаційного детектора

- 1 – колекторний електрод, 2 – палильник, 3 – ізолятор колекторного електроду, 4 – ізолятор палильника, 5 – дифузор, 6 – ізолятор електропостачання, 7 – електрометр

Молярну чутливість до багатьох органічних речовин можна характеризувати за допомогою *ефективного карбонового числа (ЕКЧ)*. ЕКЧ показує, скільки атомів карбону містить лінійний алкан, який відповідає за чутливістю досліджуваній речовині. Внесок кожного карбонового числа в ЕКЧ залежить від його зв'язку з атомами карбону, гідрогену, кисню, хлору тощо. Внесок в ЕКЧ будь-якого атома карбону в молекулі алкану прийнятий рівним одиниці. Нижче наведені ЕКЧ атомів карбону, кисню і хлора залежно від характеру зв'язку:

Атом	Тип сполуки	Внесок в ЕКЧ
C	Аліфатичні	1,0
C	Ароматичні	1,0
C	Олефінові	0,95
C	Ацетиленові	1,30
C	Карбонільні	0,0
C	Нітрильні	0,3
O	Ефірні	-1,0
O	Первинний спирт	-0,6
O	Вторинний спирт	-0,75
O	Третинний спирт	-0,25
Cl	Два або більше на один аліфатичний C	-0,12 (на атом)
Cl	На один олефіновий C	0,05

Важливо, що чутливість ПД до розгалужених вуглеводнів вище, ніж до їхніх лінійних ізомерів. Тому ПД доцільно застосовувати при дослідженні нафтопродуктів.

Межа детектування для ПД є проміжною серед сучасних детекторів і може досягати 10^{-9} мг/с.

Особливістю ПД є широкий лінійний діапазон визначення 10^6 - 10^7 .

Умови роботи ПД

Розрізняють два типи ПД: оптимізований для капілярних колонок і універсальний, що придатний і для набивних, і для капілярних колонок.

Найбільша чутливість і стабільність роботи ПД досягаються при надлишку кисню, тому створюють такі співвідношення швидкостей потоків газів: $\text{He} : \text{H}_2 : \text{O}_2 = 1 : 1 : 10$.

Температура детектора під час роботи має бути приблизно на 20°C вища за максимальну температуру термостата. При температурі менше 150°C для запобігання пошкодження детектора через конденсацію водяних парів запобіжник блокує запалювання полум'я.

Окрім цього ПД відключається, якщо:

- перекриті потоки водню або повітря.
- спроба автоматичного запалювання виявилася невдалою.

Фактично відключаються всі гази, що забезпечують існування полум'я. Проте, нагрівання детектору і подача допоміжного газу при цьому не припиняється.

З метою безпечної роботи передбачається наявність мінімального *фонового сигналу* (зазвичай 2 пА), який свідчить, що полум'я горить. Якщо сигнал зменшується, вважається, що полум'я згасло і відбуваються дві спроби його запалювання.

Обслуговування ПД

На пальнику детектора внаслідок роботи утворюється нагар. Він знижує чутливість детектора і призводить до виникнення шумів нульової лінії. Отже пальник треба періодично чистити або замінювати на новий.

Колекторний електрод теж треба періодично чистити. Рекомендовано застосовувати ультразвукову ванну. Часто достатньо протерти електрод нейловою щіткою й продути стиснутим повітрям або азотом для видалення забруднюючих частинок.

Додатки. ПІД у сполученні з метанізатором використовується для визначення слідових кількостей СО и СО₂. Проба після хроматографічної колонки з потоком газу-носія проходить через спеціальний пристрій – метанізатор, що містить нікелевий каталізатор, куди подається водень. СО и СО₂ перетворюються в СН₄. Утворений СН₄ реєструється за допомогою ПІД, який більш чутливий аніж детектор по теплопровідності.

Увага!

Водень – це вибухонебезпечний газ. Балон з воднем слід тримати поза приміщенням. Слідкуйте за герметичністю водневої лінії. Після роботи слід закрити вхідний вентиль балона з воднем.

4.4.2. Термоіонний детектор (азот-фосфорний)

Дія термоіонного детектора ґрунтується на збільшенні іонізації солей лужних металів у полум'ї водню при потраплянні до нього деяких елементорганічних сполук.

Принцип роботи

Схема детектора зображена на рис.4.8.

Процеси іонізації в ТІД на відміну від ПІД відбуваються безпосередньо у полум'ї. При введенні нейтральних молекул солі лужного металу в полум'я відбувається їх термічна дисоціація за схемою:

$\text{MX} \rightarrow \text{M} + \text{X}$ і наступна іонізація: $\text{M} \rightarrow \text{M}^+ + \text{e}$, в результаті чого різко збільшується фоновий струм.

Лімітуючим процесом в такому механізмі є швидкість введення у водневе полум'я парів солі лужного металу.

Лужна сіль (K, Na, Rb, Cs) поміщається у вигляді таблетки або нанесена на зручний тримач. Тримач виготовлений з пористого металу або кераміки у вигляді спіралі, сітки або петлі. Він може нагріватися або полум'ям або електричним струмом.

Потенціали іонізації лужних металів в полум'ї в 2-4 рази менші за потенціали іонізації органічних речовин. Тому органічні сполуки у полум'ї у присутності атомів лужних металів слабо іонізуються. Але молекули речовин, що містять деякі гетероатоми, у водневому полум'ї руйнуються специфічно, утворюючи радикали:

$P R \rightarrow P^*$, де P: N, Hal, S,

Взаємодія таких радикалів із зарядженими комплексами солей лужних металів призводить до різкого збільшення швидкості утворення носіїв заряду, що призводить до суттєвого зростання іонного струму детектора.

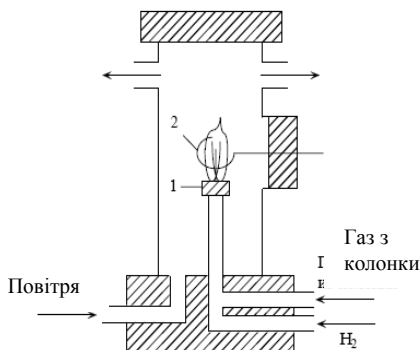


Рис. 4.8. Схема термоіонного детектора
1 – сольове джерело, 2 – колекторний електрод

Селективність і чутливість

Чутливість ТІД залежить від:

- геометрії комірки,
- природи солі лужного металу,
- швидкості потоків газів,
- температури детектора,
- напруги,
- відстані між електродами.

ТІД проявляє високу чутливість і селективність до сполук фосфору, азоту, арсену, галогенів, стануму і сірки. Співвідношення чутливості до As, Cl, S, N, P складає 1:10:50:50:1000.

Межа виявлення для ТІД складає $(1-5) \cdot 10^{-9}$ мг/с. Лінійний діапазон становить 10^3-10^4 .

4.4.3. Електроно-захоплювальний детектор

Дія електрон-захоплювального детектора (ЕЗД) ґрунтується на захопленні електронів молекулами.

Цей детектор селективний до речовин, що мають спорідненість до електронів: галоген-, кисне-, азотвмісних, металоорганічних.

Залежно від конструкції ЕЗД бувають концентраційними або потоковими.

Принцип роботи

В камеру поміщається радіоактивне джерело β -частинок. Джерела β -частинок - тритій (H^3) або нікель (Ni^{63}). Тритієм насичують шар титану, нанесений на підложку з молібдену. Шар нікелю наноситься на мідну підложку.

Як газ-носії використовують азот, аргон, гелій, здатні іонізуватися під дією радіоактивного джерела. Іонізація відбувається за таким рівнянням:



Напруга накладається такої величини, щоб уповільнювався рух електронів. Фоновий струм формується електронами, рухливість яких на три порядки вища за рухливість іонів. Поява молекул, які можуть захоплювати електрони, призводить до зменшення концентрації електронів.



Хоча в результаті цього процесу загальна кількість заряджених частинок (e , M^-) в камері не змінюється, ефективна рухливість зв'язаних електронів різко падає і вони не беруть участі в переносі струму. Від'ємні іони легко рекомбінують з іонами азоту:

$\text{M}^- + \text{N}_2^+ \rightarrow \text{M} + \text{N}_2$, що вносить додатковий внесок в зменшення струму детектора.

Чутливість

Основною проблемою в досягненні низької межі виявлення при роботі з ЕЗД є великий рівень шуму, пов'язаний зі значним фоновим струмом детектора. Цей фоновий струм з'являється через високу концентрацію вільних електронів. Рівень фонового струму становить $(1-5) \cdot 10^{-9}$ А, а рівень шуму - 10^{-13} А. Межа виявлення на рівні $5 \cdot 10^{-10}$ - 10^{-11} мг/мл.

Недоліком ЕЗД є вузький лінійний діапазон. Обмеження діапазону зверху пов'язано з принципом детектування: корисний сигнал детектора припиняє змінюватися, починаючи з такої кількості речовини, яка здатна зв'язати електрони, які утворюються в детекторі. Лінійний діапазон становить 10^3 .

Для зменшення інерційності детектора використовують допоміжний газ, який не тільки зберігає ефективний чутливий об'єм детектора, збільшуючи швидкість проходження



досліджуваних речовин, але й сприяє досягненню максимальної чутливості без зростання швидкості через колонку.

Вибір газу-носія

Для ЕЗД природа газу-носія впливає на чутливість через різну рухливість електронів, їх поглинання та іонізацію молекул.

Надається перевага використанню азоту. При використанні гелію чутливість визначення нижче. Саме в азоті та гелії енергія електронів змінюється в широких межах, що забезпечує сприятливі умови для їх захоплення.

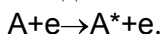
Вплив температури

Збільшення температури призводить до зменшення густини газів, збільшення довжини вільного пробігу електронів і іонів. Це полегшує збір зарядів і збільшує крутизну вольтамперної характеристики (див. рис.4,6).

Чутливість детектування ЕЗД залежить від температури неоднозначно. Може збільшуватися і зменшуватися з підйомом температури. Залежність чутливості ЕЗД від температури може мати й екстремальний характер.

4.4.4. Аргоновий іонізаційний детектор

В цьому детекторі як газ-носії використовуюється аргон. В детекторі при високій напрузі на ділянці розмноження зарядів відбувається іонізація молекул газу (див. рис.4.6). Вільні електрони, що з'являються при іонізації газу $A \rightarrow A^+ + e$, пришвидшуються в прикладеному електричному полі камери і взаємодіють з не збудженими молекулами газу-носія:



При цьому відбувається збудження молекули з втратою електроном частини енергії. Збуджені молекули випромінюють кванти енергії (люмінесценція) або передають коливальну енергію атомним ядрам.

Деякі молекули переходять в метастабільний стан, з якого здатні повернутися у рівноважний тільки при зіткненні з іншою молекулою. Енергія збудження метастабільної молекули передається іншій молекулі, яка може збудитися або іонізуватися: $A^* + M \rightarrow A + M^+ + e$. Для аргону енергія збудження становить 11,6 еВ. Органічні сполуки мають дещо нижчу енергію

іонізації. Тому вони іонізуються при зіткненні з атомами аргону більш ефективно, ніж під дією радіоактивного випромінювання джерела іонізації аргону. Тому джерело існує переважно для іонізації молекул газу-носія, вміст якого значно вищий за вміст аналіту.

Межа виявлення аргонного детектора складає 10^{-11} - 10^{-13} г/с.

4.4.5. Полуменево-фотометричний детектор

Дія полуменево-фотометричного детектора (ПФД) ґрунтується на вимірюванні свічення водневого полум'я при згорянні в ньому фосфор- і сірковмісних сполук.

Принцип роботи

У полум'ї детектора молекули сполук атомізуються, атоми термічно збуджуються і випромінюють його спектр. Емісійне випромінювання потрапляє на світлофільтр, який пропускає лише резонансні лінії Р і S, що реєструються фотоелементом. Свічення атомів фосфору вимірюють при 526, сірки – при 394 нм.

Світлофільтри захищені від дії високої температури полум'я кварцовою або пірексовою трубкою, яку розташовують над пальником. Кварц пропускає емісійне світло, проте термоізолює світлофільтр та фотоелемент.

У ПФД використовують полум'я, збагачене воднем.

Чутливість ПФД

Сигнал збільшується при збільшенні кількості атомів S та Р в молекулі.

Сигнал від Р вмісних речовин пропорційний їх концентрації в потоці газу.

Сигнал від S вмісних речовин пропорційний логарифму потоку речовини.

Чутливість детектора залежить від присутності в полум'ї інших речовин, які можуть гасити сигнал.

Межа виявлення складає:

для Р - 10 пг/с,	лінійний діапазон 10^3 - 10^4 ,
для S - 1 пг/с,	лінійний діапазон 10^2 - 10^3 .

4.4.6. Детектор по теплопровідності (катарометр)

В катарометрі відбувається порівняння питомих теплопровідностей двох газових потоків: чистого газу-носія і газу на виході з хроматографічної колонки.

Принцип роботи

Нитка накаливання детектора знаходиться в атмосфері газу в комірці. Газ має сталу теплопровідність. Нитка має певну температуру, яка підтримується сталою за допомогою електричного струму. За умов сталої швидкості потоку газу-носія напруга, що подається на нитку накаливання, також стала.

Молекули газу отримують тепло від нитки і передають його одна одній доти, поки все тепло, отримане від нитки, перейде до корпусу детектора. Всі молекули, які беруть участь в передачі тепла, повертаються у вихідний стан, тобто газ виходить з детектора з початковою температурою, швидкість газу не впливає на температуру нитки.

При потраплянні в детектор досліджуваної речовини, що має іншу, ніж газ-носії теплопровідність. Кількість тепла, яка відводиться від нитки, змінюється. Це призводить до зміни її температури, і відповідно, опору. Різниця опорів реєструється як сигнал.

Найбільша чутливість спостерігається коли теплопровідність досліджуваної речовини і газу-носія сильно різняться.

Коли як газ-носії використовується гелій (ліпше водень), поява досліджуваних речовин в комірці призводить до падіння питомої теплопровідності, оскільки ці гази мають найвищу теплопровідність. При використанні азоту питома теплопровідність зазвичай зростає, (табл.4.1).

Проте не практиці водень використовують рідше, через його вибухонебезпечність. Гелій – вибухобезпечний, він дорожчий за водень й азот. Обирають частіше гелій або азот.

Оскільки у ДТП речовини не руйнуються, його можна підключати послідовно з ПІД або іншим детектором.

Нитка катарометра може бути виготовлена з вольфраму, рутенію або платини, хімічно пасивовані для захисту від пошкоджень киснем. Однак кислоти, галогеновані сполуки можуть псувати нитку. Безпосереднім проявом такої дії є постійна зміна чутливості детектора внаслідок зміни

опору нитки. Тому, бажано уникати введення таких агресивних компонентів. Або періодично замінювати нитку.

Табл.4.1. Теплопровідність деяких газів

Сполуки	Теплопровідність	
	$\mu \cdot 10^{-3}, \text{Вт/мК}$	%
Газ-носії: гелій водень азот аргон	174,2	100
	223,6	128
	31,4	18,0
	21,8	12,5
етанол	22,2	12,7
гексан	21,0	12,0
бензол	17,2	9,9
ацетон	16,7	9,6
сірководень	15,5	9,0

Чутливість ДТП визначається величиною струму, що проходить через нитку накаливання. Ця залежність є близькою до кубічної. Двократне збільшення сили струму збільшує чутливість у 8-10 разів. Однак надмірне збільшення струму детектора може спричинити перегорання нитки, тому встановлена гранична межа струму для різних газів і за різних температур детектора.

Чим більша теплопровідність газу-носія, тим більше він охолоджує нитку, і тим більший струм можна вмикати.

При збільшенні температури детектора величина граничного струму знижується, це призводить до зменшення чутливості. Найбільша чутливість досягається за відсутності нагрівання корпусу і при величині граничного струму.

Детектор працює у двох температурних діапазонах. Для першого (від 150 до 200°C) досягається найвища стабільність, для другого (> 200°C) – найбільша чутливість.

Для нормальної роботи електроніки детектора газ порівняння і додатковий газ мають бути таким ж самими, як і газ-носії, і тип газу має бути заданий в таблицях керування детектором. При використанні набивних колонок для отримання гарної форми піків рекомендовано працювати з малими потоками додаткового газу.

Схеми ДТП можуть бути однокоміркові і двокоміркові.

Двокоміркова схема

Через одну комірку протікає постійно газ-носіє, через другу – газ з колонки.

Коли температура ниток і, як наслідок, опір R_1 і R_2 однакові, міст збалансований і на їх реєструючий прилад подається нульовий сигнал.

При проходженні через робочу комірку досліджуваної речовини опір R_2 змінюється, тоді як величина R_1 залишається початковою. Схема моста при цьому виходить з рівноваги і між комірками виникає різниця потенціалів, яка реєструється як сигнал потенціометра.

Одна комірка

Через комірку, в якій знаходиться нитка накаливання почергово пропускають потоки газу-носія і газу з колонки, при цьому температура нитки підтримується сталою. При введенні в комірку нової речовини потужність, необхідна для підтримування сталою температури нитки, змінюється. Зміна потужності вимірюється і реєструється. Потоки газів, що проходять через комірку, переключаються п'ять разів за секунду.

Обслуговування

Забруднення стінок детектора може відбуватися в результаті осадження фази колонки або досліджуваних речовин. Ознаками забруднення є дрейф нульової лінії, збільшений рівень шуму або зміна інтенсивності піків на хроматограмі контрольного розчину. ДТП очищають випалюванням. Для цього піднімають температуру нитки накаливання до 400°C і продувають газом-носієм.

Щоб уникнути необоротного руйнування нитки накаливання через потрапляння кисню в детектор, необхідно:

- а) вимкнути детектор;
- б) від'єднати колонку від детектора і закрити вхід детектора;
- в) налаштувати потік газу-носія в межах 20-30 мл/хв;
- г) виставити температуру детектора рівною 400°C .

Термічне очищення проводять декілька годин, після цього охолоджують систему до нормальної робочої температури.

Контрольні запитання

1. Для чого призначений детектор в хроматографічній системі?
2. На які типи поділяють детектори за селективністю, за способом вимірювання сигналу?
3. Який величині пропорційний сигнал потокового детектора?
4. Який величині пропорційний сигнал концентраційного детектора?
5. Назвіть ознаки потокового детектора (природа молекули, величина сигналу у замкненому об'ємі, одиниці виміру межі виявлення).
6. Чи залежить величина сигналу потокового детектора від швидкості потоку газу-носія?
7. Назвіть ознаки концентраційного детектора (вплив на молекулу, величина сигналу у замкненому об'ємі, одиниці виміру межі виявлення).
8. Чи залежить величина сигналу концентраційного детектора від швидкості потоку газу-носія?
9. Назвіть важливі для аналізу характеристиками детектора.
10. Що відображає нульова лінія?
11. Від чого залежить аналітичний сигнал фону?
12. Назвіть причини, що викликають відхилення нульової лінії від її середньої величини.
13. Який шум називають високочастотним?
14. Який шум називають низькочастотним?
15. Які зміщення нульової лінії називають дрейфом? Чим викликається дрейф?
16. Що таке межа виявлення, від чого вона залежить, як її можна обчислити?
17. Що називають чутливістю детектора?
18. Як можна обчислити чутливість потового, концентраційного детектора?
19. Чи залежить межа виявлення від чутливості детектора?
20. В якому випадку межа виявлення детектора з меншою чутливістю може бути меншою за межу виявлення детектора з більшою чутливістю?
21. Яку величину називають межею кількісного визначення?
22. Що таке верхня межа лінійності детектора?
23. Що таке час відгуку детектора, чим він обумовлений?

24. Що називають сталою часу?
25. Що означає селективність детектора?
26. Чи впливає висока селективність детектора на його чутливість?
27. Опишіть принцип виникнення сигналу в іонізаційних детекторах.
28. Чим визначається сила струму за відсутності рекомбінації зарядів?
29. Чим визначається сила струму при високій напруженості поля?
30. Опишіть принцип роботи полуменево-іонізаційного детектора.
31. Які речовини не детектуються ППДом і чому?
32. Який сигнал в ППД?
33. В якій частині полум'я відбувається деструкція молекул в ППД?
34. Які частинки створюють іонний струм в ППД?
35. Які гази використовують в ППД?
36. Від яких параметрів залежить чутливість ППД?
37. Опишіть принцип роботи термоіонного детектора.
38. Які речовини детектуються ТПДом?
39. Який сигнал в ТПД?
40. В якій частині полум'я відбувається деструкція молекул в ТПД?
41. Які частинки створюють іонний струм в ТПД?
42. Які гази використовують в ТПД?
43. Від яких параметрів залежить чутливість ТПД?
44. Опишіть принцип роботи електронно-захоплювального детектора.
45. Який сигнал в ЕЗД?
46. Які речовини детектуються ЕЗДом і чому?
47. Які гази використовують в ЕЗД?
48. Для чого потрібен піддувочний газ?
49. Від яких параметрів залежить чутливість ППД?
50. Порівняйте для ППД і ЕЗД: а) лінійний діапазон, б) чутливість до хлорвмісних сполук.
51. Опишіть принцип роботи детектора по теплопровідності.
52. Який сигнал в ДТП?
53. Які речовини детектуються ДТП?
54. Від чого залежить чутливість визначення у ДТП?
55. Які гази використовують в ДТП?
56. За яких температур ліпше працює ДТП?
57. Які обмеження існують для нитки ДТП?
58. Опишіть принцип роботи полуменево-фотометричного детектора.
59. Який сигнал в ПФД?

60. Які речовини детектуються ПФДом?
61. Які гази використовують у ПФД?
62. Від яких параметрів залежить чутливість ПФД?
63. Опишіть принцип роботи аргонного детектора.
64. Який сигнал в аргонному детекторі?
65. Які речовини детектуються аргонним детектором?
66. Які гази використовують в аргонному детекторі?
67. Від яких параметрів залежить чутливість аргонного детектора?
68. Назвіть послідовність підключення і доцільність використання двох з запропонованих детекторів в одній системі: ПІД, ДТП, ТІД, ЕЗД, ПФД.

5. ЯКІСНИЙ АНАЛІЗ У ГАЗОВІЙ ХРОМАТОГРАФІЇ

5.1. ЗАВДАННЯ ТА ПРИЙОМИ ЯКІСНОГО АНАЛІЗУ

При виконанні якісного аналізу перед аналітиком можуть стояти такі задачі.

- Аналіз суміші, склад якої відомий. Для виконання такої задачі в лабораторії мають бути стандартні речовини (речовини-еталони).
- Підтвердити наявність в пробі речовини.
- Провести аналіз суміші невідомого походження.
- Підтвердити відсутність в пробі певної речовини - визначити сортність продуктів.

Для встановлення правильності одержаних внаслідок хроматографування результатів необхідно порівнювати їх з даними інших аналітичних методів.

Основні експериментальні прийоми якісного газохроматографічного аналізу такі:

1. Вимірювання параметрів утримування сполук різними нерухомими фазами.
2. Співставлення сигналів відгуку детекторів різного принципу дії (універсальних і селективних).
3. Реєстрація мас-спектрів або ІЧ-спектрів речовин на виході з колонки з метою визначення молекулярної структури визначуваних сполук.
4. Проведення хімічних реакцій одночасно і паралельно з процесом розділення з метою отримання характерних похідних досліджуваних речовин, забарвлених сполук тощо.

5.2. СПОСОБИ ПРОВЕДЕННЯ ЯКІСНОГО АНАЛІЗУ (ІДЕНТИФІКАЦІЇ)

У газовій хроматографії найчастіше речовини ідентифікують за такими показниками:

- час утримування і виправлений час утримування;
- індекси утримування.

Параметри утримування залежать від таких факторів:

- склад, структура поверхні і кількість нерухомої фази,
- умови проведення дослідів: температура, швидкість,
- конструкційні особливості апаратури - мертвий час (t_0),
- величина дози (перевантаження),
- природа газу-носія.

З наведених факторів впливає, що *джерелами похибок при вимірюванні параметрів утримування* можуть бути:

1. Нестабільність температурного режиму колонки, випарника або швидкості потоку.
2. Перевищення ємності колонки.
3. Несинхронність введення проби у випарник і натискання кнопки “Старт”.

Для вимірювання t_R з похибкою меншою 1%, необхідно підтримувати задану температуру сталою в межах $\pm 0,1^\circ\text{C}$ і витрати газу-носія з похибкою, що не перевищує $\pm 0,5\%$.

Для проведення ідентифікації отримують в однакових умовах хроматограми досліджуваної суміші і стандарту (еталону). Обчислюють часи утримування окремих компонентів і порівнюють їх з часами утримування стандартних речовин (еталонів). Співпадіння часів утримування свідчить про однакову природу досліджуваної речовини та еталону, тобто про те, що це одна й та сама речовина.

Система індексів утримування.

Індекси утримування Ковача. Для ідентифікації органічних сполук використовують *індекси утримування Ковача*, введені в практику аналізу Ковачем в 1958 р. Експериментально було встановлено, що в разі елювання гомологічного ряду насичених ациклічних вуглеводнів (алканів) спостерігається лінійна залежність між $\lg t'_R$ та числом атомів Карбону в молекулах алканів. Запропоновано вважати, що для алканів індекс

утримування дорівнює числу атомів Карбону в молекулі алкану, помноженому на коефіцієнт 100. Наприклад, індекси утримування метану, етану, пропану дорівнюють відповідно 100, 200, 300.

За системою Ковача будь-якій сполуці ставиться у відповідність гіпотетичний вуглеводень нормальної будови, що має аналогічні хроматографічні властивості і містить деяке проміжне число атомів Карбону. Індекс утримування Ковача для невідомої речовини x обчислюють за формулою

$$I = 100n + 100 \frac{\lg t'_{R(x)} - \lg t'_{R(n)}}{\lg t'_{R(n+1)} - \lg t'_{R(n)}} \quad (4.1),$$

де n – число атомів Карбону в молекулі алкану; $t'_{R(n)}$ та $t'_{R(n+1)}$ – виправлений час утримування алканів з відповідним числом атомів Карбону; $t'_{R(x)}$ – виправлений час утримування невідомої речовини x .

Для визначення I треба дотримуватись умови $t'_{R(n)} < t'_{R(x)} < t'_{R(n+1)}$.

Розрахований індекс утримування зіставляють з відповідними даними, наведеними в довідковій літературі, і в такий спосіб установлюють природу невідомої речовини x .

Проведення логарифмічної, а не лінійної інтерполяції пояснюється тим, що в умовах *ізотермічної* газової хроматографії виправлені часи утримування збільшуються експоненціально зі збільшенням числа атомів Карбону в молекулі вуглеводню.

Індекс утримування Ковача *не залежить від розмірів хроматографічної колонки, розміру зерен (товщини плівки) сорбенту, щільності їх упакування та швидкості потоку рухомої фази*. На його величину впливають хімічна природа адсорбенту і температура хроматографування. Тому завжди записують $I_t^{H\Phi}$ – індекс утримування Ковача на певній нерухомій фазі при певній температурі.

Джерела похибок при вимірюванні індексів Ковача:

- низька ефективність колонки;
- похибки вимірювання t_0 ;
- зміна складу нерухомої фази;
- температурні флуктуації, змінні витрати газу.

Лінійні індекси утримування. При аналізі сумішей, що містять компоненти з широким діапазоном температур кипіння, застосовують *програмування температури*. При лінійному програмуванні температури

часи утримування збільшуються лінійно зі збільшенням числа атомів Карбону в молекулі вуглеводню. Були запропоновані лінійні індекси утримування *Ван дер Дул і Кратц*. Розрахунок лінійних індексів простіший, ніж індексів Ковача. Проводиться за формулою:

$$I = 100n + 100 \frac{t_{R(x)} - t_{R(n)}}{t_{R(n+1)} - t_{R(n)}} \quad (4.2).$$

Лінійна залежність також існує між $\lg t'_R$ членів гомологічного ряду та їх температурою кипіння ($T_{\text{кип}}$) або $T_{\text{кип}}/T_K$:

$$\lg t'_R = a + b \cdot T_{\text{кип}}, \quad (4.3)$$

$$\lg t'_R = a + b \cdot T_{\text{кип}}/T_K, \quad (4.4)$$

де a, b – емпіричні коефіцієнти; T_K – температура колонки.

Ідентифікація за допомогою еталонів (метод мітки, індивідуальних речовин). Згідно з цим методом ідентифікацію можна проводити двома прийомами.

Спосіб 1. Час утримування кожного піка хроматограми досліджуваної суміші порівнюють з параметрами піків речовин-еталонів, хроматограми яких отримують за тих самих умов, але окремо. Як еталони беруть речовини, присутність яких передбачається у складі досліджуваної суміші. За умови рівності параметрів утримування речовини-еталона і досліджуваного компонента роблять висновок про можливість ідентичності цих речовин.

Спосіб 2. Речовину-еталон вводять у досліджувану суміш. Якщо висота відповідного піка збільшується і він не розширюється, то природа визначуваного компонента ідентична речовині-еталону. Якщо ж на хроматограмі досліджуваної суміші спостерігається зміна ширини на половині висоти піка або виникає новий пік, то введено еталон іншої природи.

Для підтвердження наявності чи відсутності досліджуваного компонента у суміші аналіз проводять не на одній колонці, а на *трьох колонках*, заповнених сорбентами з різною полярністю. Якщо на всіх трьох сорбентах підтверджується наявність і рівність параметрів утримування визначуваного компонента та речовини-еталона, то це вже досить переконливо свідчить про наявність саме цього компонента у суміші.

Еталонний метод ідентифікації речовин часто застосовують у хімічній технології, фармацевтиці, коли треба перевірити чистоту розчинника, підтвердити достеменність сировини, визначити наявність одного-двох компонентів у складній суміші.

5.3. БАГАТОМІРНА ХРОМАТОГРАФІЯ

Для встановлення складу багатокомпонентної суміші застосовують *багатомірну хроматографію*.

Використання багатомірної хроматографії дозволяє оптимізувати вибірковість системи, ємність колонок і тривалість аналізу завдяки сполученню колонок з різними нерухомими фазами. При цьому за мінімальний час можна досягти максимального розділення компонентів, що містяться у різних кількостях.

Спочатку розвинулася багатомірна тонкошарова хроматографія, потім досліджували можливість виконання багатомірної колонкової хроматографії.

У загальному, у двомірній хроматографії фракції, що мають різний хімічний тип, молекулярні маси або леткість, "вирізаються" з потоку елюату з первинної колонки і вводяться у допоміжну колонку, яка містить іншу нерухому фазу, для більш детального аналізу.

Почали застосовувати двомірну ГХ у 1960х роках.

У разі використання однакової рухомої фази, фракції можуть бути направлені з однієї колонки до іншої шляхом зміни тиску. Такий підхід запропонований Дінсом у 1968 р.

У разі використання різних рухомих фаз (у ВЕРХ), застосовують вентилі і спеціальні заходи для усування великого об'єму рідини.

Двомірну ГХ застосовують для оптимізації хроматографічної системи у двох напрямках: 1) збільшення роздільної здатності хроматографічної системи, 2) збільшення швидкості аналізу хроматографічної системи.

Збільшення роздільної здатності хроматографічної системи. Індивідуальні ГХ капілярні колонки можуть мати досить високу ефективність ($N=10^6$) і роздільну здатність. Але навіть такі колонки не здатні впоратися з повним розділенням такої складної суміш, як, наприклад, бензин.

Аналітик може оптимізувати розділення, обираючи довгі колонки з малим внутрішнім діаметром, що збільшує тривалість розділення, або використавши двомірну ГХ.

Збільшення швидкості розділення. Двомірну ГХ застосовують, коли треба аналізувати один або обмежену кількість цільових компонентів суміші. У такому разі первинна колонка розділяє суміш на фракції, а не на окремі компоненти.

Проста схема двомірної хроматографії зображена на рис.5.1. Пробу вводять у первинну колонку, де відбувається перше розділення. Потік елюату з первинної колонки зазвичай направляють в детектор 1 для контролю, а частина потоку або декілька частин можуть бути «вирізані» і направлені у вторинну колонку, де відбувається друге розділення. Елюат з вторинної колонки потрапляє в детектор 2. Направлення потоку з колонки на колонку відбувається за рахунок зміни тиску за допомогою механічного вентиля-перемикача. Такий перемикач був запропонований Дінсом у 1968 р.

Для розширення меж застосування двомірної ГХ використовують пастки для зберігання фракцій елюату з первинної колонки або паралельні вторинні колонки.

Переваги двомірної ГХ

Тривалість. Для досягнення достатнього розділення складної суміші на одній вискоефективній колонці, треба щоб колонка була достатньо довгою. Це призводить до великої тривалості розділення. У двомірному варіанті необхідна роздільна здатність досягається за менший час.

Кількість проби. При високому вмісті матриці і малому вмісті цільових компонентів проби, одна колонка перевантажується. А при застосуванні режиму введення з діленням потоку звужується динамічний діапазон, тобто речовини з малим вміст вже не відчувуються. У такому випадку двомірність дозволяє фракціонувати пробу на первинній колонці, або використовувати колонки з більшим внутрішнім діаметром, при цьому використання двох колонок дозволяє досягти достатньої роздільної здатності.

Отже використання двомірної ГХ дозволяє спростити процедуру підготовки проби і скоротити тривалість аналізу складних сумішей.

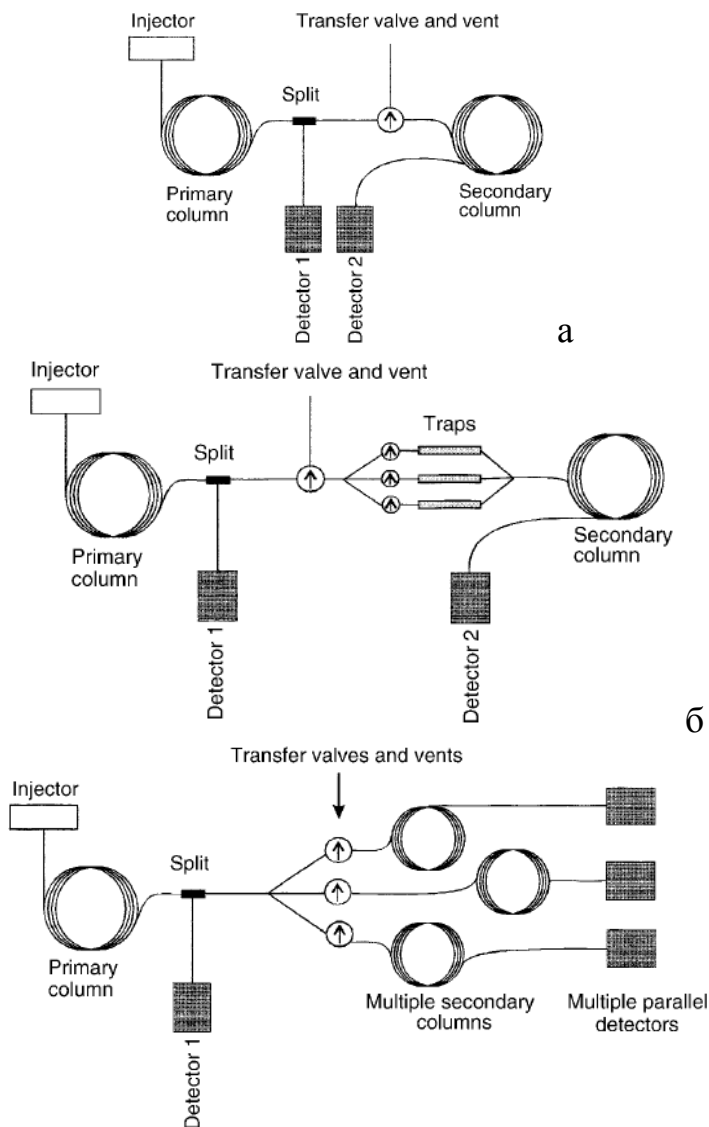


Рис.5.1. Двомірна газова хроматографія:

- а) одиничне вирізання смуги потоку елюату; б) вирізання смуг потоку елюата з переносом у пастки;
в) вирізання смуг потоку елюату з переносом у вторинні колонки.

5.4. ХІМІЧНІ МЕТОДИ ДЛЯ ПОПЕРЕДНЬОЇ ПІДГОТОВКИ ПРОБ У ГХ

Для розширення області застосування газової хроматографії використовують хімічні перетворення нелетких сполук у леткі, нестійких у стабільні. Методи хімічного отримання летких похідних (ХОЛП) нелетких органічних сполук широко використовуються у хроматографічній практиці. У 1953 році вперше запропонували перетворювати термічно нестійкі жирні кислоти складу C_{12} - C_{22} у леткі метилові ефіри для їх газохроматографічного розділення. Використання методів ХОЛП дозволяє також проводити газохроматографічний аналіз полімерів.

Відомі наразі **способи хімічних перетворень** полярних і термічно нестійких сполук поділяють на дві групи: 1) захист функціональних груп, 2) перетворення функціональних груп в неактивну форму або їхнє відщеплення.

Позитивними особливостями методів ХОЛП є:

- 1) розширення меж використання газової хроматографії.
- 2) покращення розділення сполук, яке відбувається через те, що індивідуальні відмінності в утворених похідних проявляються більш помітно, ніж у вихідних сполук.
- 3) покращення кількісних характеристик визначень відбувається через покращення симетрії піків внаслідок перетворення активних груп, що обумовлюють необоротну адсорбцію сполук, в неактивні або слабоактивні групи у похідних.

- 4) збільшення чутливості детектора до похідних.

Методам ХОЛП притаманні і певні недоліки. До аналітичної методики додається додаткова операція, яка потребує затрат часу, реактивів і додаткового обладнання, і яка може бути джерелом додаткових помилок. Тому при розробці нових методик треба приділяти увагу перевірці кількісного виходу реакцій отримання похідних і відтворюваності методики. Досвід, накопичений по методам ХОЛП, дозволяє фірмам випускати комерційні стандартні реактиви для ХОЛП.

У якості приклада використання ХОЛП можна навести отримання похідних в аналізі фосфатів. Це було досить складним завданням. Як реактор використовували пристрій для піролізу фірми Hamilton. В цей пристрій поміщали скляну трубку $80\text{ мм} \times 3\text{ мм}$ і проводили в ній реакцію. Шприцем у трубку вводили 5 мкл розчину проби у формі амонійної солі або кислоти. Після висушування проби при 80°C протягом 3 хв у трубку при кімнатній температурі вводили 80 мкл розчину N,O -бис(триметилсилил) трифторацетамиду + 1%

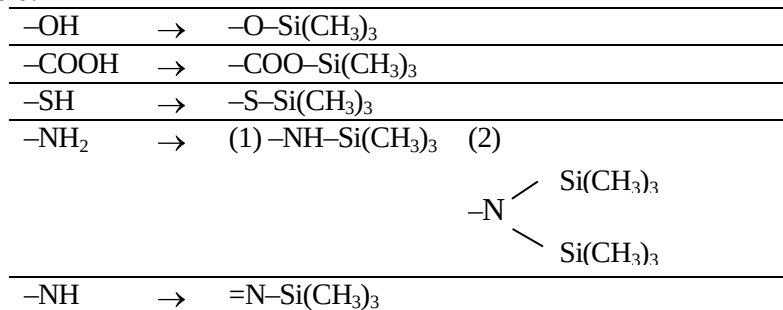
триметилхлорсилану і проводили реакцію при 80°C за відсутності газа-носія. Далі при 45°C відкремлювали продукти, що не прореагували, від триметилсилілфосфата (TMC)₃PO₄, який вводили у хроматографічну колонку при нагріванні до 140°C. Точність визначення складала ±7%. Такий спосіб можна використати і для аналізу органічних кислот.

5.4.1. Основні реакції отримання летких похідних для ГХ аналізу

Для активних функціональних груп (карбоксильної, гідроксильної тощо) розроблено по декілька способів отримання стабільних похідних для подальшого ГХ аналізу. Деякі з них наведено далі.

Отримання силільних похідних

Отримання похідних з триметилсилільною групою можна зобразити схемою:

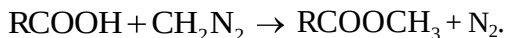


Застосовують різноманітні реагенти, зокрема N-триметилсилілдиетиламін, триметилхлорсилан, диметилхлорсилан.

Отримання складних етерів

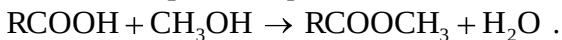
Для захисту карбоксильної групи застосовують реакції з утворенням складних етерів.

Діазометанова реакція протікає по схемі



Цю реакцію проводять у безводному середовищі. Діазометан – речовина вибухонебезпечна, і похідні з ним утворюються протягом відносно тривалого часу.

Метанольна реакція протікає за схемою:



Як каталізатори використовують BF_3 , BCl_3 , HCl або H_2SO_4 .

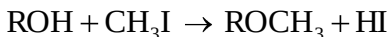
Піролітичний метод. Піроліз тетраметиламонієвих солей при $360\text{--}400^\circ\text{C}$ дозволяє отримати метилові етери жирних кислот:



Розчин утворених солей вводять в інжектор-випарник, нагрітий до $360\text{--}400^\circ\text{C}$.

Отримання естерів

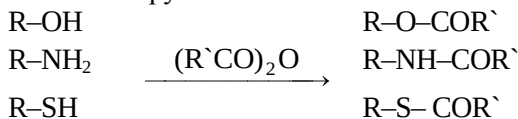
Утворення естерів використовують для захисту гідроксильної групи:



Реакція протікає у присутності оксиду аргентуму у диметилформаміді або в ефірному розчині алкоголята калія *трет*-бутанола.

Отримання ацильних похідних

Отримання ацильних похідних використовують для захисту гідроксильної, аміної і тіольної груп



Похідні неорганічних сполук

Можна використовувати для аналізу хлориди і фториди летких металів.

5.4.2. ГХ аналіз продуктів піролізу

На відміну від реакцій отримання летких похідних піроліз є складною реакцією. Не дивлячись на складність реакції, продукти піролізу відображають склад і будову проби, їх можна використовувати для ГХ аналізу. Аналізувати після піролізу можна високомолекулярні сполуки, неорганічні речовини, мікроорганізми тощо.

Основні етапи ГХ з попереднім піролізом проби:

- 1) підготовка проби.
- 2) проведення піролізу; нагрів до високої температури під дією електричного струму, лазера тощо у умовах азотної або водневої атмосфери.
- 3) ГХ аналіз.
- 4) обробка отриманих результатів за допомогою комп'ютерних програм.

За принципом роботи піролітичні системи можуть бути двох типів: статичні і проточні.

У статичних піролізерах проба нагрівається у закритому об'ємі протягом тривалого часу. Далі всі або частину продуктів піролізу вводять у хроматограф.

У проточних системах проба швидко нагрівається у сталому потоці газу-носія. Леткі продукти піролізу переносяться газом-носієм в колонку.

Недоліком статичних систем є тривалість піролізу, внаслідок чого первинні продукти можуть далі реагувати. По вторинним продуктам реакції важко робити висновки про склад проби.

Недоліком проточних систем є важкість досягнення високої відтворюваності теплового режиму.

Ідентифікувати речовини з використанням їх попереднього піролізу можна порівнюючи пірограми досліджуваної проби і стандартних речовин.

Література

Березкин В.Г. Химические методы в газовой хроматографии. М.: Химия, 1980.

Контрольні запитання і задачі

1. Назвіть задачі якісного хроматографічного аналізу.
2. Назвіть основні експериментальні прийоми якісного газохроматографічного аналізу.

3. Які параметри хроматограми використовують для проведення якісного аналізу?

4. Від яких факторів залежить час утримування, виправлений час утримування?

5. Що може бути джерелами похибок при вимірюванні параметрів утримування?

6. Якою є допустима зміна температури і зміна швидкості потоку для підтримання похибки вимірювання t_R не вище 1%?

7. Опишіть метод еталонів (мітки).

8. За якої умови при ідентифікації речовини методом еталонів можна точно робити висновок про наявність речовини у суміші?

9. Від яких параметрів залежить величина індексу Ковача?

10. В якому випадку використовують а) індекси Ковача, б) лінійні індекси?

11. Опишіть спосіб ідентифікації речовин з використанням індексів утримування.

12. В яких випадках застосовують багатомірну хроматографію?

13. Назвіть приклади застосування хімічних реакцій для якісного хроматографічного аналізу.

14. Обчисліть індекс Ковача речовини А, якщо її виправлений час утримування дорівнює 17,1 хв, а виправлені часи утримування пропану і бутану дорівнюють 15,7 і 18,5 хв, відповідно.

15. На газорідинній колонці часи утримування речовини V, етану, речовини N і пропану дорівнювали 3,51, 2,77, 4,21 і 5,31 хв, відповідно. Обчисліть лінійні індекси утримування речовин V і N. Яка з цих речовин присутня у пробі? Індекси утримування стандартних розчинів речовин V і N, визначені за тих самих умов, дорівнюють 230 і 280.

16. З якою метою використовують хімічні реакції перед газохроматографічним розділенням?

6. КІЛЬКІСНИЙ АНАЛІЗ У ГАЗОВІЙ ХРОМАТОГРАФІЇ

Задачі кількісного аналізу:

1. Визначення вмісту деяких компонентів суміші.
2. Визначення сумарного вмісту групи з декількох компонентів, подібних за властивостями, відносно присутніх у суміші інших компонентів - визначення групового складу (напр., загального вмісту ароматичних вуглеводнів у нафтах).
3. Визначення вмісту малих домішок в індивідуальних хімічних сполуках і в різноманітних сумішах.

Досягнення високої точності кількісних результатів можливе при правильному виборі метода кількісної інтерпретації хроматограм.

6.1. ОБРОБКА ХРОМАТОГРАМ

6.1.1. Форма піку

В умовах лінійної ізотерми сорбції розмивання хроматографічної зони в колонці підпорядковується нормальному (гаусовому) розподілу незалежних величин. Гаусові піки мають заокруглену верхівку і вісь симетрії.

Крива Гауса описується рівнянням

$$y = e^{-\frac{(x-t_R)^2}{2\sigma^2}} \cdot \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}}, \quad (6.1)$$

де y , x – координати, σ^2 – дисперсія, характеризує розсіювання випадкової величини відносно t_R , σ – стандартне відхилення відповідає ширині піку на висоті 0,882 h .

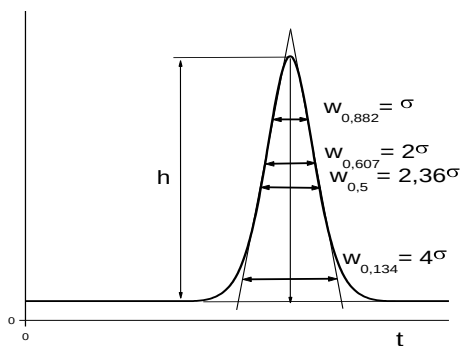


Рис. 6.1. Схема співвідношень між шириною гаусового піку на різній його висоті та стандартним відхиленням кожної величини від середнього.

h – висота піку, σ - стандартне відхилення, w – ширина піку

Стандартне відхилення можна також визначити з співвідношень, що справедливі для гаусових піків:

$$2\sigma = w_{0,607}, \quad 2,36\sigma = w_{0,500}, \quad 3\sigma = w_{0,324}.$$

Розрахунок площі під гаусовою кривою проводять за формулою, отриманою інтегруванням рівняння 7.1:

$$S = \sqrt{2\pi} \cdot \sigma \cdot h = 2,507 \cdot \sigma \cdot h = 1,064 \cdot h \cdot w_{0,5}.$$

Обробка хроматограм з асиметричними піками проводиться з меншою точністю. Для гаусових піків спостерігається рівність (*критерій Емпре*) $w_0 = 1,698w_{0,5}$.

В умовах реальної хроматографії у першому наближенні можна вважати пік гаусовим, якщо значення $w_0/w_{0,5} = 1,67...1,73$.

При більших відхиленнях від гаусової форми асиметрію характеризують за допомогою *фактора асиметрії* v , який обчислюють як:

$$v = c/d \tag{6.2},$$

де c і d – відстань від висоти до кожної гілки на рівні $0,1h$.

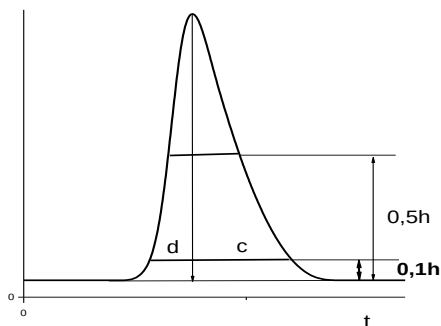


Рис. 6.2. Схема обчислення фактора асиметрії

Вважається припустимим працювати на колонці, на якій для піків всіх компонентів досліджуваної суміші ν перебуває в межах $0,7 \dots 1,5$. В іншому випадку зростає помилка обчислення площі піку і як наслідок зростає помилка кількісного визначення. Якщо викривляється форма деяких піків, збільшується помилка кількісного визначення саме тих речовин, яким відповідають ці піки.

6.1.2. Параметри хроматографічного піку

Площа хроматографічного піка (S), його висота (h), добуток висоти на час утримування ($t_R h$) пропорційні кількості досліджуваної речовини. Перелічені параметри можна застосовувати для кількісних розрахунків. Вибір параметра визначається видом хроматографічних піків і впливом швидкості потоку на сигнал детектору.

Висота піка (h) – відстань від вершини піка до його основи, виміряна паралельно вісі відгуку детектора (див. рис.6.3), вимірюється в одиницях відгуку.

Висота піка (h') – висота трикутника, що утворюється дотичними до гілок піка в точках перегину (див. рис.6.3), вимірюється в одиницях відгуку.

Ширина піка (w) – відрізок між точками перетину базової лінії з дотичними до гілок піка (див. рис.6.3), вимірюється в одиницях часу.

Ширина піку на половині його висоти ($w_{0,5}$), вимірюється в одиницях часу.

Площа піка (S) - площа, обмежена контуром піка та його основою. Одиниці виміру - відгук за s .

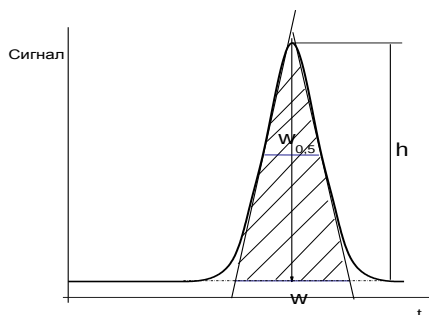


Рис. 6.3. Визначення висоти (h), ширини (w), ширини ($w_{0.5}$) на половині висоти, площі (S) піка

У Хімстанції хроматографа закладено формулу, за якою обчислюють площу піка.

Вибір параметру. Надання переваги площі або висоті обумовлене типом детектора і стабільністю температури та швидкості потоку.

➡ *Вплив температури колонки і швидкості потоку на площу або висоту піка різний для різних типів детекторів. При використанні концентраційних детекторів зміна швидкості призводить до пропорційної зміни площі, мало впливає на висоту. Для потокових – збільшення швидкості пропорційно збільшує висоту, мало впливає на площу.*

➡ *Вплив температури малий на площу, значний на висоту. Неможливо використовувати висоту при виконанні аналізу з програмуванням температури.*

Висота піку залежить від товщини фази. При виносі фази величини висот будуть змінюватись від аналізу до аналізу.

Який параметр обрати вирішує хроматографіст, зважаючи на всі згадані фактори. Частіше для кількісних розрахунків використовують площу.

Добуток висоти на час утримування застосовують для розділених не повністю піків.

6.1.3. Визначення площ піків

Способи, що ґрунтуються на використанні геометричних прийомів обчислення площі трикутника, називається **триангуляція**.

Площу симетричного хроматографічного піка можна обчислити за формулами

$$S = 2,507 \cdot \sigma \cdot h = 1,064 \cdot h \cdot w_{0,5} ;$$

$$S = 1/2 h w ;$$

$$S = h w_{0,5} .$$

Жоден з цих прийомів не забезпечує обчислення дійсної площі.



Оскільки метод газової хроматографії не потребує вимірювання абсолютних величин сигналу, і є відносним, то жоден з прийомів не має переваги перед іншими.

Площу асиметричного піка можна знайти за формулою

$$S = h \frac{w_{0,15} + w_{0,85}}{2} ,$$

де $w_{0,15}$ та $w_{0,85}$ – ширина піка на $0,15h$ та $0,85h$.

Площу піка при дрейфі нульової лінії можна обчислити за формулою

$$S = h w_{0,5} .$$

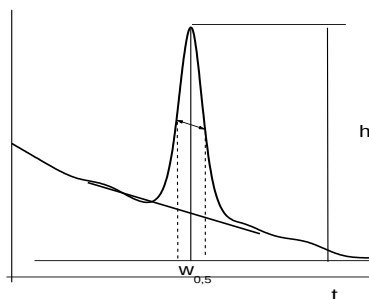


Рис. 6.4. Визначення висоти і ширини на половині висоти піка при дрейфі нульової лінії

Визначення площі не повністю поділених піків. Площу поділених не повністю піків можна знайти за формулами

$$S_1 = 2ah_1; S_2 = 2bh_2.$$

a, b – півширина першого і другого піків, виміряна на половині висоти h_1 і h_2

Залежно від природи, складу досліджуваної суміші, а також мети та умов визначення розрізняють три методи обробки результатів аналізу.

6.2. ОСНОВНІ МЕТОДИ (СПОСОБИ) КІЛЬКІСНОГО АНАЛІЗУ

 Важливою задачею при проведенні кількісних визначень є градування хроматографічного приладу, тобто встановлення строгої числової залежності між сигналом детектора і вмістом речовини.

Три основні методи обробки результатів аналізу передбачають градування в прямій (зовнішній стандарт) або непрямій формі (нормалізація, внутрішній стандарт).

Метод ВН широко використовується в аналізі багатокомпонентних сумішей, коли треба дізнатися повний склад суміші. Для визначення окремих компонентів ліпше користуватися методами ЗС або ВС.

Початкова стадія аналізу – хроматографування штучних сумішей речовин з точно відомим вмістом.

Досліджувані зразки можуть бути твердими, рідкими і газовими. Суміш твердих речовин розчиняють в придатному розчиннику. Рекомендується розбавляти в розчинниках і рідкі суміші. При цьому стає можливим дозування досить великих кількостей зразка (1-5 мкл) без ризику вийти за межі лінійного діапазону детектора. Одночасно покращується відтворюваність дозування і знижується похибка результатів аналізу через втрати легколетких компонентів проби при дозуванні.

6.2.1. Метод внутрішнього нормування (ВН). Цей метод ґрунтується на визначенні співвідношень між концентраціями компонентів суміші. Тому необхідною умовою є елюювання всіх компонентів суміші та запис їхніх піків, що є недоліком методу.

Об'єм проби, що вводиться в хроматограф, не має значення, тому що точне дозування проби не вимагається.

Різницю в чутливості детектора враховують за допомогою *поправкових коефіцієнтів*, які встановлюють заздалегідь. Для цього готують суміш точно визначених кількостей (за масою та об'ємом) досліджуваних компонентів. Модельну суміш хроматографують, знаходять площі піків і розраховують поправкові коефіцієнти:

$$K_i = m_i / P_i \quad (6.3),$$

де m_i – кількість речовини; P_i – параметр піка (висота, площа).

Потім хроматографують досліджувану суміш, вимірюють параметри піків і розраховують масову або об'ємну частку компонента за формулою

$$w_i = \frac{P_i K_i}{\sum_{i=1}^n P_i K_i} \cdot 100 \quad (6.4),$$

де w_i – масова або об'ємна частка компонента i у суміші, %; P_i – параметр піка (висота, площа) того ж самого компонента; K_i – поправковий коефіцієнт.

Визначення поправкових коефіцієнтів і кількісне визначення компонентів суміші треба проводити в однакових умовах.

Метод ВН дає правильні результати за умов:

- проба повністю випаровується у випарнику;
- всі компоненти проб повністю елюються з колонки;
- всі компоненти реєструються детектором;
- піки на хроматограмі оптимально розділені;
- всі компоненти проби заздалегідь ідентифіковані;
- для всіх компонентів відомі поправкові коефіцієнти;
- сигнал детектора має лінійну залежність від концентрації у всьому концентраційному діапазоні компонентів.

Залежно від того, які одиниці розмірності кількості речовини використано для визначення поправкового коефіцієнту, кінцевий результат отримують у масових, об'ємних або мольних частках, %.

Метод внутрішнього нормування використовується фармацевтичними компаніями для High Throughput analysis – швидкого контролю ступеня чистоти речовин, що застосовуються для біоскринінгу.

6.2.2. Метод градувального графіка (зовнішнього стандарту) (ЗС)

ґрунтується на використанні лінійної залежності висоти або площі піка від кількості відповідної речовини у суміші. Спочатку встановлюють цю залежність, використовуючи розчини стандартних речовин із точно відомою

концентрацією або вмістом, і виражають її графічно або через градувальний коефіцієнт $K_i = m_i/S_i$.

Для побудови градувального графіка хроматографують кілька (від 2 до 5) модельних сумішей зі зростаючим вмістом речовини (яку визначають у досліджуваній суміші), вводячи у колонку однакові об'єми проби. Знаходять площі відповідних піків і за цими даними будують графік залежності

$$S=f(w_i) \text{ або } S=f(C_i), \quad (6.5)$$

де w_i , C_i – відповідно масова частка (%), концентрація компонента i у суміші.

Після цього, на хроматограмі досліджуваної суміші вимірюють площу піка компонента, що визначається. За градувальним графіком або за формулою (5.6) обчислюють його масову частку w_i (%) або концентрацію (C_i):

$$w_i = \frac{S_i K_i}{m} \cdot 100; \quad C_i = S_i K_i, \quad (6.6)$$

де m – маса проби.

Метод потребує точного за масою або об'ємом дозування всіх речовин при визначенні градувального коефіцієнта, побудові графіка, аналізі невідомої речовини.

Метод можна застосовувати лише на лінійній ділянці детектора.

Недоліком цього методу є тривалість попередньої підготовки до виконання аналізів. Тому метод використовується у випадках, коли проводять серійні аналізи однотипних проб за незмінною методикою.

Частіше цей метод застосовують в промислових установках для контролю і регулювання технологічних процесів за вмістом в сумішах 1-2 речовин, також для аналізу нормуємих мікродомішок у рутинному аналізі об'єктів довкілля.

6.2.3. Метод внутрішнього стандарту (ВС) ґрунтується на введенні у досліджувану суміш певної кількості стандартної речовини.

Для компонентів суміші та внутрішнього стандарту заздалегідь встановлюють відносний поправковий коефіцієнт так. Готують суміш сполук (краще у масових частках), які містяться у досліджуваній суміші, і

додають певну кількість стандартного компонента, що відсутній у суміші. Хроматографують модельну суміш і вимірюють параметр відповідних піків (P). Розраховують поправковий коефіцієнт за формулою

$$K_i = \frac{w_i P_{\text{ст}}}{w_{\text{ст}} P_i} \text{ або } K_i = \frac{m_i P_{\text{ст}}}{m_{\text{ст}} P_i}, \quad (6.7)$$

де w_i , $w_{\text{ст}}$ – масові частки (%) компонентів i та взятого за стандарт у суміші; m_i , $m_{\text{ст}}$ – маси компонента i та взятого за стандарт.

Далі проводять аналіз, для чого зважують певну кількість досліджуваної суміші і додають до неї зважену необхідну кількість внутрішнього стандарту. Суміш хроматографують. Вміст компонентів розраховують за формулою:

$$w_i = \frac{P_i K_i m_{\text{ст}}}{P_{\text{ст}} m_m} \cdot 100, \quad (6.8)$$

де w_i , $w_{\text{ст}}$ – масові частки (%) компонентів i та взятого за стандарт у суміші; P_i – параметр піка (висота, площа) того самого компонента; K_i – відносний поправковий коефіцієнт; $m_{\text{ст}}$ – маса доданого стандарту; $P_{\text{ст}}$ – параметр піка (висота, площа) стандарту; m_m – маса досліджуваної суміші без стандарту; C_i – концентрація компоненту i ; $C_{\text{ст}}$ – концентрація стандарту.

Вимоги до речовини, яка використовується як стандарт:

1. Стандартна речовина має повністю змішуватись з компонентами суміші, бути хімічно інертною до компонентів. Обирають речовину, яка близька за фізико-хімічними властивостями до компонентів суміші, але не обов'язково є її компонентом.

2. Концентрацію стандарту підбирають таким чином, щоб співвідношення площ було близьким до одиниці.

3. Пік стандартного компонента має повністю відділятися від піків усіх інших компонентів, але його час утримування має бути близьким до піків визначуваних сполук. Важливо, щоб стандарт не містив домішок, піки яких накладаються на піки визначуваних сполук.

Можливе використання речовини, що міститься в пробі.

Переваги методу:

- при застосуванні зводяться до мінімуму похибки в результатах, що викликані випадковими змінами основних параметрів (температури, швидкості потоку, роботи детектора), оскільки можливі відхилення від заданих умов однаково впливають на кількісні параметри стандарту і досліджуваних речовин;
- не потрібно строго дозувати пробу;
- нема потреби в повному розділенні речовин, які не визначаються.

Контрольні запитання і задачі

1. Назвіть задачі кількісного аналізу.
2. Яким чином обчислюють фактор асиметрії піку? Чому є важливо, щоб фактор асиметрії був рівним 1?
3. Яка величина критерію Еттре допустима для використання в кількісному аналізі?
4. Наведіть схему визначення висоти і ширини піка.
5. Чи має принципове значення, яку з формул: $S=1/2hw$ або $S=hw_{0,5}$ використовувати для обчислення площі піку? Обґрунтуйте свою відповідь.
6. Які параметри хроматограми використовують для проведення кількісного аналізу, і як ці параметри залежать від швидкості потоку і температури?
7. Опишіть метод внутрішнього стандарту, в яких випадках його застосовують.
8. Опишіть метод нормування, в яких випадках його застосовують.
9. Опишіть метод зовнішнього стандарту, в яких випадках його застосовують.
10. Назвіть вимоги до речовини, яку можна використовувати як внутрішній стандарт.
11. Як обчислюють і що враховує поправковий і відносний поправковий коефіцієнт?
12. Чому метод внутрішнього стандарту є точнішим за метод зовнішнього стандарту?
13. Для проведення газохроматографічного аналізу суміші на вміст речовини А як внутрішній стандарт використали речовину В. Спочатку провели аналіз стандартної суміші, що містила по 0,050% (мас.) речовин А і В, і отримали хроматографічні піки площею 200,0 і 300,0 мм², відповідно.

Під час аналізу зразка додали 0,050% (мас.) внутрішнього стандарту й отримали хроматограму, на якій площі піків становили 500,0 і 400,0 пА·с для речовин А і В відповідно. Яка масова частка (%) речовини А у пробі?

14. Для проведення хроматографічного аналізу суміші на вміст речовини А як внутрішній стандарт використали речовину В. Спочатку провели аналіз стандартної суміші, що містила по 0,010 мг/мл речовин А і В, і отримали хроматографічні піки площею 200 і 250 мм² відповідно. Під час аналізу зразка пробу масою 0,1000 г розчинили у 25,0 мл. До 10,0 мл отриманого розчину додали 0,010 мл розчину внутрішнього стандарту з концентрацією 0,100 мг/мл. Отримали хроматограму з площами піків 340 і 380 пА·с для речовин А і В відповідно. Яка масова частка (%) речовини А у пробі?

15. Обчисліть масову частку (%) фенолу, нафтолу, резорцину і пірокатехіну у суміші за такими даними:

Речовина	Фенол	Нафтол	Резорцин	Пірокатехін
S	30	50	60	68
K _i	0,49	0,57	0,67	0,70

16. Оцініть, до якої речовини з задачі 15 детектор по теплопровідності є більш чутливим. Поясніть чому. Розмірність поправкового коефіцієнта – [%/В].

7. ПРОБЛЕМИ, ПОВ'ЯЗАНІ З АСИМЕТРІЄЮ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ ПІКІВ, ТА СПОСОБИ ЇХ РОЗВ'ЯЗАННЯ

7.1. ОЦІНКА РОБОТИ ХРОМАТОГРАФІЧНОЇ СИСТЕМИ

➡ Положення базової лінії - важлива характеристика хроматографічної системи. Вона визначає межу виявлення системи (відношення сигнал/шум), впливає на відтворюваність результатів.

Викривлення форми базової лінії можна поділити на 5 груп (рис.7.1): сплески, шуми, дрейф, стрибки (сходинки).

Сплеск (спайк, spike) – різка миттєва зміна сигналу. Сплеск легко відрізнити від хроматографічного піку, оскільки він має однакову ширину по всій висоті. Про шуми див. п.4.

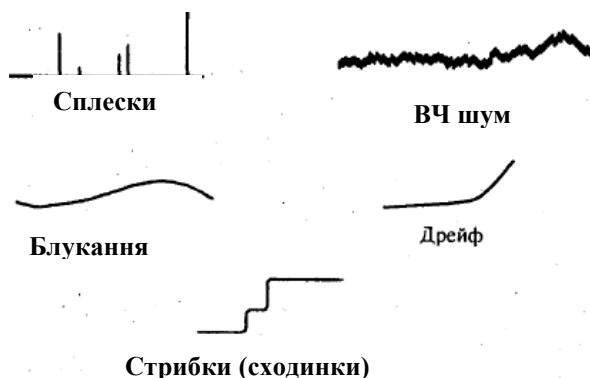


Рис. 7.1. Схема викривлень форми базової лінії.

Викривлення форми базової лінії складається з викривлень базових ліній окремих вузлів системи, а саме:

1. Шумів систем обробки сигналу детектора, механічних і електричних компонентів.
2. Шумів самого детектора.
3. Шумів від визначуваних компонентів.

7.1.1. Електромеханічна базова лінія

Щоб оцінити внесок електричних і механічних причин викривлень форми базової лінії, слід провести реєстрацію вихідного сигналу детектора. Детектор вмикають в електричну мережу приладу не приводячи його в робочий стан. Наприклад, не запалюють полум'я.

Виявлення викривлень форми базової лінії, що обумовлені електромеханічною схемою детектора

Сплески.

Поява сплесків обумовлена перешкодами в електричній мережі або поганою ізоляцією кабелів. Слід звертати увагу, які ще прилади ввімкнуті у мережу. Сплески можуть виникати внаслідок неполадок в системі обробки сигналу детектора, а саме поганого електричного контакту, забруднення контактів. В місцях поганого з'єднання виникають механічні переміщення контактів.

ВЧ шум.

Високий рівень шуму є наслідком несправної роботи електрометру або випромінюванням від обладнання, що працює близько з хроматографом.

НЧ шум (блукання).

Зазвичай викликається зміною зовнішніх умов - температури або напруги в мережі.

Стрибки (сходинки).

Виникають внаслідок поганого контакту на шляху сигналу. Можна поворушити контакти в місцях з'єднання.

7.1.2. Функціональна базова лінія

Реєструють у робочому стані детектора: виставляють відповідні швидкості потоків, температуру. Реєстрацію проводять 5 хв.

Виявлення викривлень форми базової лінії, обумовлені перешкодами від детектора

Сплески.

Поява сплесків обумовлена потраплянням частинок речовини до активної частини детектора. Треба чистити детектор.

Можуть з'являтися в системах з кранами-перемикачами. Якщо механічна частина крана має дефект, порушується перемикання потоків, що і викликає сплески.

Дефекти в прокладках, що герметизують систему подачі допоміжного газу призводять до різких змін тиску, змін швидкості потоку, що призводить до появи сплесків.

ВЧ шум.

Різні причини, наприклад, механічний дефект форсунки.

НЧ шум (блукання).

Викликаний поганим контролем швидкості потоків. Інші – для кожного детектора свої.

Дрейф.

Поступовий низхідний дрейф викликаний випалюванням забруднювачів з детектора.

7.1.3. Хроматографічна базова лінія

На форму хроматографічної лінії впливають забруднення з колонки або мембран блока введення.

Реєструється лінія при проведенні холостого досліду. Приводять хроматограф в робочий стан: виставляють відповідні потоки і температури, але не вводять пробу.

Виявлення причин викривлень форми хроматографічної базової лінії

НЧ шум (блукання).

Наявність домішок у газі носії або поганий контроль його швидкості. Кількість речовини, що елюється з колонки, не завжди зростає пропорційно підвищенню температури.

Дрейф.

Поступовий висхідний дрейф при підвищенні температури викликається збільшенням виносу фази з колонки.

Хибні піки.

З'являються через забруднення випарника або колонки, або випаровування летких забруднень з мембрани. Слід почистити вставку і кондиціонувати колонку. Або відрізати частину колонки.

7.2. УСУНЕННЯ НЕПОЛАДОК ХРОМАТОГРАФІЧНОЇ СИСТЕМИ, ЩО ПРИЗВОДЯТЬ ДО ЗМІНИ ФОРМИ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ ПІКІВ

Для отримання правильних результатів кількісного хроматографічного аналізу досліджуваних речовин необхідно правильно обчислювати площі їх хроматографічних піків. В цьому разі похибка обчислення площ тим менша, чим ближча симетрія хроматографічних піків до ідеальної (фактор асиметрії дорівнює 1).



Ідеальна форма піку досягається при правильному виборі колонки, дозуванні проби, температурного режиму всіх блоків.

В цьому розділі розглянуто пов'язані з неполадками в роботі хроматографа або помилкою оператора деякі причини, що викликають зміну форми піків, при умові ідеальної (горизонтальної) форми базової лінії.

7.2.1. Проблеми, пов'язані з відсутністю піків, або їх малою величиною

Якщо при введенні проби в колонку і подальшому хроматографуванні на хроматограмі відсутні піки, перш за все треба протестувати колонку за допомогою стандартного розчину з точно відомою концентрацією речовин. Якщо відсутні хроматографічні піки і стандартного розчину, то треба

поступово розглянути наведені нижче причини, які розглядаються по основних вузлах хроматографа.

Вузол введення проби.

При виявленні забруднення голки

→ можна продати мікрошприц за допомогою медичного шприца.

Тріщини на циліндрі мікрошприца призводять до протікань між поршнем і циліндром.

→ При виявленні тріщин, слід ввести пробу іншим мікрошприцом.

Якщо є підозра на неполадку автосамплера

→ слід ввести пробу за допомогою мікрошприца.

Перевірити, чи співпадають фактичний тиск газу у випарнику і колонці з заданим.

→ Якщо тиск фактичний менше заданого, треба замінити септу. Якщо це не допомагає, замінити ущільнювач колонки.

Піки можуть бути малими при занадто великому діленні потоку.

→ В цьому випадку слід зменшити ділення потоку.

При недостатній температурі випарника, високолеткі компоненти можуть не випаровуватись і не потрапляти в колонку.

→ Слід збільшити температуру випарника.

Колонка.

Установка (інсталяція) колонки.

→ Колонка має бути встановлена згідно з інструкцією з експлуатації. Слід перевірити герметичність колонки: наявність тріщин на поверхні колонки. Перевірити швидкість потоку газу з детектора.

Детектор.

Якщо детектор не працює, його

→ Підключити детектор. Всі

фактичні параметри (температура, тиск, швидкості потоків) не співпадають з заданими. В цьому випадку речовини не реєструються.

фактичні величини мають відповідати заданим.

7.2.2. Уловлювання компонентів. Розмивання тильної гілки піка

Розмиватися тильна гілка піку може у випадку, коли компонент *затримується* в якійсь частині системи і довго з неї виходить. Затримка може відбуватися через одну або декілька причин:

1. Механічне уловлювання. Речовина затримується в місцях, що погано продуваються газом-носієм.
2. Холодне уловлювання. Речовина конденсується на ділянках, що погано нагріваються.
3. Хімічне уловлювання. Компонент затримується на ділянках, що проявляють до нього хімічну спорідненість.

Всі наведені механізми викликають розмивання тилу піку (див. рис.7.2) і/або зниження сигналу. Цей ефект проявляється для компонентів, що мають більшу реакційну здатність, вищій температури кипіння.

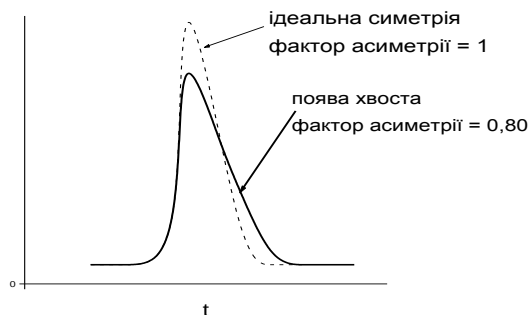


Рис.7.2. Хроматограма ідеального піку та піку з хвостом: речовина уловлена

Для вирішення проблеми треба поступово розглянути наведені нижче причини.

Вузол введення проби.

Чистота. Взаємодія з забрудненнями.

У випарнику, де передбачається миттєве випаровування проби, холодне уловлювання може відбуватися через недостатньо високу задану робочу температуру або недостатньо високу робочу температуру через погану термоізоляцію, що виникає через стирання теплоізолюючого покриття. Холодне уловлювання можливе також, якщо випарник частково знаходиться в термостаті, температура якого значно нижче за температуру випарника.

→ Слід помити лайнер.
Перевірити термоізоляцію випарника.

Колонка.

Сильна взаємодія НФ або оголеної поверхні капіляру з деякими компонентами.

→ Правильно обирати нерухому фазу.

Детектор.

Чистота.

→ Почистити детектор.

Температура

→ Виставити більшу температуру.

Звести до мінімуму розмивання тилу піку можна правильно обравши НФ, підтримуючи чистоту в системі.

7.2.3. Перевантажені піки

Вплив перевантаження на форму піка залежить від того, в якому блоці системи воно спостерігається.

Перевантаження проявляється через *потрапляння великої кількості речовини* у випарник, колонку і детектор. Перевантаження колонки (рис.7.3) проявляються як розмитий фронт. Перевантаження у випарнику

проявляються як розмитий фронт і тил. Перевантаження детектора створює піки з широкою або зрізаною верхівкою (рис.7.4), розщеплені піки.

В усякому разі треба зменшити об'єм проби, або застосувати режим ділення потоку.

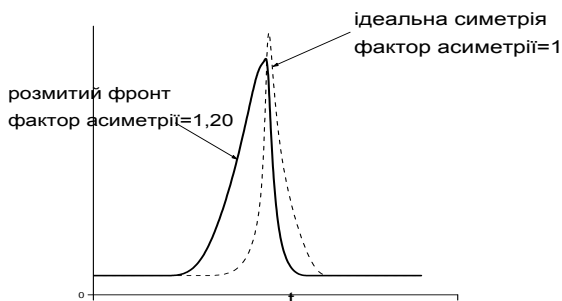


Рис.7.3. Хроматограма ідеального піку та піку з розмитим фронтом: перевантаження колонки

➡ Неможливо уникнути перевантаження розчинником.

Випарник.

Надлишкова кількість проби повертається до ділянок випарника, що погано продуваються. Речовина повільно вимивається, при цьому фронт піка розмивається. Такий ефект проявляється тільки при високих концентраціях.

→ Розбавити пробу перед введенням. Взяти меншу аліквоту.

Колонка.

Велика кількість речовини. При перевантаженні колонки розмивається фронт піків.

→ Треба зменшити об'єм проби шляхом розбавлення, зменшення аліквоти, або збільшити ступінь ділення потоку. Якщо пробу розбавляти не можна, а ділення потоку і так максимальне слід використати колонку з товстішим шаром

нерухомої фази.

Детектор.

Велика кількість речовини. Сигнал детектора вийшов за верхню межу лінійності. → Слід зменшити кількість проби.

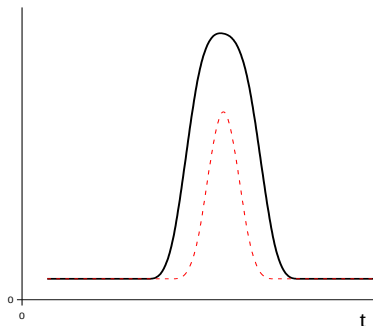


Рис.7.4. Хроматограма ідеального піку та піку з круглою верхівкою: перевантаження детектора або інжектора

7.2.4. Розщеплені піки

З'являються при перевантаженні детектора або *неправильному введенні проби*. (див. рис.7.5). В цьому випадку розщеплення відбувається для всіх піків, найбільш виражене для речовин з більшими часами утримування.

→ Не виходити за верхню межу кількісного визначення. Вводити пробу треба одноразовим швидким натисканням на поршень мікрошприца. Багаторазове натискання заборонене.

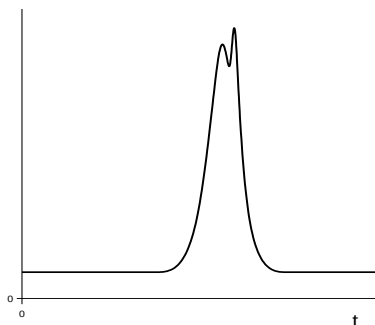


Рис.7.5. Хроматограма розщепленого піку

7.2.5. Інвертовані (від'ємні) піки

Наявність від'ємних піків зазвичай викликано зворотною полярністю системи обробки сигналу детектора. Це може відбуватися через порушення полярності при підключенні ДТП.

Також інвертовані піки з'являються через причини хроматографічного характеру:

1. Компоненти проби мають більшу теплопровідність, ніж газ-носії.
2. Неправильна компенсація нульової лінії колонки.
3. Короткочасне перевантаження детектора (рис.7.6).
4. Неправильне установлення нуля вихідного сигналу електрометру.
5. Наявність хімічно активного центру в ДТП.

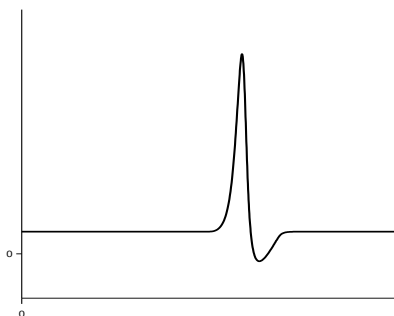


Рис.7.6. Хроматограма піку з провалом тилу

(переважно у випадку ЕЗД)**Колонка.**

Забруднення колонки → Періодично слід кондиціювати колонку для випалювання речовин, що сильно утримуються.

Детектор.

При використанні селективних детекторів ЕЗД, АФД, ПФД наявність від'ємних піків може бути пов'язано з присутністю в детекторі великої кількості речовини (розчинника) неспецифічної для даного детектора. Детектор насичується цією речовиною. → Оскільки цієї ситуації уникнути не можливо, то слід вибирати розчинник таким чином, щоб його час утримування відрізнявся від часу утримування досліджуваних сполук.

При роботі з ДТП від'ємні піки можуть з'являтися в результаті взаємодії речовин з хімічно активними центрами всередині детектора. Зміна теплопровідності, викликана такою взаємодією, призводить до появи від'ємних піків. Дезактивувати активні центри можна шляхом багаторазового введення речовини у великій концентрації, яка є подібною до тої, що викликає від'ємні піки.

Контрольні запитання і задачі

1. На що впливає фоновий сигнал (величина нульової лінії)?
2. Назвіть 5 типів викривлень нульової лінії.
3. За яких умов вимірюють величину електромеханічної, функціональної, хроматографічної нульової лінії?
4. Назвіть причини появи сплесків, шуму, сходинок, дрейфу нульової лінії; хибних піків.
5. Скільки приладів дозволено вмикати у мережу в лабораторії з газовим хроматографом, щоб не з'являлися сплески?
6. Яким чином впливають погані контакти на форму нульової лінії?
7. Чи впливають забруднення а) газу-носія; б) детектора; в) колонки; г) випарника на форму нульової лінії? Яким чином? Виберіть правильну (-і) відповідь (-і):
а, ВЧШ;

- b, НЧШ;
- c, сплески;
- d, дрейф;
- e, хибні піки.

8. Чи може впливати склад септи на форму нульової лінії?

9. Яким чином впливає зміна температури або напруги в мережі на форму нульової лінії?

10. Яким чином впливає коливання швидкості потоку на форму нульової лінії?

11. Поясніть, чому для аналізу важливо отримувати симетричні хроматографічні піки.

12. Які дії можна виконати, якщо на хроматограмі проби відсутні піки речовин?

13. З несправністю яких вузлів хроматографу може бути пов'язана відсутність піків на хроматограмі стандартної суміші? Які дії можна виконати для усунення несправностей?

14. На хроматограмі досліджуваної суміші (C_7 - C_{10} у гексані), отриманій на капілярній колонці з полуменево-іонізаційним детектором наявний пік розчинника, але відсутні піки досліджуваних речовин. Яка причина такої ситуації:

- a, тріщина на циліндрі мікрошприца;
- b, колонка не герметично установлена;
- c, протікає септа інжектора;
- d, велике ділення потоку.

15. На хроматограмі досліджуваної суміші (фенол, чотирихлористий вуглець, C_7 - C_8 у гексані), отриманій на капілярній колонці при 50 - 110°C , $20^{\circ}\text{C}/\text{хв}$, інжектор - 150°C , з полуменево-іонізаційним детектором при 300°C , наявні пік розчинника і 3 піка речовин. З чим пов'язана відсутність піка однієї з речовин? Виберіть правильну відповідь:

- a, тріщина на циліндрі мікрошприца;
- b, детектор не реагує на речовину;
- c, недостатня температура інжектора;
- d, протікає септа інжектора.

16. На хроматограмі досліджуваної суміші (C_7 - C_{10} у гексані) відсутні будь-які піки. Яка причина такої ситуації? Умови: капілярна колонка при 50 - 200°C , $20^{\circ}\text{C}/\text{хв}$, інжектор - 150°C , полуменево-іонізаційний детектор. Виберіть правильну відповідь:

- a, погано промитий шприц;
- b, забруднена форсунка полуменеві-іонізаційного детектора;
- c, протікає септа інжектора;
- d, детектор не увімкнений.

17. На хроматограмі досліджуваної суміші (C_7 - C_{10} у гексані), отриманій на капілярній колонці з полуменеві-іонізаційним детектором, піки C_9 і C_{10} мають розмиті тили. Яка причина такої ситуації? Умови: термостат при 50-200°C, 10°C/хв, інжектор - 150°C. Виберіть правильну відповідь:

- a, погано промитий шприц;
- b, речовини уловлюються в колонці через низьку температуру;
- c, речовини конденсуються в інжекторі через температуру, недостатню для миттєвого випаровування;
- d, не достатня швидкість водню.

18. Яким чином залежить форма піка від того в якому вузлі хроматографічної системи відбулося перевантаження?

19. Якими способами можна запобігти перевантаженню системи у випадку використання а) набивної колонки; б) капілярної колонки. Виберіть правильні відповіді:

- b. розбавити пробу водою;
- c. розбавити пробу придатним розчинником;
- d. взяти меншу аліквоту;
- e. застосувати режим ділення потоку;
- f. почистити детектор.

20. Якими способами (пит. 19) можна запобігти перевантаженню у випадку виходу за верхню лінійну межу детектора? Виберіть правильні відповіді.

21. Назвіть причини появи інвертованих піків.

Додаток 1

Табл.7.1.
Температури кипіння деяких органічних речовин

Речовина	$T_{\text{кип}}, ^\circ\text{C}$
Метанол	64,7
Етанол	78,3
Пентан	36,07
Гексан	68,7
Гептан	98,4
Октан	125,7

Нонан	150,8
Декан	174,1
Ундекан	195,9
Додекан	216,3
Фенол	181,7
Чотирихлоритий вуглець	76,7

8. ОСНОВИ ХІМІЧНОЇ МЕТРОЛОГІЇ

8.1. ТОЧНІСТЬ АНАЛІЗУ. СТАТИСТИЧНА ОБРОБКА РЕЗУЛЬТАТІВ АНАЛІЗУ

Метрологічні характеристики результатів аналізу є вимірними величинами. Під вимірною величиною можна розуміти як кількість компонента, так і вимірний сигнал детектора, що пов'язаний з вмістом компонента. Статистично обробляти будемо концентрації компонентів.

Точність (англ. *precision*) аналізу складається з двох кількісних характеристик: *правильності* і *відтворюваності*.

Правильність

Правильність (англ. *assigasy*) характеризує близькість отриманої величини до дійсної. Висока правильність означає близькість до нуля систематичних похибок (погрешностей) результатів. Кількісно правильність характеризують похибкою: абсолютною (**D**) або відносною (**D_r**).

$$D = |\bar{X} - X_d| \quad (8.1)$$

$$D_r = \frac{|\bar{X} - X_d|}{X_d} \quad (8.2).$$

$$D_r, \% = \frac{|\bar{X} - X_d|}{X_d} \cdot 100 \quad (8.3)$$

За характером причин, похибки поділяють на *випадкові* (англ. indeterminate error) і *систематичні* (англ. determinate error). **Випадкові похибки хаотично змінюються від вимірювання до вимірювання, систематичні** – зумовлені постійно діючою причиною.

Також бувають *грубі похибки* – **промахи** (англ. outlier). За джерелами походження розрізняють похибки методу, методики аналізу і пробопідготовки, пробовідбору, пов'язані з вимірювальною апаратурою тощо.

Збіжність і відтворюваність

Збіжність (англ. repeatability) – *близькість між собою результатів вимірювань, послідовно виконаних в однакових умовах*. Стосується одного етапу, напр., хроматографування, не включаючи інші, як от відбір проби тощо.

Відтворюваність (англ. reproducibility інколи reproductibility) – *близькість між собою результатів вимірювань, що виконуються за різних умов, напр., в різних лабораторіях, різними хіміками*.

Для кількісної оцінки збіжності і відтворюваності використовують такі характеристики: *дисперсія, стандартне відхилення і відносне стандартне відхилення*. Точність оцінюють *довірчим інтервалом*.

Генеральна сукупність (англ. population) – *гіпотетична сукупність всіх можливих результатів X від $-\infty$ до $+\infty$ нескінченного числа експериментів*. Для проведення статистичної обробки необхідно провести безмежно велику кількість аналізів, що потребує безмежної кількості матеріалу зразка і часу.

Вибіркова сукупність (вибірка) – *реальне число n результатів, з яким працює виконавець аналізу*. Оцінку відтворюваності проводять саме по такій вибірці результатів. Зазвичай проводять 3...7 вимірювань. Якщо $n > 20...30$, то з достатнім ступенем надійності можна вважати, що це є генеральна сукупність. Необхідно, щоб вибраний зразок був *репрезентативним* для даної вибірки.

Нормальний розподіл

Результати аналітичних вимірювань (X) відхиляються від середнього (дійсного) через випадкові помилки. Тому розкид результатів відносно

середнього описується кривою *нормального розподілу* (функція Гауса). Для нормального розподілу густина ймовірності має вигляд:

$$\varphi(x) = \frac{1}{\sigma \cdot \sqrt{2 \cdot \pi}} \cdot e^{\frac{-(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} \quad (8.4)$$

де μ - дійсне, σ^2 - дисперсія генеральної сукупності, а σ - стандартне відхилення генеральної сукупності.

μ ще називають *генеральним середнім*. За відсутності систематичних помилок середнє результатів для сукупності дорівнює дійсному значенню X_d .

Функцію нормального розподілу $\varphi(x)$ можна інтегрувати, виразивши її як функцію змінної u :

$$u = \frac{(x - \mu)}{\sigma} \quad (8.5)$$

При інтегруванні в межах $-\infty < X < +\infty$ площа дорівнює 1. якщо інтегрувати в межах від $-u\sigma$ до $+u\sigma$, то знаходять лише частину площі. Тоді всередині меж перебувають 100·P % від числа результатів вимірювань.

Змінна u є функцією X і описує відхилення (випадкову помилку) кожного визначення величини X від *генерального середнього* μ . Для будь-якої генеральної сукупності функція густини імовірності $\varphi(u)$ залежить тільки від величини u :

$$\varphi(u) = \frac{1}{\sqrt{2 \cdot \pi}} \cdot e^{\frac{-u^2}{2}} \quad (8.6)$$

Густина імовірності $\varphi(x)$ будь-якої генеральної сукупності, визначена в інтервалі $\mu \pm u\sigma$, і густина імовірності, визначена в інтервалі $\pm u$, обчислюється як певний інтеграл:

$$P = \int_{\mu - u \cdot \sigma}^{\mu + u \cdot \sigma} \varphi(x) \cdot dx = \int_{-u}^{+u} \varphi(u) \cdot du \quad (8.7)$$

Величина цього інтеграла P відповідає довірчій імовірності (P) того, що виміряна величина X_i потрапляє в інтервал величин $\mu \pm \frac{u\sigma}{\sqrt{n}}$. Цей інтервал показує випадкову похибку середнього. Величина $\pm \frac{u\sigma}{\sqrt{n}}$ - є довірчим інтервалом для генеральної сукупності.

Довірчий інтервал (англ. CI або confidence interval) - діапазон всередині якого може знаходитись середнє результатів визначень з імовірністю P .

Довірча імовірність P (англ. probability level) того, що середнє результатів потрапляє в довірчий інтервал.

Обчислені величини інтеграла (8.7) для інтервалу величин від 0 до u називаються функцією Лапласа (табличні величини).

Наприклад, імовірність того, що випадкова помилка при багаторазовому хімічному аналізі, не перевищує $\mu \pm 1\sigma$, $\mu \pm 2\sigma$, $\mu \pm 3\sigma$ дорівнює, відповідно, 68,26%, 95,44% і 99,73 %.

Імовірність того, що випадкова величина X_i при багаторазовому хімічному аналізі потрапить в інтервал $\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$, $\pm 3\sigma$ дорівнює, відповідно, 68,26%, 95,44% и 99,73 %.

Дисперсія генеральної сукупності (σ^2) характеризує розсіювання випадкової величини довкола середнього:

$$\sigma^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(X_i - \mu)^2}{n} \quad (8.8)$$

Величину кореня квадратного з дисперсії називають **стандартним відхиленням**, яке характеризує випадкову помилку:

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(X_i - \mu)^2}{n}} \quad (8.9)$$

У випадку невеликого числа зразків результати розподілу відрізняються від нормального (гаусового) розподілу. Замість u для обчислення довірчого інтервалу у таких випадках використовують *t-розподіл, розподіл Стьюдента*.

Межі інтегрувань розширюються і залежать від числа ступенів свободи.

Основні характеристики вибіркової сукупності:

середнє $\bar{X}$, дисперсія σ^2 , стандартне відхилення s , відносне стандартне відхилення s_r , довірчий інтервал $\Delta\bar{X}$.

Середнє ($\bar{X}$) для довільної вибірки з n результатів обчислюють:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad (8.10)$$

Дисперсія результату (σ^2) обчислюється як

$$\sigma^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \quad (8.11)$$

і характеризує розсіювання результату відносно середнього. Число ступенів свободи (незалежних величин) для вибірки менше ніж для генеральної сукупності на 1, бо в цьому випадку відомим є n результатів та їх середнє.

Стандартне відхилення (s) - це корінь квадратний з дисперсії результату:

$$s = \sqrt{\sigma^2} \quad (8.12)$$

Відносне стандартне відхилення (s_r):

$$s_r = \frac{s}{\bar{X}} \quad (8.13)$$

Довірчий інтервал ($\Delta\bar{X}$) обчислюється:

$$\Delta\bar{X} = \pm \frac{t(P) \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (8.14)$$

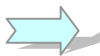
Середнє з n випадкових величин є величиною випадковою. Середнє з декількох вибірок, які є частинами однієї сукупності, що має нормальний розподіл, також підпорядковується закону нормального розподілу. Тоді стандартне відхилення середнього ($S_{\bar{X}}$) дорівнює:

$$s_{\bar{X}} = \sqrt{V} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n \cdot (n - 1)}} \quad , \quad s_{\bar{X}} = S / \sqrt{n} \quad (8.15)$$

8.2. КІЛЬКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНАЛІТИЧНОЇ МЕТОДИКИ

Для характеристики можливостей метода (методики) в якісному аналізі використовують **межу виявлення** (C_{DL} , предел обнаружения, англ. detection limit). Для обчислення межі виявлення аналітів по методиці, вимірюють і статистично обробляють **аналітичний сигнал фону** (S_{blank}). Визначають величину його стандартного відхилення відносно середнього (s_0 або σ).

 **Сигнал на рівні межі виявлення** (S_{DL}) визначають шляхом експериментального вимірювання **дисперсії рівня аналітичного сигналу фону** (S_{blank}) за 3σ - критерієм (або, інколи, 2σ - критерієм), де σ - стандартне відхилення.

 Для обчислення межі виявлення треба виміряти рівень шуму (δ). Далі хроматографувати суміш речовин з відомою концентрацією і C_{DL}

(для потокового детектора в г/с) обчислити за формулою:

$$C_{DL} = \frac{3 \cdot \delta \cdot C_{an} \cdot V}{S}, \quad (8.16)$$

де δ – рівень шуму, пА; C_{an} – концентрація аналіту у вихідній суміші (г/см³); S – площа відповідного піку, пА·с; V – об'єм аликвоти (см³).

(для концентраційного детектора у г/см³ за формулою:

$$C_{DL} = \frac{3 \cdot \delta \cdot C_{an} \cdot V}{S} \cdot \frac{1}{F}, \quad (8.17)$$

де δ - рівень шуму, мВ; C_{an} - концентрація газу у вихідній газовій суміші (г/см³); S – площа відповідного піка, мВ·с; V – об'єм аликвоти (см³); F – швидкість потоку газу-носія, см³/с.

Обчислення межі виявлення за градувальним графіком з використанням сигналу фону

Якщо аналітичний сигнал фону (S_{blank}) обумовлений не тільки шумами у вимірювальних приладах, але й наявністю домішок визначуваного компонента в реагентах, розчинниках, матриці зразка, його вимірюють окремо для кожного аналіту, як площу піка на хроматограмі розчинника (**Signal blank**) при часах утримування аналізів ($t_{Ranalyte}$):

$$S_{blank} = S(t_{Ranalyte}). \quad (8.18)$$

Знаючи аналітичний сигнал фону (S_{blank}) можна знайти *корисний сигнал* (S) речовини на хроматограмі, як різницю між вимірним сигналом (S_{measured}) та аналітичним сигналом фону:

$$S = S_{\text{measured}} - S_{\text{blank}} . \quad (8.19)$$

Корисний аналітичний сигнал, що відповідає межі виявлення, обчислюють за формулою:

$$S_{\text{DL}} = 3s_0 . \quad (8.20)$$

Аналітичний сигнал, що відповідає межі виявлення, обчислюють за формулою:

$$S_{\text{DL}} = S_{\text{blank}} + 3s_0 \quad (8.21)$$

(при цьому аналітичний сигнал фону S_{blank} не віднімають з вимірюваного сигналу).

C_{DL} визначають за градувальним графіком по обчисленим величинам S_{DL} .



Межа кількісного визначення C_{LOQ} (англ. limit of quantitation) - це найменша концентрація речовини, яку можна знайти за даною методикою. Її визначають за градувальним графіком по сигналу S_{LOQ} , який знаходять за 10σ -критерієм:

$$S_{\text{LOQ}} = 10s_0 . \quad (8.22)$$

(S_{LOQ} - це корисний аналітичний сигнал)

Використовуючи отримані величини S_{LOQ} , величину C_{LOQ} визначають за градувальним графіком.

Для характеристики можливостей методики наводять **лінійний діапазон** (*діапазон визначуваних концентрацій*) - *діапазон концентрацій або мас, всередині якого спостерігається лінійна залежність сигналу детектора від концентрації або маси речовини.*

Лінійний діапазон обмежений знизу - межею кількісного визначення і зверху - верхньою межею визначення (залежить від електронної системи детектора).



Верхня межа (C_{max}) - *максимальна межа кількісного визначення - абсолютна концентрація, перевищення якої змінює чутливість детектора від сталої величини більше ніж на 3%. Або вона обмежена вивченим діапазоном.*

Контрольні запитання і задачі

1. Що криється під терміном точність аналізу?
2. Що таке правильність, відтворюваність, збіжність результатів аналізу?
3. Якими параметрами характеризують правильність аналізу?
4. Якими параметрами характеризують відтворюваність і збіжність результатів аналізу?
5. Для чого потрібна статистична обробка результатів аналізу?
6. Які типи похибок розрізняють?
7. Що таке генеральна і вибіркова сукупність?
8. Що характеризує дисперсія, як її обчислюють?
9. Наведіть формули для обчислення стандартного, відносного стандартного відхилення і довірчого інтервалу середнього значення.
10. Що таке довірчий інтервал?
11. Який сенс вкладають в поняття “імовірність”?
12. Для якої сукупності застосовують параметри нормального розподілу (наведіть рівняння нормального розподілу), а для якої – t-розподілу?
13. Що таке межа виявлення, межа кількісного визначення, верхня межа визначення.
14. Що таке лінійний діапазон?
15. У яких одиницях вимірюють межу виявлення і кількісного визначення для потокових детекторів?
16. У яких одиницях вимірюють межу виявлення і кількісного визначення для концентраційних детекторів?
17. Опишіть способи, якими можна обчислити межу виявлення.
18. Опишіть спосіб обчислення межі кількісного визначення.
19. Обчисліть межу виявлення n-октану потоковим детектором за хроматограмою, на якій площа піку складає 300 пА·с для концентрації 20 мг/л. Об'єм аликвоти складав 1 мкл. Рівень шуму, виміряний протягом 5 хв, складав 10 пА. Швидкість потоку газу-носія через колонку складав 2,0 мл/хв.
20. Обчисліть межу виявлення бензолу потоковим детектором за хроматограмою, на якій площа піку складає 100 пА·с для концентрації 100 мг/л. Об'єм аликвоти складав 1 мкл. Рівень шуму, виміряний протягом 5 хв, складав 2 пА, фоновий сигнал – 18 пА. Швидкість потоку газу-носія через колонку складав 2,0 мл/хв.

21. Обчисліть межу виявлення етану концентраційним детектором за хроматограмою, на якій площа піку складає 400 пА·с для концентрації 100 мг/л. Об'єм аліквоти складав 10 мл. Рівень шуму, виміряний протягом 5 хв, складав 2 пА. Швидкість потоку газу-носія через колонку складав 5,0 мл/хв.

22. Обчисліть межу виявлення пропану концентраційним детектором за хроматограмою, на якій площа піку складає 100 пА·с для концентрації 10 мг/л. Об'єм аліквоти складав 10 мл. Рівень шуму, виміряний протягом 5 хв, складав 2 пА. Швидкість потоку газу-носія через колонку складав 10,0 мл/хв.

23. Чи залежить величина межі виявлення від типу детектора?

Відповіді на контрольні задачі

Глава	Питання	Відповідь	Глава	Питання	Відповідь
6	14		9	a	b, c
	15			б	b, c, d
7			18	a	b
8				б	c, d
				в	e
				г	e, b

Предметний покажчик

Література

1. Высокоэффективная газовая хроматография / Под ред. Хайвер К.
2. Гольберт К.А., Вигдергауз М.С. Введение в газовую хроматографию. М.: Химия, 1990.
3. Лисенко О.М., Набиванець Б.Й. Вступ до хроматографічного аналізу. К.: “Корвін Пресс”, 2005. – С. 38-53.
4. Количественный анализ хроматографическими методами / Под ред. Э.Кэц. – М.: Мир, 1990.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». - 1-е вид. – Харків: РІРЕГ, 2001.
6. Столяров В.В., Савинов И.М. Витенберг А.Г. Руководство к практическим работам по газовой хроматографии. – Л.: Химия, 1988. – С. 10-142.
7. Н.И. Царев, В.И.Царев, И.Б. Катраков. Практическая газовая хроматография. – Барнаул. Изд-во алтайского гос.ун-та, 2000.
8. Руководство по эксплуатации. Газовый хроматограф HP 4890 D. Каталожный номер G 2690 - 90100.
9. B.Kolb, L.S.Ettre. Static headspace-gas chromatography. Theory and practice. Wiley-VCH, Inc.-1997.
10. F. David, P. Sandra, S.S. Stafford. Application of retention gap for optimized capillary GC. / Hewlett Packard. A.N. 228-245.
11. Березкин В.Г. Химические методы в газовой хроматографии. М.: Химия, 1980. С. 12-49, 70-116.
12. Agilent J&W Scientific Technical Support.

Лисенко Олена Миколаївна,
Ковальчук Тетяна Вікторівна,
Зайцев Володимир Миколайович

Лисенко Олена Миколаївна (к.х.н., доц. кафедри аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету ім.Т.Шевченка),

Ковальчук Тетяна Вікторівна (к.х.н., ас. кафедри аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету ім.Т.Шевченка),

Зайцев Володимир Миколайович (член-кореспондент НАН України, д.х.н., професор кафедри аналітичної хімії хімічного факультету Київського національного університету ім.Т.Шевченка)

Основи газової хроматографії

м. Київ