

Высокоэффективная газовая хроматография

Редактор К. ХАЙБЕР

| | |
|--|-----|
| Введение | 3 |
| Теория капиллярной хроматографии..... | 4 |
| Капиллярная колонка..... | 14 |
| Ввод пробы в капиллярную колонку..... | 30 |
| Хроматографическое оборудование | 67 |
| Многомерная газовая хроматография и гибридные методы | 77 |
| Качественный и количественный анализ | 92 |
| Оценка работы газохроматографической системы и устранение неисправностей | 97 |
| Применение капиллярной газовой хроматографии..... | 105 |
| Приложение I..... | 133 |
| Приложение II | 133 |
| Приложение III | 134 |

Введение

Газожидкостная хроматография как метод разделения основана на распределении компонентов смеси между двумя фазами, из которых газовая является подвижной, а жидкая неподвижной. В классической газовой хроматографии компоненты смеси переносятся подвижной фазой вдоль колонки, заполненной частицами Твёрдого носителя, которые покрыты неподвижной фазой (НФ). В высокоэффективной, или капиллярной, газовой хроматографии используются колонки без носителя, а плёнка НФ наносится на внутреннюю поверхность колонки. Этот тип колонок, предложенный Голеем в 1957 г., обеспечивает значительно большую эффективность разделения по сравнению с обычными насадочными колонками, откуда и появился термин *высокоэффективная* газовая хроматография.

Традиционно капиллярная газовая хроматография применялась для разделения:

- сложных смесей
- компонентов с близкими химическими и физическими свойствами
- смесей, состоящих из большого числа разнообразных веществ

Однако капиллярная хроматография, в которой применяются хрупкие стеклянные открытые колонки и достаточно сложное оборудование, никогда не считалась "практичным" методом.

Отношение к высокоэффективной хроматографии резко изменилось, когда в 1979 г. благодаря работам Дандено и сотр. в компании Hewlett-Packard [1] появились гибкие колонки из плавленного кварца. Присущие этому материалу прочность и гибкость делают капиллярные колонки более удобными в применении и менее хрупкими, чем стеклянные. Кроме того, поверхность плавленного кварца более инертна, что уменьшает адсорбцию компонентов на стенках и улучшает функционирование колонок.

В 1983 г. на 2-м Международном симпозиуме по капиллярной хроматографии (Tarrytown, NY, USA) компания Hewlett-Packard сделала ещё один шаг в развитии газовой хроматографии с открытыми колонками — впервые были представлены коммерчески выпускаемые колонки большого диаметра как альтернатива насадочным колонкам. Это позволило применять капиллярную хроматографию для анализа летучих соединений и менее сложных смесей. Преимущества кварцевых колонок в сочетании с обычным хроматографическим оборудованием, предназначенным для работы с насадочными колонками, сделали газовую хроматографию с открытыми колонками большого диаметра более удобной и приспособленной для рутинных анализов [2, 3].

В 3-м изданий книги "Высокоэффективная газовая хроматография" рассматриваются исключительно открытые колонки из плавленного кварца, а также другие достижения в технологии изготовления колонок и разработке оборудования, приведшие к столь бурному развитию высокоэффективной хроматографии со времени выхода 2-го издания книги.

Литература

1. Dandeneau J. D., Zerenner E. II. 1979. HRC & CC, 2, 351-356.
2. Ryder B. L., Phittips J., Plotczyk L. L., Redstene M. "Flexible Fused Silica—The Packed Column Alternative???", presented at Piittsburgh Conference and Exhibitori, Atlantic City, NJ, March .1984.
3. Larson P., Newton B. February 1986. HP Technical Paper No 115, Publication No. 43-5954-7555.

Теория капиллярной хроматографии

К. Дж. Хайвер

Решающим моментом при разработке методики газохроматографического анализа является определение величины степени газо-хроматографического разделения, необходимой для достижения цели. Степень разделения в хроматографии определяется следующим образом:

$$R = 2(t_{Rj} - t_{Ri})(W_{b,j} + W_{b,i})$$

где t_R — время удерживания соединений i и j ; W_b — ширина пиков у основания.

Способность хроматографической системы разделять "критическую пару" веществ (т. е. два наиболее трудно разделяемых соединения) зависит не только от их абсолютных времен удерживания, но и от формы пиков этих соединений, т. е. от эффективности разделительной колонки.

Одинаковых величин разрешения (степени разделения) можно достичь при использовании как высокоэффективных хроматографических систем, так и систем с низкой эффективностью (рис. 1-1). Степень разделения является сложной функцией следующих хроматографических параметров: удерживания, эффективности и селективности хроматографической колонки:

$$R = \sqrt{\frac{n}{4}} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left(\frac{k}{k + 1} \right)$$

где n — эффективность колонки, выражаемая числом теоретических тарелок; α — фактор селективности; k — коэффициент извлечения, или коэффициент емкости колонки.

Для насадочных колонок, характеризующихся низкой эффективностью, наибольший вклад в величину разрешения вносит селективность (рис. 1-1). Этим объясняется необходимость широкого ассортимента неподвижных фаз (НФ) в газовой хроматографии с насадочными колонками. В случае высокоэффективных

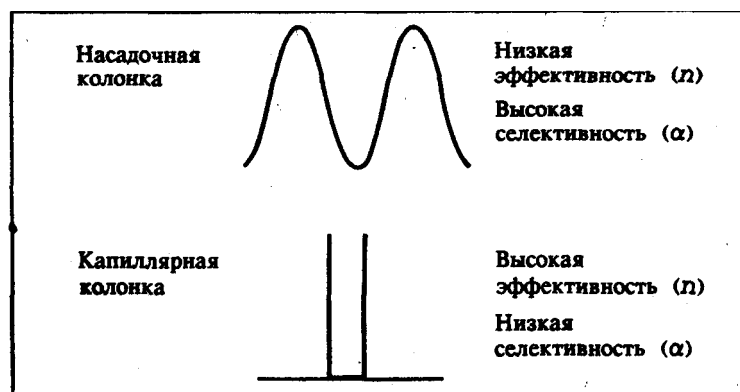


Рис. 1-1. Одинаковое разрешение, достигаемое в газовой хроматографии с насадочными и капиллярными колонками.

открытых капиллярных колонок такая степень разрешения J стирается с использованием нескольких выбранных НФ. В этой главе будут рассмотрены понятия эффективности, селективности и удерживания в высокоэффективной газовой хроматографии и взаимосвязь этих параметров при оптимизации разделения. Используемые обозначения и термины приведены в приложении I.

"Несколько слов о термине "открытая капиллярная колонка". В последнее время после 30 лет его повсеместного и общего использования как эквивалента английскому термину "open capillary column" ряд хроматографистов стали рекомендовать использовать иной термин, а именно "полая капиллярная колонка". Последний термин, по мнению реформаторов, представляет собой более точный перевод соответствующего английского термина. Поскольку, перефразируя известное утверждение можно считать, что "замена термина ведет к беспорядку", проанализируем доводы реформаторов, используя книгу: С. И. Ожегов "Словарь русского языка" (М., Русский язык, 1988). Согласно этому словарю, "полый — пустой внутри", например "полая трубка". Поэтому полая капиллярная колонка по смыслу эквивалентна пустой капиллярной трубке, а не капиллярной колонке, ибо на стенках капиллярной колонки отличие от пустой трубки обязательно находится слой сорбента или сорбента. Следовательно, введение нового термина вряд ли обоснован — *Прим, ред.*

Хроматографическое удерживание

Наделение пробы на индивидуальные компоненты достигается в соответствии с удерживанием каждого компонента хроматографической колонкой. Время, необходимое для элюирования компонента из колонки, называется (абсолютным) временем удерживания (t_R) и определяется по времени выхода максимума его хроматографического пика. В процессе хроматографического разделения происходит распределение компонента пробы между подвижной и неподвижной фазами. Время нахождения компонента в подвижной фазе (t_m) постоянно для всех составляющих анализируемой смеси. Величину t_m обычно называют "мертвым временем" колонки или временем удерживания несорбирующегося вещества. Эту величину можно легко определить по времени удерживания сорбирующегося в колонке вещества, например метана. Однако Казано, что математический расчет мертвого

времени является более точным [1,2].

Истинное время нахождения компонента в НФ рассчитывается как разность абсолютного времени удерживания и мертвого времени. Эта величина называется приведенным (исправленным) временем удерживания t_R^1 и определяется уравнением

$$t_R^1 = t_R - t_m \quad (1.3)$$

Связь между величинами t_R, t_m и t_R^1 иллюстрируется рис. 1-2.

"Распределение анализируемого вещества между двумя фазами хроматографической колонки можно описать с помощью коэффициента распределения K_D "

$$K_D = C_{i,s}/C_{i,m}, \quad (1.4)$$

где $C_{i,s}, C_{i,m}$ — концентрация вещества i в неподвижной и подвижной фазах соответственно.

Коэффициент распределения — термодинамическая величина;

при определенной температуре колонки каждое вещество характеризуется постоянным коэффициентом распределения.

Коэффициент емкости колонки (k) — это мера молярного распределения анализируемого вещества между НФ и газовой фазой. Эта величина определяется экспериментально как отношение времени нахождения компонента в НФ ко времени его нахождения в газовой фазе;

$$k = n_p/s/n_{i,m} = t_R^1/t_m, \quad (1.5)$$

где $n_{i,s}$ и $n_{i,m}$ — число молей компонента i в НФ и подвижной фазе соответственно. Коэффициент емкости связан с коэффициентом распределения следующим образом:

$$K_D = kb, \quad (1.6)$$

где b — фазовое отношение. Фазовое отношение — это отношение объема колонки, занятого газовой (или подвижной) фазой (V_m) к объему колонки, занятому НФ (V_s):

$$b = V_m/V_s \quad (1.7)$$

Для открытых капиллярных колонок со слоем НФ на внутренних стенках (WCOT-колонки), имеющих внутренний радиус r , фазовое отношение (b) обратно пропорционально толщине пленки жидкой фазы:

$$b = r/2d \quad (1.8)$$

Обычно значения b для капиллярных колонок составляют 50-500. Чем тоньше пленка неподвижной фазы, тем выше значение b .

Для представления величин удерживания в газовой хроматографии используется система индексов удерживания Ковача. Индексы удерживания Ковача не зависят от ряда инструментальных переменных, например от объемной скорости потока. Это позволяет проводить сравнение величин удерживания, полученных в различных хроматографических системах. Индексы удерживания Ковача стали основой для идентификации веществ в хроматографии. Использование индексов удерживания при проведении качественного анализа рассмотрено в гл. 6.



Рис. 1-2. Связь между абсолютным и приведенным временем удерживания.

Изотермический индекс удерживания I_a^s описывает удерживание компонента a на неподвижной фазе s как некоего гипотетического n -алкана. Изотермический индекс удерживания соединения вычисляется по формуле, в которую входят приведенные времена удерживания двух соседних с ним членов гомологического ряда:

$$I_a^s = 100N + 100n(\lg t_{R,a}^s - \lg t_{R,N}^s) / (\lg t_{R,(N+n)}^s - \lg t_{R,N}^s), \quad (1.9)$$

Где N — число атомов углерода в n -алкане с более короткой цепочкой; n — разность в числе атомов углерода между двумя алканами, используемыми как стандарты. Подробно система индексов удерживания Ковача рассмотрена в работе Будахеджи и сотр. (4) Керверс и сотр. [5, 6] предложили методику прогнозирования индексов удерживания при программировании температуры. Эта методика основана на использовании данных, полученных в изотермических условиях.

Эффективность разделения

Эффективность разделения — это мера расширения зоны вещества при его прохождении через колонку. Эффективность определяется соотношением времени удерживания вещества и стандартного отклонения его пика (см. уравнение 1.10). Исходя из допущения о том, что хроматографический пик описывается кривой Гаусса, можно рассчитать эффективность колонки, выраженную числом теоретических тарелок n :

$$n = (t_R/\sigma)^2 \quad (1.10)$$

Стандартное отклонение пика σ можно рассчитать по его ширине (рис. 1-3).

Таким образом, эффективность колонки можно выразить через ширину пика на половине его высоты W_h или ширину пика у его основания W_b :

$$n = 5,54 \left(\frac{t_R}{W_h} \right)^2, \quad (1.11)$$

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{W_b} \right)^2 \quad (1.12)$$

Обычно измеряют ширину пика на половине его высоты, поэтому для расчета эффективности колонки, как правило, применяют

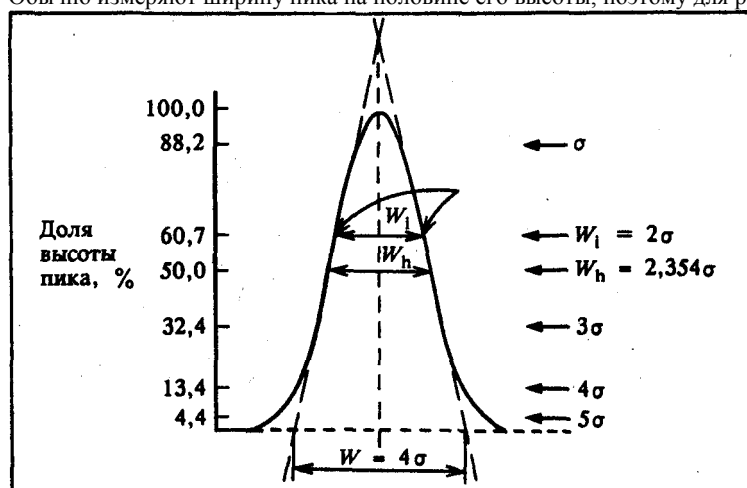


Рис. 1—3. Измерение ширины пика на разной высоте и значения стандартного отклонения гауссовского пика.

уравнение (1.11). На практике часто используют удельную эффективность, т. е. отношение эффективности колонки к ее длине (L). Удельная эффективность определяется как число теоретических тарелок на метр длины колонки (n/L).

Эффективность хроматографической колонки можно так выразить высотой, эквивалентной теоретической тарелке (h , или ВЭТТ), — это длина участка колонки (в миллиметрах), соответствующего одной теоретической тарелке:

$$h = L/n. \quad (1.13)$$

Следовательно, эффективность колонки тем выше, чем больше число теоретических тарелок n и меньше их высота h .

Поскольку истинная разделительная способность колонки связана с продолжительностью пребывания компонента в НФ, эффективность может также выражаться через приведенное время удерживания. В этом случае для оценки эффективности используют число эффективных теоретических тарелок N :

$$N = 5,545 \left(\frac{t'_R}{W_h} \right)^2 \quad (1.14)$$

Число эффективных теоретических тарелок связано с числом теоретических тарелок через коэффициент емкости

$$N = n \left(\frac{k}{k+1} \right)^2 \quad (1.15)$$

По аналогии с уравнением (1.13) высота, эквивалентная эффективной теоретической тарелке (H , или ВЭЭТТ), определяется выражением

$$H = L/N. \quad (1.16)$$

В теориях, описывающих влияние хроматографических параметров на эффективность колонки, используется величина ВЭТТ. Фундаментальным уравнением, описывающим функционирование хроматографической колонки, является уравнение Ван-Деемтера. В этом уравнении эффективность колонки представлена как функция средней линейной скорости подвижной фазы, u . В сокращенной форме классическое уравнение Ван-Деемтера имеет вид

$$h = A + \frac{B}{\mu} + C\mu \quad (1.17)$$

где член A отражает вклад вихревой диффузии и характеризует природу и структуру насадки; член B описывает вклад продольной молекулярной диффузии; член C характеризует сопротивление массопереносу.

Для открытых капиллярных колонок, которые не содержат насадки, член A равен нулю. В результате уравнение Ван-Деемтера принимает вид, известный как уравнение Голя [7]:

$$h = \frac{B}{\mu} + C\mu \quad (1.18)$$

В уравнении Голя член B , характеризующий продольную диффузию, выражается следующим образом:

$$B = 2D_m \quad (1.19)$$

где D_m — коэффициент диффузии вещества в подвижной фазе.

Коэффициент диффузии в газовой фазе можно предсказать по молекулярным массам и объемам компонента и газ-носителя [8]. При хроматографировании всегда имеет место продольная диффузия. Она проявляется в том, что пик компонента расширяется, и тем больше, тем дальше компонент находится в колонке. Сопротивление массопереносу зависит от коэффициента емкости и отражает сопротивление массопереносу зависит от коэффициента емкости и отражает сопротивление массопереносу из газовой фазы в НФ и из НФ в газовую фазу. Таким образом, член C включает две составляющие

$$C = C_m + C_s \quad (1.20)$$

Сопротивление массопереносу в газовой фазе (C_m) описывается следующим уравнением:

$$C_m = \frac{r^2}{D_m} \left(\frac{1 + 6k + 11k^2}{24(1+k)^2} \right) \quad (1.21)$$

Сопротивление массопереносу в жидкой фазе (C_s) описывается уравнением

$$C_s = \frac{d_f}{D_s} \left(\frac{2k^2}{4(1+k)^2} \right) \quad (1.22)$$

где D_s — коэффициент диффузии вещества в НФ. В случае капиллярных колонок со сравнительно тонкой пленкой НФ величиной C_s можно пренебречь.

Таким образом, эффективность разделения существенно зависит от геометрических размеров колонки, а также от физических свойств анализируемого вещества, подвижной и неподвижной фаз:

Для WCOT-колонок минимальная высота, эквивалентная теоретической тарелке, определяется по уравнению

$$h_{\min} = r \sqrt{\frac{1 + 6k + 11k^2}{3(1+k)^2}} \quad (1.23)$$

Величина h_{\min} соответствует эффективности колонки, достигаемой при нанесении идеальной НФ в идеальных условиях.

Эффективность нанесения НФ оценивают, сравнивая полученное значение h и h_{\min} , рассчитанное по уравнению (1.23).

Другой мерой оценки эффективности колонки является число разделений (Trennzahl, или TZ). Эта величина также нашла широкое применение в капиллярной хроматографии. Число разделений определяется как разрешение двух соседних членов гомологического ряда, различающихся одной CH_2 -группой, и рассчитывается по уравнению

$$TZ = \left(\frac{t_R(N+1) - t_{RN}}{W_h(N+1) + W_{hN}} \right) - 1 \quad (1.24)$$

Число разделений и величина разрешения R связаны между собой следующим образом:

$$TZ = R/1,777 - 1 \quad (1.25)$$

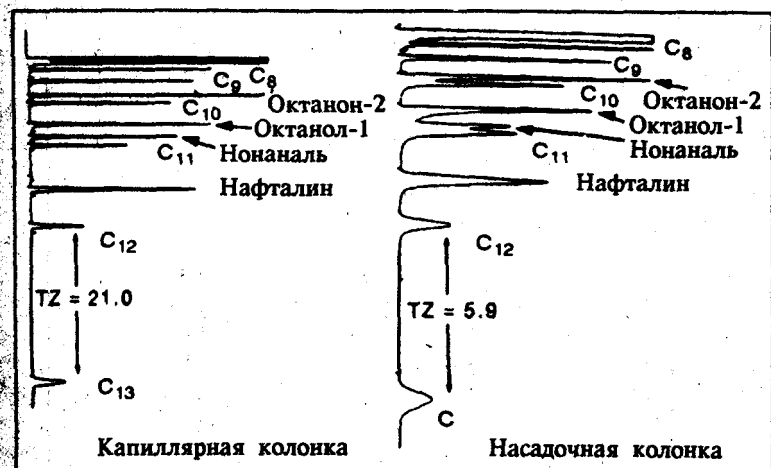


Рис. 1-4. Определение числа разделений в газовой хроматографии с капиллярными и насадочными колонками. Условия эксперимента: капиллярная колонка 4,5 x 10 мм, НФ — метилсиликон, газ-носитель — гелий 35 см/с; насадочная колонка 5,2 x 10 мм, сорбент 3% OV-101 на хромосорбе W-HP (100/200), газ-носитель — гелий, 30 мл/мин.

Другими словами, число разделений — это число пиков, которые могли бы быть разделены между двумя соседними гомологами. Эта величина называется также эффективным числом пиков. Расчет Числа разделений демонстрирует рис. 1-4. Как следует из приведенных данных, для капиллярной колонки число разделений между пиками нормальных углеводородов C_{12} и C_{13} более чем в 3 раза превышает число разделений, полученное в аналогичных условиях на насадочной колонке. Конкретно, на капиллярной колонке между пиками C_{12} и C_{13} может быть разделен 21 пик, а на насадочной — менее 6.

Преимущество величины TZ перед другими показателями эффективности состоит в том, что число разделений можно применять для характеристики системы в условиях программирования температуры. Кроме того, величина TZ связана с индексами удерживания Ковача (уравнение 1.9), Значение TZ для двух n -алканов рассчитывается по формуле

$$TZ = \left(\frac{100}{\Delta I} - 1 \right) \quad (1.26)$$

Следовательно, если для критической пары соединений известны индексы удерживания Ковача, то необходимое значение TZ можно рассчитать по уравнению (1.26). Например, для разделения двух компонентов с индексами удерживания 1270 и 1274 ($\Delta I = 4$) требуется колонка с $TZ = 24$. Таким образом, полностью разделить эти компоненты на капиллярной колонке в условиях, представленных на рис. 1-4, не удастся.

Селективность

В хроматографии под селективностью понимают селективные физико-химические взаимодействия между анализируемыми веществами и хроматографической системой. В газовой хроматографии селективность определяется природой НФ. Типы неподвижных фаз для газовой хроматографии подробно описаны в работах Бломберга [9], Хакена [10] и Старка и сотр. [11]. Обычно селективность НФ выражают через относительное удерживание критической пары компонентов пробы:

$$\alpha = \frac{t'_{R,j}}{t'_{R,i}} \quad (1-27)$$

где $t'_{R,j} > t'_{R,i}$. Значение фактора селективности выше 1 указывает на то, что может быть достигнуто разделение.

Взаимодействия анализируемого вещества и НФ представляют собой различные неполярные дисперсионные и специфические полярные взаимодействия. К последним относятся взаимодействия диполей и водородные связи. НФ обычно подразделяют на два класса в зависимости от их селективности — полярные и неполярные НФ. Однако понятия "полярность" и "селективность" не являются синонимами. Полярность — это только один из факторов, определяющих селективность. Полярность обуславливает взаимодействие НФ с полярными группами анализируемого вещества, Селективность НФ определяется комплексом взаимодействий анализируемых веществ и НФ.

Система для характеристики селективности НФ была предложена Мак-Рейнольдсом [12]. Согласно этой системе, селективность оценивается как разность индексов удерживания Ковача пяти выбранных стандартных соединений (бензол, n -бутанол, пентанон-2, нитропропан и пиридин), определенных на колонке с исследуемой НФ, и индексов удерживания тех же соединений, определенных на колонке со скваланом. Мак-Рейнольдс охарактеризовал таким образом более 200 НФ и предложил шкалу "полярности" НФ. Оказалось, что селективности многих НФ, используемых в газовой хроматографии с насадочными колонками, очень близки.

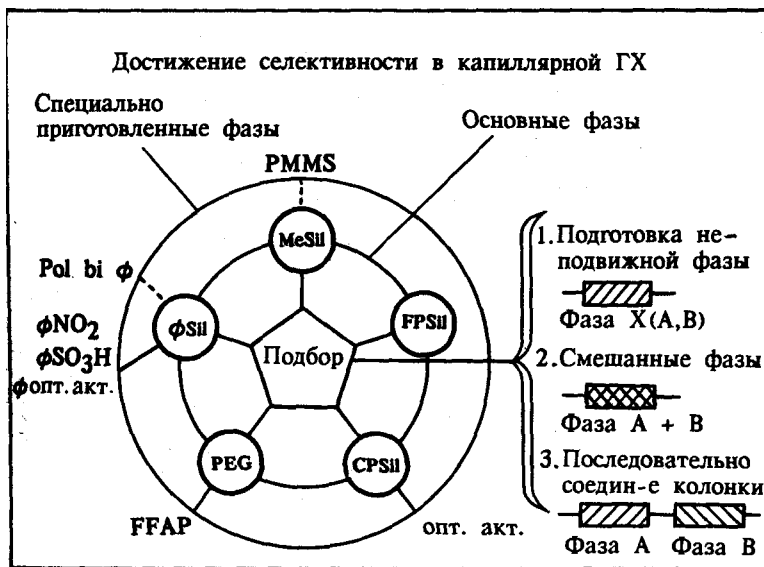


Рис. 1—5. Способы достижения специфической селективности в капиллярной газовой хроматографии [15] (с разрешения Huethig Verlag).

*φ*Sil - силиконовые фазы; MeSil — метилсиликоновые фазы; FPSil — трифторпропилметилсиликоновые фазы; CPSil — бицианопропилметилсиликоновые фазы; PEG — полиэтиленгликоли; FFAP — фазы на основе свободных жирных кислот; Pol bi φ — полидиметилсиликоновые фазы; опт. акт. — оптически активные фазы; *φ*NO₂, *φ*SO₃H, *φ* опт. акт. — нитро-, сульфо- и оптически активные фазы на основе фенилметилсиликона.

Был предложен перечень наиболее предпочтительных фаз [13], что облегчает выбор НФ для исследователя.

Самыми распространенными НФ, используемыми для получения WCOT-колонок, являются метилсиликоновые (OV-1, SE-30), фенилметилсиликоновые (SE-54, OV-17), цианопропилметилсиликоновые (OV-225, OV-275), трифторпропилметилсиликоновые (OV-210) фазы, а также полиэтиленгликоли (карбовакс 20 М) [13]. Большинство высокоэффективных разделений в газовой хроматографии проводится с использованием этих фаз.

Однако в некоторых случаях для успешного разделения необходимы колонки с НФ, обладающими специфической селективностью (рис. 1-5). Такую селективность можно получить за счет использования: 1) специально приготовленных фаз; 2) колонок со смешанными фазами; 3) последовательно соединенных колонок с различными НФ.

Специальные фазы можно приготовить из основных НФ, применяемых в хроматографии. Например, обработка полиэтиленгликоля (ПЭГ) кислотой приводит к получению фазы с группами свободных жирных кислот, которая успешно применяется для разделения неэтерифицированных жирных кислот (FFAP).

Путем смешения определенных количеств двух различных фаз получают фазы, позволяющие оптимизировать разделение. Если эти фазы не смешиваются, синтезируют сополимер, который со держит определенные количества селективных функциональных групп от обеих фаз. Истинный состав смеси фаз или сополимер можно определить методом оконных диаграмм [14], если проведено разделение на индивидуальных фазах. Колонки со специфической селективностью нашли применение в исследованиях, направленных на определение летучих соединений в объектах окружающей среды. Вопросы получения колонок со специфической селективностью подробно рассмотрены в работе Сандры и сотр. [15].

Практическое приложение хроматографической теории

Разрешение и время, необходимое для проведения анализа, зависят от некоторых взаимосвязанных параметров колонки и условий проведения анализа. Основные факторы, влияющие на разделение, — это геометрические размеры колонки — длина и внутренний диаметр, тип НФ и толщина ее пленки в колонке, природа газа-носителя и его скорость, температура колонки. При выборе колонки и разработке методики анализа необходимо хорошо представлять себе и учитывать влияние этих факторов. Первые четыре из перечисленных факторов являются характеристиками колонки, их следует учитывать при выборе колонки для анализа. Остальные параметры относятся к условиям эксперимента и могут быть легко изменены.

На рис. 1-6 приведены данные, иллюстрирующие влияние вида газа-носителя на разделение. Эти данные можно наилучшим образом объяснить на основе уравнения Голя. На рис. 1-7 показаны кривые эффективности, полученные при использовании WCOT-колонок внутренним диаметром 0,25 мм и различных газов-носителей — азота, гелия и водорода. Следует отметить, что самая высокая эффективность (минимальная ВЭТТ) достигается при использовании азота. Однако эта максимальная эффективность наблюдается лишь в узком интервале малых линейных скоростей газа-носителя, причем по мере увеличения линейной

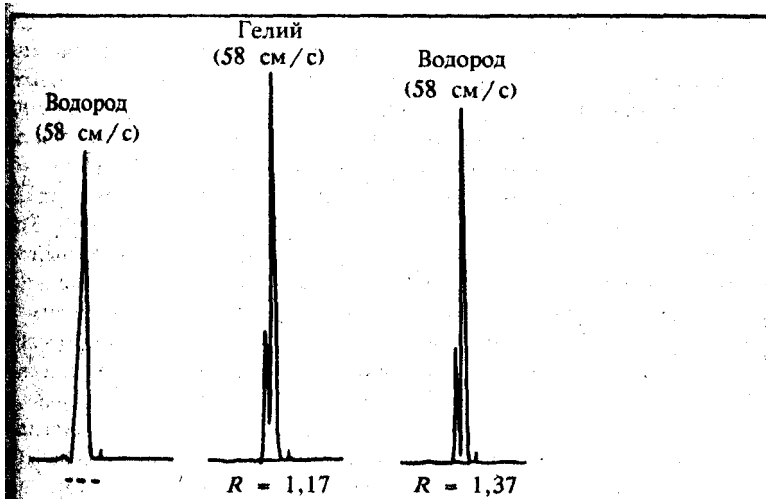


Рис. 1-6. Влияние природы газа-носителя на разделение н-гептадекана и пристана. Условия эксперимента: стеклянная WCOT-колонка 15 x 0,25 мм, НФ SE-52, изотермический режим (150°C).

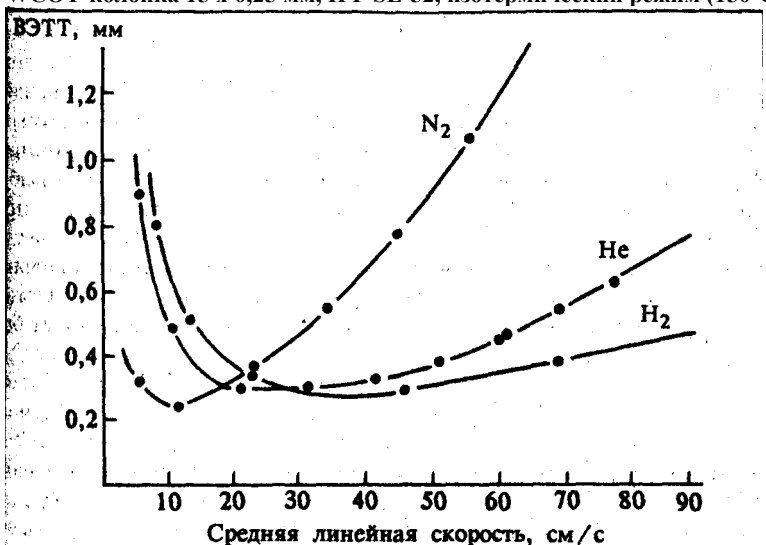


Рис. 1-7. Кривые эффективности при использовании различных газов-носителей. Условия эксперимента: WCOT-колонка 25 x 0,25, НФ OV-101 (толщина пленки НФ 0,4 мкм), определяемый компонент н-гептадекан, температура 175 °С.

скорости эффективность резко падает (пропорционально увеличению средней линейной скорости). Используя азот в качестве газа-носителя, для достижения оптимального разрешения приходится жертвовать скоростью. Именно поэтому азот редко применяют в капиллярной ГХ. Водород имеет меньшую вязкость, чем азот, поэтому изменение скорости газа-носителя не вызывает существенного изменения в разрешении. Область минимума на кривой эффективности для водорода существенно шире, причем минимальные значения ВЭТТ достигаются при более высоких скоростях. Все это и обуславливает выбор водорода в качестве газа-носителя в высокоэффективной газовой хроматографии.

Температура колонки очень сильно влияет на разделение. Логарифм коэффициента емкости (k) обратно пропорционален температуре. Чем ниже температура колонки, тем выше коэффициент емкости, т. е. больше продолжительность пребывания компонента в НФ (уравнение (1.5)). Увеличение продолжительности пребывания компонента в НФ позволяет более полно использовать ее селективность. Однако следует помнить, что при увеличении температуры селективность может изменяться и, следовательно, вероятно изменение последовательности элюирования компонентов из колонки.

Изменение толщины пленки НФ или внутреннего диаметра колонки влияет на фазовое отношение β и коэффициент емкости (см. уравнение (1.8)). Увеличение толщины пленки (или уменьшение фазового отношения) приводит к росту коэффициента емкости и, следовательно, к возрастанию удерживания и улучшению разделения. На рис. 1-8 показано разделение бензина, проведенное на капиллярных колонках с различной толщиной пленки НФ. Следует отметить, что при увеличении толщины пленки разрешение повышается, однако существенно возрастает продолжительность анализа.

Продолжительность анализа, определяемая как время удерживания последнего элюируемого пика, выражается следующим уравнением:

$$t_{R,x} = \frac{L}{\mu} (1 + k_x) \quad (1-28)$$

где k_x — коэффициент емкости последнего элюируемого пика.

Продолжительность анализа можно уменьшить, используя более короткие колонки, однако при этом снизится разрешение. Тем не менее это может и не быть серьезным недостатком, поскольку разрешения капиллярной колонки, как правило, более чем достаточно для удовлетворительного проведения анализа.

При проведении экспресс-анализов методом капиллярной газовой хроматографии используют колонки с внутренним диаметром, не превышающим 0,1 мм. В ряде работ [16-18] рассматриваются преимущества и недостатки WCOT-колонок малого

диаметра, применяемых в высокоскоростной газовой хроматографии. С учетом возможностей выпускаемого оборудования для проведения экспресс-анализа в большинстве, случаев пригодны колонки длиной 5-10 м и внутренним диаметром 100 мкм.

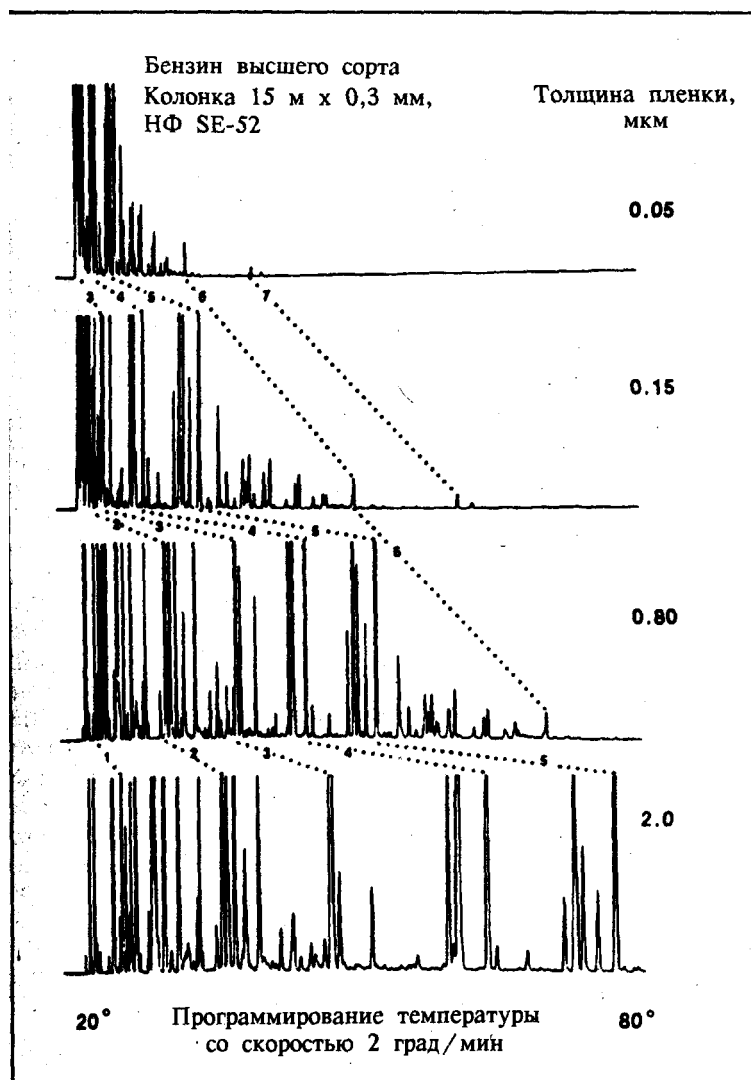


Рис. 1-8. Анализ бензина высшего сорта на капиллярных колонках различной толщины пленки НФ (К. Grab, G. Grob, HRC & CC, 2 (1979), 109, с разрешения Huethig Verlag).

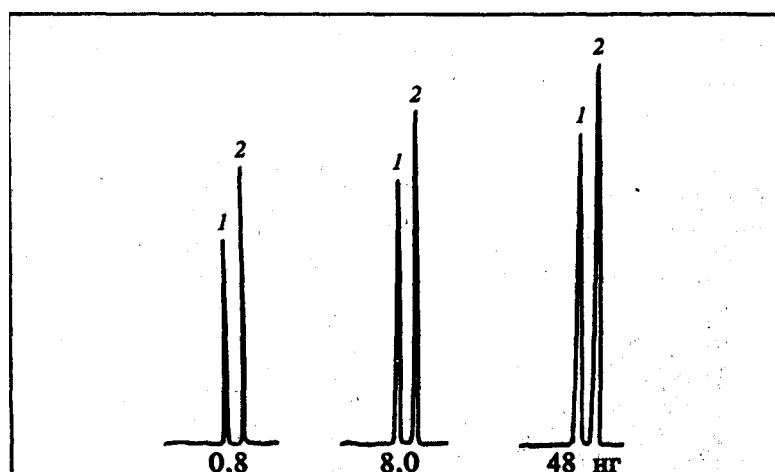


Рис. 1—9. Изменение формы пиков додекана (I) и м-пентадекана (II) при увеличении объема вводимой пробы. Условия анализа: кварцевая колонка 10 x 0,10 x 0,17 мм, сшитая НФ 5% фенилметилсиликона, толщина пленки НФ 0,51 мкм. Емкость колонки, исчерпывается при концентрации каждого компонента 8 нг.

Наиболее серьезным ограничением при использовании капиллярных колонок малого диаметра является снижение емкости колонок по пробе. Емкость колонки определяет возможность определения высоких концентраций компонентов пробы. При превышении емкости колонки наблюдается ухудшение ее хроматографических характеристик. Превышение емкости колонки по пробе обычно называют перегрузкой. На хроматограмме перегрузка выражается в появлении широких асимметричных пиков, как показано на рис. 1-9 для случая разделения додекана и м-пентадекана (кварцевая капиллярная колонка диаметром 100 мкм, толщина слоя сшитой НФ 5% фенилметилсиликона 0,17 мкм).

Рис. 1-10 иллюстрирует связь емкости колонки по пробе, толщины пленки НФ и фазового отношения. Представлена логарифмическая зависимость толщины пленки НФ от фазового отношения и емкости колонки для капиллярной колонки внутренним диаметром 250 мкм и с толщиной пленки НФ 1 мкм. Приведены кривые для выпускаемых промышленностью традиционных кварцевых WCOT-колонок внутренним диаметром 50-530 мкм. Путем Экстраполяции соответствующей кривой для определенного диаметра колонки и толщины пленки получают фазовое отношение и Относительную емкость по пробе. Например, емкость колонки внутренним диаметром 530 мкм и с толщиной пленки 3 мкм ($\beta = 45$) в 5,5 раз выше, чем для колонки внутренним диаметром 250 мкм. Таким образом, хроматографист может легко оценить изменение емкости по пробе при варьировании внутреннего диаметра для заданного фазового отношения или толщины пленки НФ

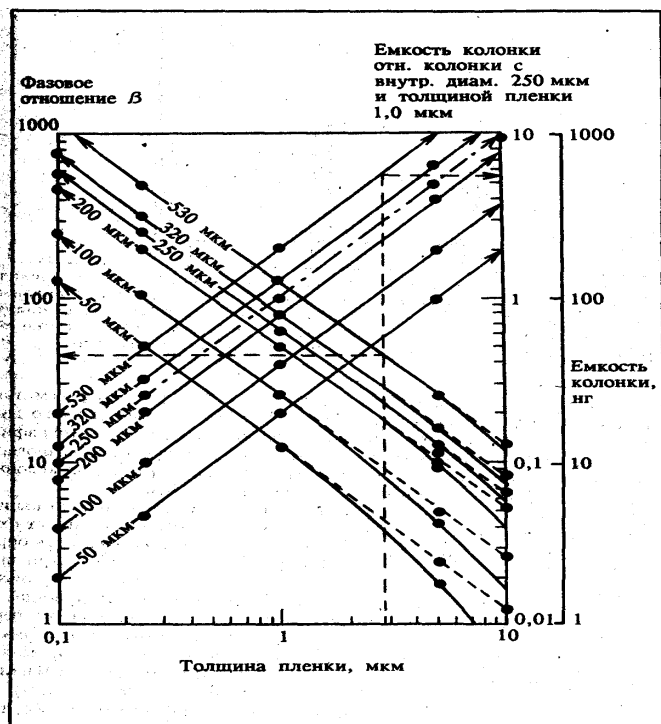


Рис. 1—10. Связь между толщиной пленки НФ, фазовым отношением и емкостью колонки по пробе (с разрешения D. C. Vellalanti, Shell Development Company, Houston, Texas).

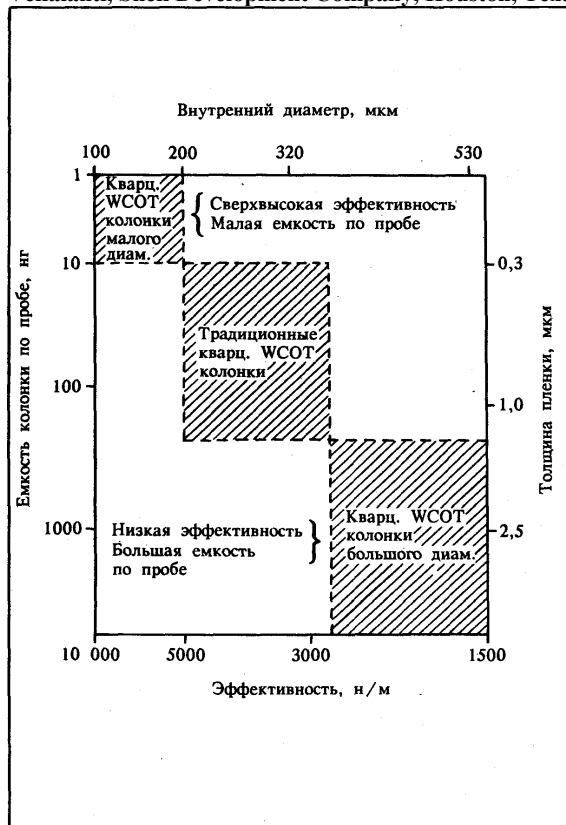


Рис. 1-11. Сравнение хроматографических параметров для используемых в настоящее время кварцевых WCOT-колонок.

При оптимизации хроматографического разделения полезно учитывать взаимосвязь эффективности разделения, продолжительности анализа, емкости по пробе и разрешения. Необходимо также принимать во внимание взаимное влияние параметров ко-

лонки и условий проведения анализа. Колонки малого диаметра (внутренний диаметр <0,2 мм) высокоэффективны и позволяют достигать высокого разрешения, однако их емкость по пробе мала. Широкие кварцевые WCOT-колонки (внутренний диаметр >0,53 мм) характеризуются невысоким разрешением, однако имеют существенно большую емкость по пробе. Эти колонки наилучшим образом подходят для проведения простых разделений, аналогичных тем, которые проводятся на насадочных колонках. На рис. 11 проведено сравнение типов применяемых в настоящее время кварцевых капиллярных колонок и указаны диапазоны эффективности и емкости. Подробно вопросы, связанные с селективностью колонок, обсуждаются в гл. 2. Тем не менее рис. 1-11 можно использовать для выбора типа колонок при разработке аналитического метода, основанного на применении капиллярной газовой хроматографии.

Литература

1. *Wainwright M. S., Haken J. K., Srisukh D.* 1979. *J. Chromatogr.*, 179, 160-166.
2. *Parcher J. F., Johnson D. M.* 1980. *J. Chromatogr. Sci.*, 18, 267-272.
3. *Kovats E.* 1966. *Advances in Chromatography*, J. C. Giddings, R. A. Keller, Eds., Marcel Dekker, New York, 1, 229-247.
4. *Budahegyi M. V., Lombosi E. R., Lombosi T. S., Meszaros S. Y., Nyiredy S., Tarjan G., Timor I., Takacs J. M.* 1983. *J. Chromatogr.*, 271, 213-307.
5. *Curvers J., Rijks J., Cramers C., Knauff K., Larson P.* 1985. *HRC & CC*, 8, 607-610.
6. *Ibid*, 611-618.
7. *Golay M. J. E.* 1958. *Gas Chromatography*, V. J. Coates, H. J. Noebels, I. S. Fargerson, Eds., Academic Press, New York, pp. 1-13.
8. *Fuller E. N., Schettler P. D., Gidding J. C.* 1966. *Ind. Eng. Chem.*, 58 (5), 19-27.
9. *Blomberg L.* 1982. *HRC & CC* 5, 520-533.
10. *Haken J. K.* 1984. *J. Chromatogr.*, 300, 1-77.
11. *Stark T. J., Larson P. A., Dandeneau R. D.* 1983. *J. Chromatogr.*, 279, 31-40.
12. *McReynolds W. O.* 1970. *J. Chromatogr. Sci.*, 8, 685-691.
13. *Hawkes S., Grossman D., Hartkopf A., Isenhow T., Leary J., Parcher J., Wold S., Vancey J.* 1975. *J. Chromatogr. Sci.*, 13, 115-117.
14. *Laub R. J., Pumell J. H.* 1976. *Anal. Chem.*, 48, 799-803.
15. *Sandra P., David F., Proot M., Dirickt G., Veretappe M., Verzele M.* 1985. *HRC & CC*, 8, 782-798.
16. *Van Efa., Janssen J., Batty R., Cramers C., Rijkf J.* 1987. *HRC & CC*, 10, 273-279.
17. *Sandra P.* 1987. *LC-GC*, 5, 236-246.
18. *Hyver K. J., Phillips R. J.* 1987. *J. Chromatogr.*, 399, 33-46.

Капиллярная колонка

Б. Ньютон

Колонку часто называют сердцем хроматографической системы. Глубокий анализ роли колонки упростит многие проблемы современной капиллярной газовой хроматографии. В этой главе колонки, применяемые в высокоэффективной газовой хроматографии, рассмотрены с точки зрения их практического использования. Большинство работ в капиллярной газовой хроматографии выполнено на кварцевых капиллярных колонках, поэтому обсуждаются именно такие колонки.

В конце 70-х годов стеклянные колонки были хорошо известны, однако использовались они сравнительно редко. Именно тогда фирма Хьюлетт-Паккард начала свои исследования в этой области. Импульс разработке кварцевых капиллярных колонок придали исследования в области волоконной оптики. В 1979 г. на Международном симпозиуме по капиллярной хроматографии (Хинделенг, ФРГ) Р. Дандено представил сообщение об исследованиях, проведенных на колонках из кварца [1]. В сообщении говорилось о том, что ни один из опробованных материалов колонки не может превзойти плавленный кварц и что кварц представляет собой новый стандарт в хроматографии и прост в применении благодаря высокой гибкости материала.

Появление на рынке в конце 1979 г. кварцевых капиллярных колонок по существу явилось главным прорывом в области капиллярной газовой хроматографии. В 1979 г. менее 10% выпускаемых промышленностью хроматографов были приспособлены для работы с капиллярными колонками, а в 1989 г. их число превысило 60%. Можно ожидать, что число таких приборов будет расти, поскольку в результате развития метода появилась возможность анализа как высококипящих, так и легколетучих соединений.

Получение капилляров для кварцевых колонок

Установка для вытягивания капилляров

Схема стандартной установки для вытягивания капилляров [2-4] представлена на рис. 2-1. Исходная заготовка поступает в

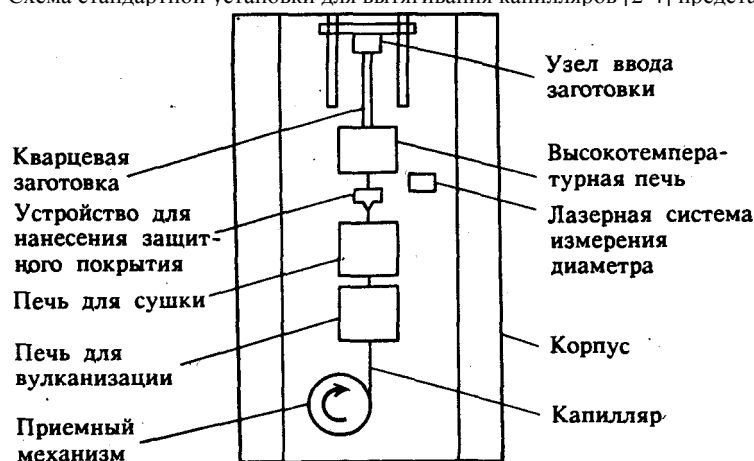


Рис. 2-1. Схема стандартной установки для вытягивания капилляра.

высокотемпературную печь (~ 2000°C). Кварцевый капилляр вытягивают при строгом контроле величины внутреннего и внешнего диаметра. Затем на капилляр наносится защитное покрытие. Опробовано большое количество самых разнообразных защитных материалов — от полиимида до золота. По сей день наиболее распространены покрытия из полиимида. На рис. 2-2 показаны капилляры с внешним защитным покрытием из полиимида и алюминия.

Прочность кварцевых капилляров

Хотя многие типы стекол пригодны в качестве исходного материала для получения гибких и прочных капилляров, но только синтетический плавленный кварц позволяет получить колонки с инертностью, необходимой для анализа таких веществ, как лекарственные препараты, пестициды, кислоты и амины [5,6].

Промышленностью выпускаются также капилляры из природного кварца, однако содержание оксидов металлов в нем слишком высоко для большинства приложений в хроматографии [7]. В синтетическом плавленном кварце содержание оксидов металлов мало ($< 1 \cdot 10^{-4}\%$), но на поверхности все же присутствуют силнольные группы, что обуславливает остаточную активность колонки. В ряде работ [8-23] предложены способы ликвидации этих активных центров или их блокировки. Процесс удаления активных центров называется дезактивацией.

Остаточная активность колонки влияет на результат хроматографического разделения. По инертности колонки сильно различаются. Методики испытаний не всегда позволяют оценить потенциальную активность колонки по отношению к разнообразным веществам, которые могут присутствовать в пробе. На рис. 2-3 представлены хроматограммы различных тестовых смесей, используемых для оценки инертности колонок.

При вытягивании гибкие капилляры, естественно, получаются прямыми; чтобы установить их в термостат обычного газового хроматографа, их необходимо свернуть в спираль. Для удерживания колонки ее наматывают на специальный каркас. Общая нагрузка на колонку зависит от диаметра каркаса и внутреннего диаметра капилляра (рис. 2-4). Чем меньше диаметр рамки для колонки, тем больше нагрузка и тем выше вероятность образования трещин и изломов. Колонки большого диаметра особенно

подвержены повреждениям в напряженном состоянии. Чтобы уменьшить образование трещин, следует проводить специальные испытания.



Рис. 2—2. Фотография кварцевых капиллярных колонок с защитным покрытием из полиимида и алюминия.

Кварцевые капиллярные колонки, на которые не нанесен защитный слой, подвержены действию влаги воздуха. Молекулы воды действуют на связи кремний — кислород с образованием силанольных групп. При этом образуются трещинки, которые разрастаются и через сравнительно небольшое время приводят к ломке капилляра (рис. 2-5). Внешнюю поверхность капиллярной колонки необходимо защищать от царапин и действия влаги, поэтому колонки покрывают защитным слоем полиимида или другого материала, не уступающего ему по прочности.

| | | |
|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Тестовая смесь Ultra | Тестовая смесь Ultra | Тестовая смесь Brand X |
| Колонка Ultra 1 | Колонка Brand X | Колонка Brand X |

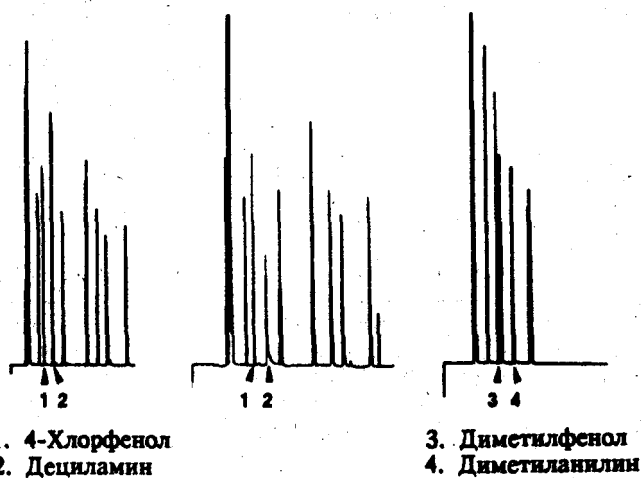


Рис. 2-3. Оценка инертности колонок с использованием различных тестовых смесей.

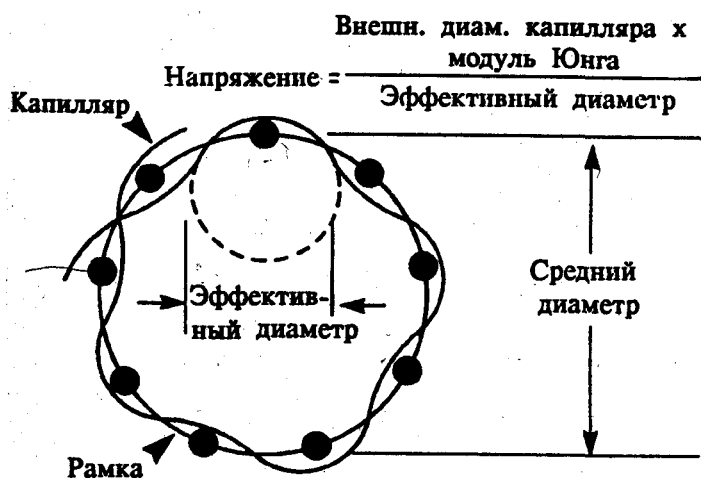
Типы капиллярных колонок

Для того чтобы правильно использовать капиллярные колонки, необходимо прежде всего разобраться в терминологии. По-видимому, самыми важными понятиями являются емкость колонки по пробе, разрешение, эффективность и селективность. Теория капиллярной газовой хроматографии и ее практические следствия рассмотрены в гл. 1. При выборе подходящей колонки для проведения анализа необходимо понимать, что означают эти характеристики и как они взаимосвязаны.

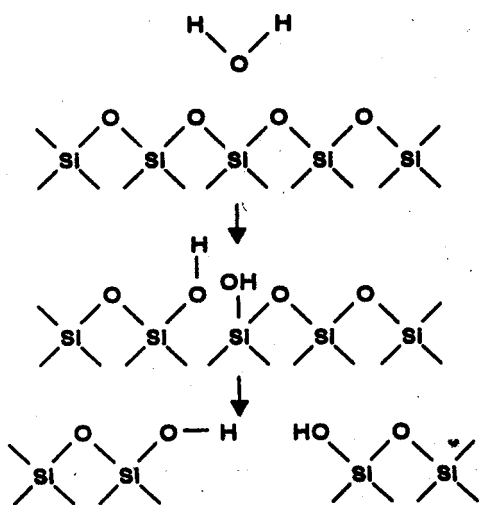
WCOT-, PLOT-, SCOT- и микронасадочные колонки¹

В настоящее время открытые капиллярные колонки, в которых тонкая пленка неподвижной фазы нанесена непосредственно на внутреннюю поверхность колонки (WCOT-колонки), используются наиболее часто. Однако последние достижения в области открытых капиллярных колонок с твердым пористым слоем носителя, нанесенным на стенки колонки (PLOT-колонки), возможно, приведут к тому, что эти колонки станут более популярными.

¹В русскоязычной научной литературе используются обычно следующие сокращения (см., например, К. Тесаржик, К. Комарек. Капиллярные колонки в газовой хроматографии. М.: Мир, 1987): ОКК — открытые (незаполненные) капиллярные колонки (WCOT); ОКК-ПС — открытые капиллярные колонки с пористым слоем (PLOT); ОКК-ТН — открытые капиллярные колонки с твердым носителем (SCOT). — Прим. ред.



2—4. Образование напряжения на капилляре при его наматывании на рамку.



2—5. Статическая усталость плавленного кварца.



Рис. 2-6. Электронная микрофотография кварцевой WCOT-колонки.

Выпускаемые промышленностью капиллярные WCOT-колонки имеют внутренний диаметр от 0,05 до 0,53 мм. Слой неподвижной фазы (НФ) толщиной от 0,1 до 0,8 мкм равномерно покрывает внутреннюю поверхность колонки (рис. 2-6). В качестве НФ используют полимеры, представляющие собой вязкую жидкость (OV-225), каучуки (OV-1, SB-30) или твердые вещества (карбовакс 20 М, суперокс). Эти фазы растворяют в соответствующих растворителях и наносят на внутреннюю поверхность капилляра. Существуют различные способы нанесения НФ. Чаще всего используют динамический и статический методы; в ряде работ [24-37] исследуются сверхдинамический метод и метод, основанный на нанесении фазы в условиях сверхкритической жидкости. После нанесения НФ можно провести сшивание или прививку фазы.

WCOT-колонки обладают высокой эффективностью по отношению к различным трудноразделяемым смесям,

состоящим из большого числа компонентов. Однако стандартная толщина пленки НФ не позволяет достичь достаточно высокой емкости колонки, необходимой при анализе концентрированных растворов. На этих колонках также нельзя провести эффективное разделение соединений с очень низкой молекулярной массой или инертных газов при обычных температурах. Чтобы преодолеть эти ограничения, были предложены WCOT-колонки с очень толстым слоем НФ [38-40]. Для решения этих задач можно также использовать PLOT-, SCOT- и микронасадочные колонки.

PLOT-колонки — это кварцевые капиллярные колонки, на внутренние стенки которых нанесен слой адсорбента (рис. 2-7). В наг стоящее время в качестве адсорбента используют Al_2O_3/KCl , молекулярные сита или пористые полимеры (близкие по составу к порпаку Q). В работах де Зеюва и де Нийса [41, 42] прекрасно изложены вопросы теории и изготовления этих колонок и приведены примеры их практического использования. К недостаткам этих колонок отнести меньшую эффективность по сравнению с WCOT-колонками, невысокую инертность и снижение стабильности и воспроизводимости во времени.

SCOT-колонки — капиллярные колонки, на внутренних стенках которых нанесен слой носителя с НФ, — реже используются в высокоэффективной ГХ из-за низкой инертности носителя. В SCOT-колонках НФ наносится на твердый носитель, прикрепленный к стенке колонки. Основным достоинством колонок этого типа является возможность применения широкого ассортимента НФ. Многие специалисты, работающие в области высокоэффективной газовой хроматографии, считают, что для достижения высокой эффективности не требуется большого количества различных фаз, а можно обойтись ограниченным набором. Поэтому для внедрения SCOT-колонок в хроматографическую практику необходимо показать их перспективность.

Микронасадочные капиллярные колонки — это капиллярные колонки, практически целиком заполненные носителем [43-46]. В будущем микронасадочные и SCOT-колонки, вероятно, найдут большее применение для проведения некоторых анализов, но их широкое использование в настоящее время выглядит проблематично.

Таблица 2—1. Традиционные НФ, используемые в WCOT-колонках

| Состав | Полярность | Определение вещества | Фазы с близкими константами Мак-Рейнольдса | Диапазон температур, °C |
|--|------------|---|--|-------------------------|
| 1. 100% диметилполисилоксан (каучук) | Неполярная | Фенолы, углеводороды, амины, серосодержащие соединения, пестициды, полихлорированные бензолы | OV-1, SE-30 | -60-325 |
| 2. 100% диметилполисилоксан (вязкая жидкость) | » | Производные аминокислот, эфирные масла | OV-101, SP-2100 | 0-280 |
| 3. 5% дифенил, 95% диметилполисилоксан | » | Жирные кислоты, метиловые сложные эфиры, алкалоиды, лекарственные препараты, гадогенсодержащие соединения | SE-52, OV-23, SE-54 | 60-325 |
| 4. 14% цианопропилфенилполисилоксан | Средняя | Лекарственные средства, стероиды, пестициды | OV-1701 | -20-280 |
| 5. 50% фенил, 50% метилполисилоксан | » | Лекарственные средства, стероиды, пестициды, гвколи | OV-17 | 60-240 |
| 6. 50% цианопропилметил, 50% фенил | « | Жирные кислоты, метиловые сложные эфиры, ацетаты алдитола | OV-225 | 60-240 |
| 7. 50% трифторпропилполисилоксан | « | Гадогенсодержащие соединения + ароматические соединения | OV-210 | 45-240 |
| 8. ПЭГ, модифицированный терефталевой кислотой | Полярная | Кислоты, спирты, альдегиды, акрилаты, нитрилы, кетоны | OV-161, SP-2100 | 60-240 |
| 9. ПЭГ | « | Свободные кислоты, спирты, простые эфиры, эфирные масла, гликоли, растворители | Карбовакс 20 М | 60-220 |

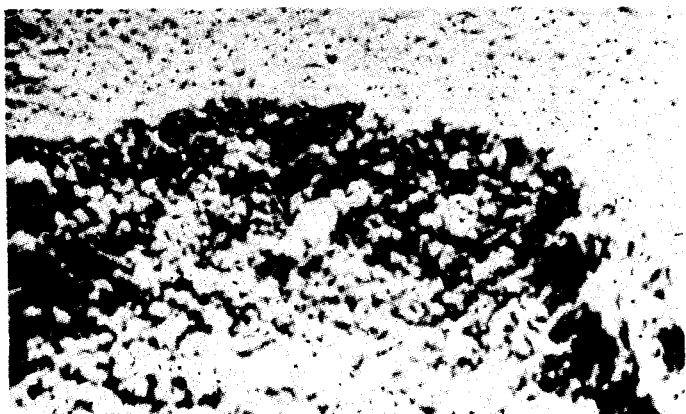


Рис. 2-7. Электронная микрофотография адсорбента, используемого в PLOT-колонках (с разрешения Chrompack International, Нидерланды).

Типы неподвижных фаз (поперечно-сшитые и привитые) и их устойчивость

В настоящее время промышленностью выпускается 9 основных типов жидких фаз, наиболее часто используемых в WCOT-колонках. Кроме того, фирмы — производители фаз выпускают в широком ассортименте специально приготовленные фазы для проведения определенных разделений. В табл. 2-1 перечислены стандартные НФ и приведены их хроматографические характеристики.

Благодаря тому что ассортимент выпускаемых НФ сравнительно невелик, а в последние 5 лет опубликовано большое число работ, посвященных применению этих фаз, выбор нужной фазы стал сравнительно простым делом. Для получения качественных кварцевых капиллярных колонок необходимо, чтобы унос фазы из колонки был низким. Многие фирмы, специализирующиеся на выпуске капиллярных колонок, сами выпускают НФ для нанесения их на колонку. Эти фазы позволяют получать высокоэффективные колонки, характеризующиеся низким испарением НФ из колонки. Однако результаты анализов, проведенных с использованием аналогичных НФ, выпускаемых разными фирмами, могут и не совпадать. Это становится более очевидным при рассмотрении полярных фаз. Ситуация может еще более усложниться, если учесть различные методы производства колонок [79]. Различия в этих фазах проявляются чаще всего в изменении степени инертности к некоторым классам соединений (например, спиртам, кислотам, аминам) и положения пика на хроматограмме (изменение времени или индекса удерживания) [80] (рис. 2-8).

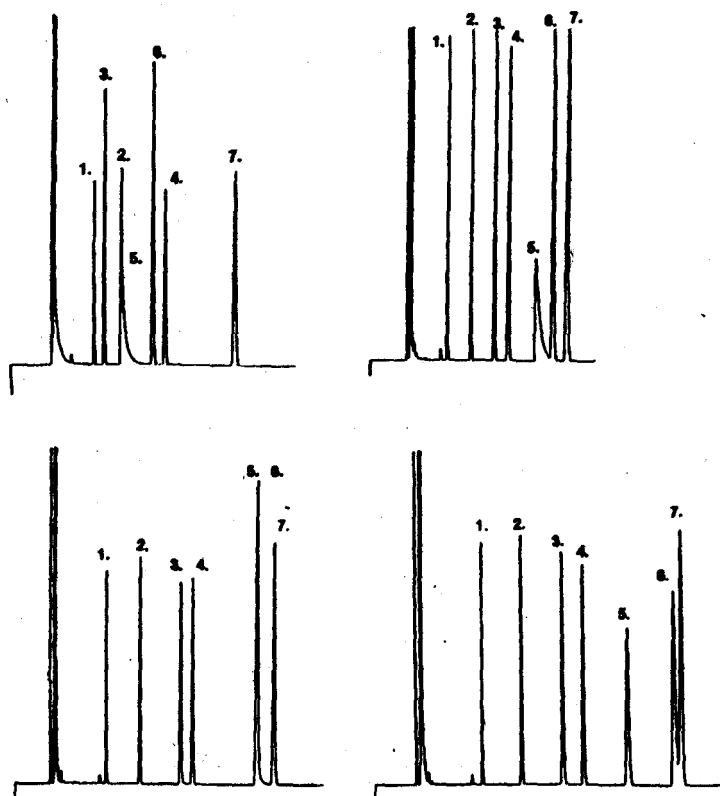


Рис. 2-8. Сравнение хроматограмм стандартной смеси, полученных на 4 колонках со сшитой фазой карбовакс 20 М. Использовали 4 образца карбовакс 20 М, выпускаемого разными фирмами-производителями.

1 — тетрадекан; 2 — пентадекан; 3 — *n*-октано́л; 4 — гексадекан; 5 — масляная кислота; 6 — дициклогексилламин; 7 — гептадекан.

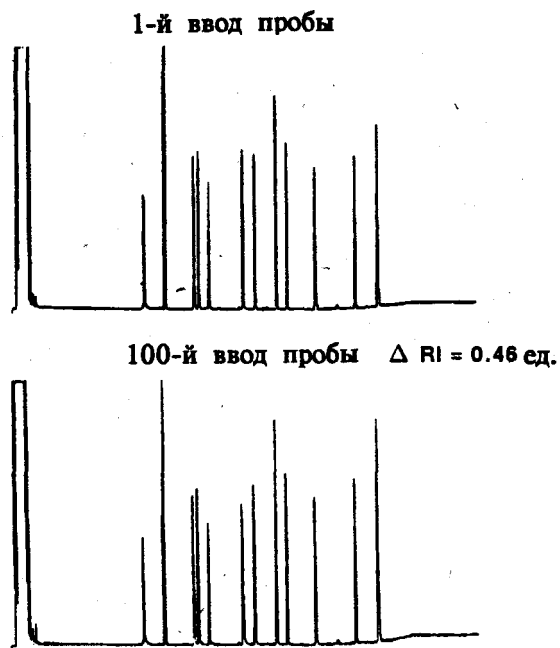


Рис. 2-9. Сравнение хроматограмм, полученных после первого и сотого непосредственного ввода в колонку пробы, растворенной в метаноле.

Хотя изменение положения пика может быть небольшим (5-10 единиц индекса удерживания), для потребителя, проводящего химическую идентификацию методом ГХ, последствия этого могут быть катастрофическими. Эта проблема хорошо известна, поэтому во многих методиках ГХ указывается не только тип колонки, но и производитель НФ. К сожалению, указание производителя фазы не гарантирует того, что удастся воспроизвести описанную методику. Это объясняется тем, что незначительное изменение условий получения колонок влияет на воспроизводимость последних. Разделение, осуществленное на "лучшей" колонке из партии, может и не воспроизвестись на "худшей" колонке.

В предыдущей главе указывалось, что для проведения некоторых разделений могут быть приготовлены специальные фазы. Они могут представлять собой смесь двух или более стандартных фаз или фазу с определенными свойствами, синтезированную специально для проведения того или иного анализа. Небольшое изменение химического состава жидкой фазы может принципиально изменить результат разделения, поэтому перед тем, как использовать фазу в хроматографии, ее надо охарактеризовать самым тщательным образом. В настоящее время для характеристики фазы используют следующие методы:

| Метод | Получаемая информация |
|--|---|
| Гель-проникающая хроматография | Распределение по молекулярной массе [81] |
| Спектрофотометрия в УФ и видимой области спектра | Содержание фенильных групп |
| Термический гравиметрический анализ | Термическая устойчивость фазы |
| ИК-спектроскопия | Наличие определенных функциональных групп (например, цианогруппы) |
| ЯМР-спектроскопия | Расположение химических функциональных групп в молекуле фазы |
| Хромато-масс-спектрометрия | Замещение функциональных групп [82] |

До сих пор в том, что касается НФ для газовой хроматографии, нет единого мнения о различиях между сшитыми (поперечно-сшитыми) и привитыми фазами. Каковы в точности преимущества того или иного вида обработки? При проведении большинства разделений необходимо, чтобы фаза была устойчива к действию вводимого растворителя и температуры в течение определенного срока работы [83]. На рис. 2-9 проведено сравнение хроматограмм, полученных при непосредственном вводе в колонку растворенной в метаноле пробы. Первая хроматограмма получена после одного ввода пробы, вторая — после ста вводов. Полученные данные свидетельствуют о стабильной работе колонки: после ста вводов времена удерживания компонентов пробы не изменились, а полученные пики симметричны. Качество колонки гарантирует надежную работу в экстремальных условиях.

Для достижения стабильной работы колонки в экстремальных условиях требуется иммобилизация НФ (путем поперечной сшивки и/или прививки). Поперечная сшивка — это реакция, которая приводит к связыванию отдельных групп полимерной фазы друг с другом с образованием более устойчивой макромолекулярной пленки. Прививка — это процесс химического прикрепления НФ к поверхности кварцевого капилляра. К настоящему времени опубликовано много работ, в которых показано, что сшитые фазы более долговечны и обладают большей термической устойчивостью по сравнению с несшитыми. Поперечная сшивка (вулканизация, иммобилизация) НФ достигается под действием инициаторов — свободных радикалов. Для иницирования сшивки используют пероксиды [84-86], озон [87], гамма-излучение [88-94] и азосоединения [95]. Для того чтобы процесс получения колонок был воспроизводим, необходимо выбрать оптимальный режим иницирования. Схема типичной реакции поперечной сшивки представлена на рис. 2-10.

Сшивка более полярных фаз затруднена, поэтому фирмы-производители выпускают как сшитые, так и несшитые фазы. Колонки со сшитыми фазами можно промывать растворителем с целью регенерации; колонки же с несшитыми фазами промывать нельзя. Поэтому, прежде чем промывать колонку растворителем, следует убедиться в том, что тип колонки позволяет это сделать.

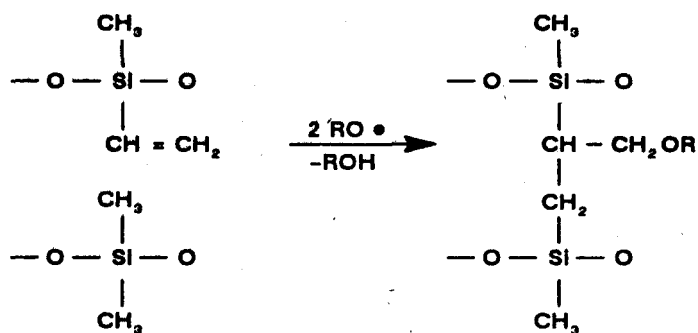


Рис. 2-10. Типичный механизм реакции поперечной сшивки.

Эффективность нанесения фазы определяется в процентах от теоретически возможной. Обычно эффективность нанесения для неполярных силиконовых и более полярных фаз равна соответственно 90-100 и 60-80%. Эффективность нанесения — это мера однородности нанесения НФ на стенки кварцевой колонки. Чем выше однородность, тем больше общее число теоретических колонок для данной колонки. Полярные фазы не так хорошо "смачивают" поверхность кварца, как неполярные силиконовые фазы, поэтому общее число тарелок на длину колонки в этом случае ниже (см. табл. 2-2). Общая эффективность колонки связана также с ее внутренним диаметром. При увеличении внутреннего диаметра колонки снижается эффективность нанесения и резко уменьшается общее число теоретических тарелок.

Таблица 2—2. Сравнение средней эффективности колонок с различными внутренним диаметром и типом фаз. Приведены число тарелок/м и эффективность нанесения, %

| Внутренний Диаметр, мм | Метилсиликоновая фаза (неполярна-я) | Фаза, содержащая 50% феильных групп (средней полярности) | Карбовакс 20 М (полярная) |
|------------------------|-------------------------------------|--|---------------------------|
| 0,1 | 10000/90% | — | |
| 0,2 | 4500/90% | 4200/80% | 4000/70% |
| 0,32 | 3200/90% | 3000/80% | 2500/70% |
| 0,53 | 1500/75% | 1350/60% | 1300/60% |

Некоторая общая информация об устойчивости фаз как при высокой, так и при низкой температуре представлена в табл. 2.1. Как правило, сшитые фазы устойчивы к действию температуры, поэтому их можно нагревать или охлаждать в более широком интервале температуры, чем аналогичные несшитые фазы. Унос фазы из колонки при высокой температуре зависит от термического разложения. В настоящее время за счет кондиционирования и сшивки стандартных фаз удается уменьшить унос фазы из колонки в единицу времени, однако полностью избежать его не представляется возможным. Следовательно, для уменьшения уноса фазы из колонки при высокой температуре следует снизить объем фазы внутри колонки. Это означает, что для работы при высокой температуре наиболее пригодны колонки с тонкой пленкой НФ (0,1 мкм и меньше). Другое ограничение для повышения температуры связано с полиимидным покрытием колонок. При постоянной эксплуатации при температуре выше 380°C полиимидное покрытие стабильно только в течение нескольких суток. Недавно было предложено решение этой проблемы: в качестве защитного покрытия использовали алюминий [96-98]. На рис. 2-11 приведены примеры использования таких колонок.

Выбор колонки

При выборе колонки чаще всего поступают следующим образом:

- Испытывают имеющуюся в распоряжении колонку.
- Обращаются за советом к коллегам.
- Проводят литературный поиск.

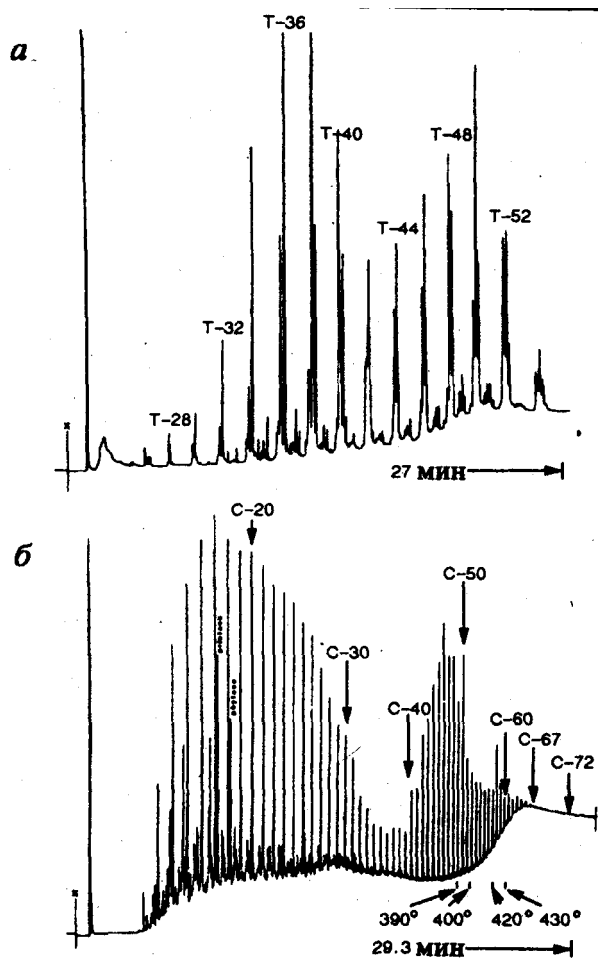


Рис. 2-11. Примеры использования высокотемпературной газовой хроматографии на кварцевых капиллярных колонках с алюминиевым покрытием.

а — определение триглицеридов в масле; б — анализ канадской сырой нефти (с разрешения Quadrex Corporation).

Такой подход является проверенным и надежным, однако он, лишен преимуществ с точки зрения оптимизации хроматографического разделения. Другими словами, пользователь может в конце концов найти правильное решение, однако оно не обязательно будет оптимальным в том, что касается качества разделения, скорости анализа и, возможно, срока службы колонки. Безусловно, всегда приходится с чего-то начинать, и такой подход вполне пригоден в качестве первого этапа, однако на этом не следует останавливаться. Для оптимизации хроматографического разделения проводят тщательный анализ полученных результатов и следуют нескольким проверенным практикой правилам:

- | | |
|-----------|--|
| Проблема: | Пики анализируемых компонентов не разрешены (нет разделения). |
| Решение: | Выбрать более длинную колонку или колонку с меньшим внутренним диаметром. При этом увеличивается селективность. Если использовалась колонка максимально возможной длины или минимально возможного диаметра, единственным решением является замена фазы, что позволит изменить селективность. |
| Проблема: | Слишком хорошее разрешение (признак неопытности исследователя). |
| Решение: | Выбрать колонку меньшей длины или большего внутреннего диаметра или колонку с менее толстой пленкой НФ. Оптимизация анализа необходима, поскольку в противном случае продолжительность анализа будет неоправданно велика. Помните о том, что основным достоинством кварцевых капиллярных колонок является возможность их разрезания на отрезки любой длины. |
| Проблема: | Плохая форма пика. |
| Решение: | Если колонка установлена правильно и прибор исправен, то плохая форма пика может быть обусловлена одной из перечисленных ниже причин или их совокупностью: 1) Компонент пробы не сочетается с неподвижной фазой колонки. Попробуйте использовать другую фазу. Помните, что "подобное растворяется в подобном". Поэтому для разделения полярных компонентов пробы следует использовать полярные фазы. 2) Колонка может быть предназначена для целей, отличных от решения вашей задачи. Следует связаться с поставщиком, изучить спецификацию для данной колонки и сделать вывод, подходит ли она в принципе для решения поставленной задачи. 3) Возможно, что концентрация компонентов пробы слишком велика и толщина пленки НФ недостаточна. Необходимо снизить нагрузку на колонку или перейти к более толстым пленкам НФ. |
| Проблема: | Чрезмерный унос фазы при высокой температуре. |
| Решение: | Использовать колонки с более тонкими пленками сшитой НФ. При выборе оптимальной колонки для разделения важно учитывать следующие характеристики колонки: • эффективность (число теоретических тарелок/м колонки) • значение коэффициента емкости k (мера воспроизводимости толщины пленки) • значение индексов удерживания (характеристика химической природы колонки) • значения высот пиков оснований/кислот (мера инертности колонки) |

- унос фазы (мера термической стабильности колонки).

Имея эту информацию и поразмыслив немного, хроматографист может с уверенностью выбрать колонку, наилучшим образом отвечающую требованиям анализа.

Оценка работы колонки

В последнее десятилетие предложено большое количество стандартных смесей, используемых для оценки колонки [93-103]. На рис. 2-12 показано разделение двух таких полярных смесей. Использование тестовых смесей позволяет получить сведения о параметрах колонки, например об ее инертности, индексах удерживания, эффективности и т. д. [104]. В результате можно сделать общий вывод о качестве колонки. Для проведения оценки необходимы определенный набор стандартных соединений и указание условий проведения тестирования.

Однако, с точки зрения потребителя, условия проведения стандартных испытаний могут иметь лишь косвенное отношение к качеству колонки и сроку ее службы. Во-первых, анализируемая исследователем смесь может быть проще или сложнее стандартной смеси. Во-вторых, пользователь заинтересован в том, чтобы характеристики колонки оставались неизменными при 100-2000 вводах пробы. Поэтому стандартная смесь, используемая производителем колонок, совсем не обязательно совпадает с применяемой пользователем. Более того, эти смеси, возможно, не должны быть одинаковыми. Идеальная ситуация — создание стандартной смеси в лаборатории пользователя. Тогда пользователь получал бы информацию, наилучшим образом отвечающую его нуждам. Например, смесь, используемая в лаборатории охраны окружающей среды, содержала бы пестициды, а используемая в токсикологической лаборатории, — лекарственные препараты. Очень немногие производители колонок используют лекарственные препараты или пестициды в стандартных смесях, поэтому такое испытание по заказу даст потребителю лучшее меры по сохранению этой смеси неизменной. Поскольку большинство стандартных смесей подвержено разложению, необходимо использовать только свежеприготовленные пробы с гарантией их качества. Разложившиеся компоненты пробы дадут неверные данные о работе колонки. Кроме того, неверные данные могут быть получены при плохой работе всей хроматографической системы и (или) неправильной установке колонки (рис. 2-13).

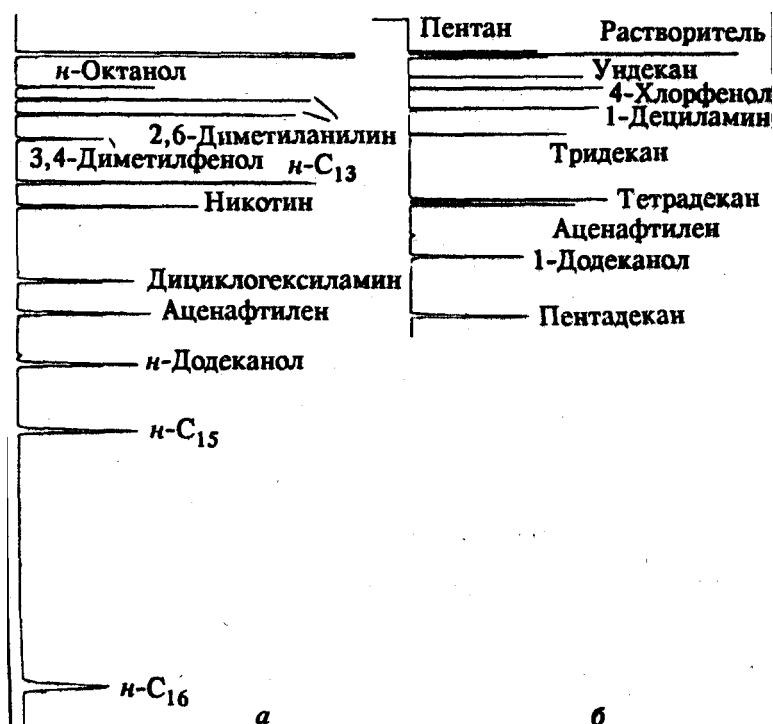
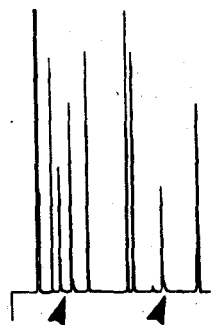


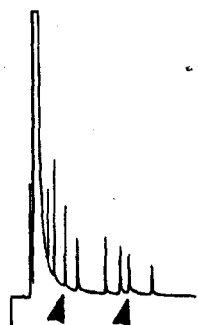
Рис. 2-12. Оценка работы кварцевых WCOT-колонок с использованием типичных стандартных смесей.

а — кварцевая капиллярная колонка 25 м X 0,2 мм, НФ SP-2100, изотермический режим (130°C), газ-носитель водород (32 см/с), хроматограф фирмы Hewlett-Packard, модель 5880 А.

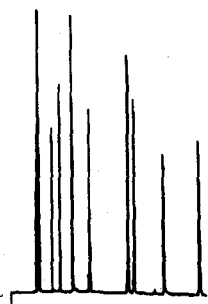
б — кварцевая капиллярная колонка 50 м X 0,32 мм, НФ OV-1, $\beta = 450$, изотермический режим (130°C), газ-носитель водород (27 см/с), хроматограф фирмы Hewlett-Packard, модель 5880 А.



Неправильное положение колонки относительно форсунки ПИД. Колонка недостаточно глубоко входит в форсунку



Неправильное положение колонки относительно узла ввода пробы. Колонка расположена недостаточно близко к отверстию ввода



Правильное положение колонки относительно ПИД и узла ввода пробы

Рис. 2-13. Сравнение работы хроматографической системы при правильной и неправильной установке колонки.

Как осуществлять контроль за работой колонки

1. Выбрать подходящую стандартную смесь
2. Обеспечить правильную работу газохроматографической системы
3. Периодически (еженедельно, ежемесячно) проводить анализ стандартной смеси
4. Собирать данные о работе колонки, а именно об
 - эффективности или разрешении;
 - инертности колонки (отношение высот пиков основания и кислоты);
 - индексах удерживания;
 - уносе фазы из колонки.

Многих проблем, возникающих ежедневно в хроматографической практике, можно избежать, если в лаборатории осуществляется качественный контроль состояния хроматографической системы, колонок, стандартных смесей. Ниже сведены самые важные показатели работы колонки.

- Эффективность
- Количество эффективных теоретических тарелок (изотермические условия)
- Разрешение
- Число разделений (режим программирования температуры)
- Активность
- Определение симметричности пика
- Изменение высоты пика (например, отношение высот пиков основания и кислоты)
- Воспроизводимость от колонки к колонке
- Изменение индекса удерживания
- Изменение k

Кондиционирование, эксплуатация и хранение колонок

Свеженанесенная неподвижная жидкая фаза содержит остаточные следовые количества растворителей, а также низкомолекулярные компоненты. Эти продукты проходят через колонку и регистрируются детектором как "унос фазы с колонки". В результате смещается нулевая линия и появляются посторонние пики, поэтому может потребоваться предварительное кондиционирование колонки. Кроме того, периодическое кондиционирование "старых" колонок целесообразно и потому, что в колонке накапливаются нелетучие компоненты, содержащиеся в пробе или газе-носителе.

Выбор температуры кондиционирования определяется рядом факторов и требует компромиссного решения. При высокой температуре кондиционирования нулевая линия стабильна, однако срок службы колонки сокращается. Менее высокие температуры кондиционирования способствуют продлению срока службы колонки, однако для получения стабильной нулевой линии требуется более длительное кондиционирование. При выборе температуры кондиционирования следует учитывать рабочие температуры и температурные пределы применимости нанесенной НФ. Если предполагается проводить анализ при температуре ниже 200°C, нет никакой необходимости проводить кондиционирование при температуре, превышающей 250°C. Вполне достаточно кондиционировать колонку в течение ночи при 220° и обычных объемных скоростях газа-носителя. Такое кондиционирование будет способствовать продлению срока службы колонки. Во избежание конденсации жидкой фазы и загрязнения детектора при кондиционировании рекомендуется отсоединять колонку от детектора. Перед тем как нагреть новую колонку до температуры выше 50°C, необходимо продуть ее в течение 5 мин чистым газом-носителем с обычной объемной скоростью. При этом из колонки удаляется адсорбированный кислород. Кроме того, необходимо убедиться в том, что газ-носитель проходит через колонку. Под действием высоких температур в отсутствие газа-носителя или при его малом расходе колонки быстро приходят в негодность. Важно, выяснить у поставщика колонок температурные пределы их использования, поскольку у разных фирм они различны. Когда жидкая фаза становится негодной, эффективность колонки резко падает. Часто при вводе пробы без делителя потока или при непосредственном вводе в колонку может произойти вытеснение жидкой фазы с первых 1-2 м колонки. В этом случае рекомендуется отрезать испорченную часть. Укороченную колонку можно продолжать использовать: уменьшение ее длины на 1-2 м не должно существенно повлиять на общую эффективность.

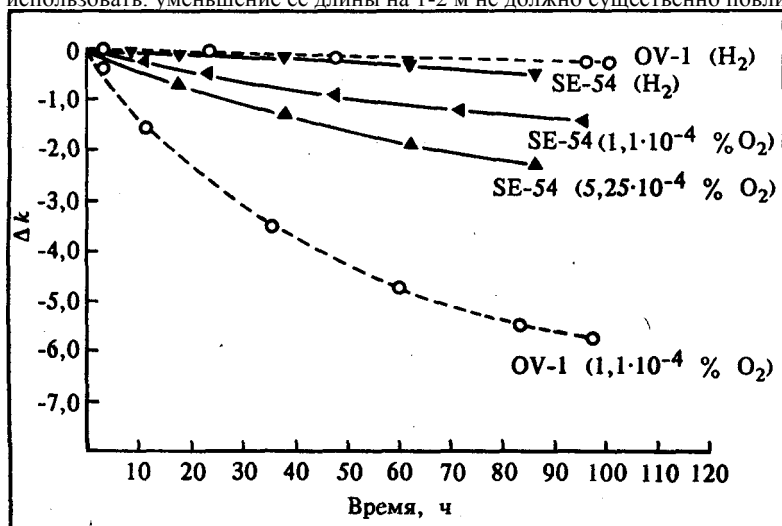


Рис. 2-14. Зависимость коэффициента емкости для пентадекана от давления при 325°C.

Недостаточная чистота газа-носителя и анализ проб, несовместимых с данной колонкой, могут существенно снизить срок службы последней. На качестве колонки также отрицательно сказываются окисление (рис. 2-14) и перегрев фазы (рис. 2-15) [105]. Силиконовые фазы устойчивы к действию воды (рис. 2-16), однако для них вредны кислотные пробы. Сшитая и несшитая фазы карбовакс 20М легко окисляются кислородом, содержащимся в газе-носителе. Кроме того, срок службы колонки с этой фазой может уменьшаться при анализе водных растворов проб. Отрицательно влияют на некоторые жидкие фазы такие растворители, как сероуглерод и диэтиловый эфир.

Если есть вероятность того, что качество колонки ухудшилось за счет накопления в ней нелетучих веществ, содержащихся в пробе, можно рекомендовать следующее:

- 1) Отрезать часть колонки (1-2 м) с той стороны, с которой вводится проба.
- 2) Перевернуть колонку и провести повторное кондиционирование в течение ночи.
- 3) Промыть колонку (рис. 2-17). Промывка колонки — это крайняя мера. Как правило, после промывки регенерируется только 50% колонок. Таким образом, используя этот метод, можно вообще потерять колонку.

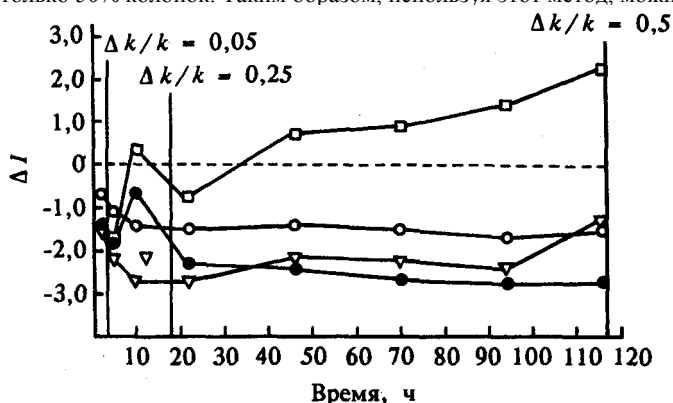


Рис. 2—15. Влияние температуры (400°C) на индексы удерживания (ΔI) для (V) аценафталина, (•) — н-дециламина; (O) — н-додеканоая, (D) — 4-хлорфенола.

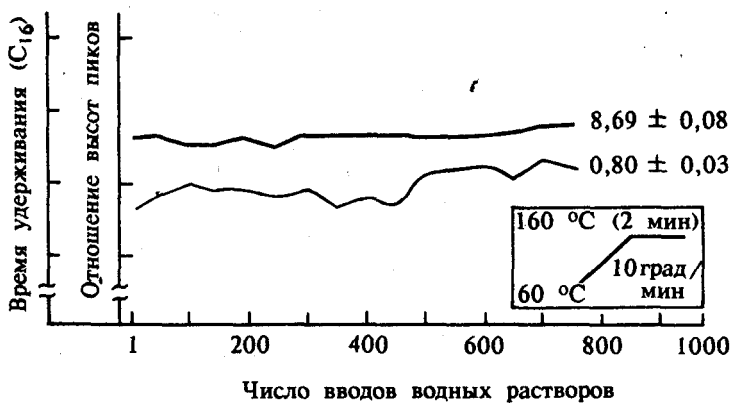


Рис. 2—16. Влияние введения воды (2 мкл/ввод) на время удерживания компонентов пробы и инертность колонки. Определено по соотношению высот пиков п-хлорфенола и м-дециламина для колонки со сшитой метилсиликоновой фазой.

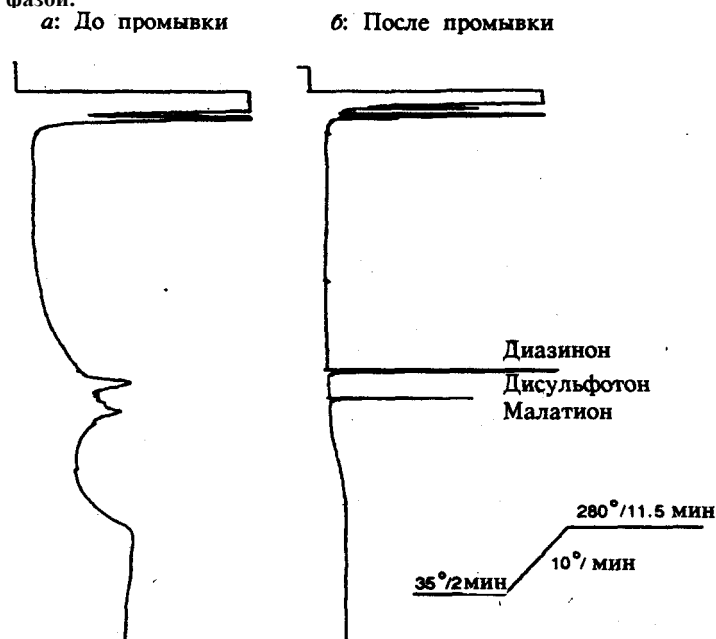


Рис. 2—17. Влияние промывки колонки на результаты анализа пестицидов.

а— хроматограмма экстракта пестицида после повторных вводов пробы непосредственно в колонку;

б— хроматограмма, полученная после промывки колонки смесью метилхлорида и метанола (9:1). Колонка 25м x 0,32 мм, НФ-сшитая SE-54, $\beta = 450$ ($df = 0,11$ мкм), линейная скорость газа-носителя (He) 21 см/с. Температурный режим 35°C (2 мин). Программирование температуры до 280°C (10°C/мин), затем выдержка при 280* (11,5 мин).

Предложены и другие методы реставрации колонок [106,107], но с переменным успехом.

Когда колонка не используется, ее необходимо хранить надлежащим образом. К хранению колонок предъявляются два основных требования:

1. Следует избегать повреждения колонок. Наличие небольшой царапины или трещины может привести к тому, что при нагревании колонка сломается в месте повреждения.
2. Необходимо герметично закрывать концы колонки, чтобы защитить жидкую фазу от попадания кислорода и загрязнения.

Работая с кварцевыми капиллярными колонками, необходимо помнить о мерах предосторожности при работе со стеклом, прежде всего защищать глаза от попадания осколков капилляра.

Тенденции в развитии капиллярных кварцевых колонок

В настоящее время наметились следующие тенденции в развитии капиллярных кварцевых колонок:

1. Использование более коротких колонок с меньшим внутренним диаметром. Такие колонки позволяют достичь чрезвычайно высокой-эффективности и проводить сверхскоростные определения.
2. Применение PLOT- колонок в капиллярной газоадсорбционной хроматографии.
3. Использование высокотемпературных жидких фаз и внешних покрытий.
4. Внедрение смешанных или специально приготовленных фаз для проведения специфических разделений.

Внедрение этих разработок будет во многом зависеть от конструкционных модификаций существующего оборудования. Это касается как небольших изменений — разработки высокотемпературных термостатов и быстродействующей электроники, так и создания новых разновидностей оборудования и материалов, например миниатюрных хроматографических систем — микросхем [110] или микрокассет.

Зная сильные и слабые стороны кварцевых капиллярных колонок, можно по-разному относиться к ним: сомневаться в целесообразности их использования или, напротив, превозносить их. Как и в любой области науки, здесь справедлива пословица "Кто не рискует, тот не выигрывает".

Литература

1. Dandeneau R. D., Zerenner E. H. 1979. Proceedings of the Third International Symposium on Glass Capillary Chromatography, pp. 81-97. Hindelang.
2. Pretorius V., Desty D. H. 1982. *Chromatographia*, 15, 569-574.
3. Ryder B. L. 1983. The Manufacture of Fused Silica Tubing with Exceptional Durability. Pittsburgh Conference and Exposition.
4. Lipsky S. R., McMurray W. J., Hernandez M., Purcell J. E., Billeb K. A. 1980. *J. Chromatogr. Sci.*, 18, 1-9.
 5. Odan K. L., Reese C., Scott R. P. W. 1982. *J. Chromatogr. Sci.*, 20, 425-428.
 6. Lipsky S. R. 1983. *HRC & CC*, 6, 359-365.
 7. Lipsky S. R., McMurray W. J. 1981. *J. Chromatogr.*, 217, 3-17.
8. Stark T. J., Dandeneau R. D., Mering L. 1980. *The Role of the Deactivating Agent in the Preparation of Fused Silica Capillary Columns. Pittsburgh Conference and Exposition.*
9. Buijten J., Blomberg L., Markides K., Wannman T. 1982. *J. Chromatogr.*, 237, 465-468.
 10. Woolley C. L., Markides K. E., Lee M. L., Bartle K. D. 1986. *HRC & CC*, 9, 506-514.
11. Kong R. C., Woolley C. L., Fields S. M., Lee M. L. 1984. *Chromatographia*, 18, 362-366.
 12. Welsch T., Frank H. 1985. *HRC & CC*, 8, 709-714.
13. Markides K. E., Tarbet B. J., Schrengenberger C. M., Bradshaw J. S., Lee M. L., Bartle K. D. 1985. *HRC & CC*, 8, 741-747.
14. Rutten G., de Haan J., van de Yen L., van de Yen A., van Cruchten H., Rijks J. 1985. *HRC & CC*, 8, 664-672.
15. Woolley C. L., Kong R. C., Richter B. -E., Lee M. L. 1984. *HRC & CC*, 7, 329-332.
 16. Trautler H. 1983. *HRC & CC*, 6, 60-63.
 17. Moseley M. A., Pellizzan E. D. 1982. *HRC & CC*, 5, 472-475.
 18. Pretorius V., Desty D. H. 1981. *HRC & CC*, 4, 38-39.
19. Markides K. E., Tarbet B. J., Woolley C. L., Schrengenberger C. M., Bradshaw J. S., Lee M. L., Bartle K. D. 1985. *HRC & CC*, 8, 378-384.
 20. Venema A., Sukkel J. T. 1985. *HRC & CC*, 8, 705-708.
21. Von de Yen L. J. M., Rutten G., Rijks J. A., de Haan J. W. 1986. *HRC & CC*, 9, 741-746.
22. Xu B., Vermeulen N. P. E. 1986. *HRC & CC*, 9, 679-682.
 23. Blum W. 1986. *HRC & CC*, 9, 120-121.
24. Pedant G., Sandra P., Verzele M. 1982. *Chromatographia*, 15, 13-14.
 25. Xu B., Vermeulen N. P. E. 1985. *HRC & CC*, 8, 181-185.
 26. Xu B., Vermeulen N. P. E. 1984. *Chromatographia*, 18, 642-644.
27. Xu B., Vermeulen N. P. E., Smit J. A. M. 1986. *Chromatographia*, 22, 213-218.
28. Grob K., Grab G., Grab K., Jr. 1981. *J. Chromatogr.*, 211, 243-246.
 29. Grob K., Grab G. 1981. *J. Chromatogr.*, 213, 211-221.
 30. Grob K., Grab G. 1982. *HRC & CC*, 5, 119-123.
 31. Grob K., Grab G. 1985. *HRC & CC*, 8, 856-857.
32. Janak K., Kahle U., Tesarik K. 1985. *HRC & CC*, 8, 843-847.
33. Kong R. C.; Lee M. L. 1983. *Chromatographia*, 17, 451-453.
34. Wannman T., Blomberg L., Schmidt S. 1985. *HRC & CC*, 8, 32-44.
 35. Arrendale R. F., Severson R. F., Chortyk O. T. 1983. *HRC & CC*, 6, 436-439.
 36. Kong R. C., Lee M. L. 1983. *HRC & CC*, 6, 319-321.

37. Rohwer E. R., Pretorius V., Hulse G. A. 1985. HRC fc CC, 8, 693-694.
38. Sonihiro P., Temmerman I., Verstappe M. 1983. HRC & CC, 6, 501-504.
39. Grob K., Grab G. 1983. HRC & CC, 6, 133-139.
40. David F., Proot M., Sandra P. 1985. HRC fc CC, 8, 551-557.
41. De Zeeuw J., de Nijs R. C. M., Henrich L. T. 1987. J. Chromatogr. ScL, 25, 71-83.
42. De Nijs R. C. M. 1981. HRC fc CC, 4, 612-615.
43. Malik A., Jumaev A. R., Berezkin V. G. 1986. HRC & CC, 9, 312-313.
44. Beredsin V. G., Malik A., Gavrichev V. S. 1983. HRC & CC 6, 388-389.
45. Malik A., Berezkin V. G., Gavrichev V. S. 1984. Chromatographia, 19, 327-334.
46. Benecke I., Schomburg G. 1985. HRC fc CC, 8, 191-192.
47. Al-Thamir W. K. 1985. HRC fc CC, 8, 143.
48. McManemin G. J., Reuter W. 1985. HRC fc CC, 8, 80-81.
49. Grobter A., Balizs G. 1981. J. Chromatogr. Sci., 19, 46-51.
50. Freeman R. R., Kukia D. 1986. J. Chromatogr. Sci., 24, 392-395.
51. Bwjten J., Blomberg L., Markidef K., Wannman T. 1982. Chromatographia, 16, 183-187.
52. Horka M., Kahle V., Janak K., Tesarik K. 1986. Chromatographia, 21, 454-459.
53. Hinshaw J. V., Jr., Ettore L. S. 1986. Chromatographia, 21, 561-572.
54. Hinshaw J. V., Jr., Ettore L. S. 1986. Chromatographia, 21, 669-680.
55. Takeuchi T., Kitamura H., Spitzer T., Ishii D. 1983. HRC & CC, 6, 666-668.
56. Farbrot A., Folestad S., Larson M. 1986. HRC & CC, 9, 117-119.
57. Ogden M. W., McNair H. M. 1985. HRC & CC, 8, 816-823.
58. Mehran M. F., Cooper W. J., Lautamo R., Freeman R. R., Jennings W. 1985. HRC fc CC, 8, 715-717.
59. Sandra P., David F., Proot M., Diricks I. G., Verstappe M., Verzele M. 1985. HRC fc CC, 8, 782-798.
60. Bradshaw J. S., Adams N. W., Johnson R. S.; Tarbet B. J., Schregenger C. M., Pulsipher M. A., Andrus M. B., Markidef K. E., Lee M. L. 1985. HRC fc CC, 8, 678-683.
61. Markides K. E., Chang H.-C., Schregenger C. M., Tarbet B. J., Bradshaw J. S., Lee M. L. 1985. HRC & CC, 8, 516-520.
62. Rokushika S., Naikwadi K. P., Jadhav A. L., Hatano H. 1985. HRC & CC, 8, 480-484.
63. Benecke I., Schombwg G. 1985. HRC & CC, 8, 191-192.
64. Bradshaw J. S., Crowley S. J., Harper C. W., Lee M. L. 1984. HRC & CC, 7, 89-92.
65. Kuei J. C., Shelton J. I., Castle L. W., Kong R. C., Richter B. E., Bradshaw J. S., Lee M. L. 1984. HRC fc CC, 7, 13-18.
66. Abe •L, Kwamoto S., Musha S. 1983. HRC fc CC, 6, 366-370.
67. Vigh Gy., Hiavay J., Varga-Puchony Z., Welsch T. 1982. HRC & CC, 5, 124-127.
68. Wright B. W., Peaden P. A., Lee M. L. 1982. HRC & CC, 5, 413-416.
69. Sandra P., Van Roelenbosch M., Temmerman I., Verzele M. 1982. Chromatographia, 16, 63-68.
70. Ahnoff M., Johansson L. 1984. Chromatographia, 19, 151-154.
71. Aerts A., Rijks J., Bemgard A., Blomberg L. 1986. HRC & CC, 9, 49-56.
72. Lee M. L., Kong R. C., Woolley C. L., Bradshaw J. S. 1984. J. Chromatogr. Sd., 22, 136-142.
73. Stark T., Larson P. A.; Dandeneau R. D. 1983. J. Chromatogr., 279, 31-40.
74. Schomburg G., Benecke L, Severin G. 1985. HRC & CC, 8, 391-394.
75. Bemgard A., Blomberg L., Lyman M., Claude S., Tabacchi R. 1987. HRC fc CC, 10, 302-318.
76. Kuei J. C., Tarber B. J., Jackson W. P., Bradshaw J. S., Markides K. E.; Lee M. L. 1985. Chromatographia, 20, 25-30.
77. Pulsipher M. A.; Johnson R. S., Markides K. E., Bradshaw J. S., Lee M. L. 1986. J. Chromatogr. Sd., 24, 383-391.
78. Matisova E., Hudec D., Garaj J., Kraus G., Schierhorn M., Jensenberg A. 1985. Chromatographia, 20, 601-608.
79. Jennings W. G.; Wohleb R. H., Jenkins R. G. 1981. Chromatographia, 14, 484-487.
80. Kramer J. K. G., Fouchard R. C., Jenkins K. J. 1985. J. Chromatogr. Sd., 23, 54-56.
81. Vigh Gy., Bartha A.; fflavay J. 1981. HRC & CC, 4, 3-5.
82. Temmerman I., Sandra P., Verzele M. 1985. HRC fc CC, 8, 513-515.
83. Pizzala R. U., Freeman R. R., Plotzcyk L. L. 1983. Hewlett-Packard Application Note 228-30. HP Pub. No. 43-5953-1708.
84. Grob K., Grab G. 1981. HRC & CC, 4, 491-494.
85. Martinez de la Gandara V., Sanz J., Martinez-Castro J. 1984. HRC fc CC, 7, 44-45.
86. Lipsky S. D., McMurray W. J. 1982. J. Chromatogr., 239, 61-69.
87. Chuang C. H., Shanfield H., Zlatkis A. 1987. Chromatographia, 23, 169-170.
88. Etier O., Vigh Gy. 1984. HRC & CC, 7, 700-701.
89. Vigh Gy., Etier O. 1984. HRC & CC, 7, 620-624.
90. Barry E. F., Chabot G. E., Ferioli P., Hubball J. A., Rand E. M. 1983. HRC & CC, 6, 300-305.
91. Hubball J. A., DiMauro P. R., Barry E. F., Lyons E. A., George W. A. 1984. J. Chromatogr. Sd., 22, 185-191.
92. Schomburg G., Husmann H., Ruthe S., Herraiz M. 1982. Chromatographia, 15, 599-610.
93. Hubball J. A., DiMauro t-. R., Smith S. R., Barry E. F. 1984. J. Chromatogr., 302, 341-350.
94. Etier O., Vigh Gy. 1985. HRC fc CC, 8, 42-44.
95. Richter B. E., Kuei J. C., Park N. J., Crowley S. J., Bradshaw J. S., Lee M. L. 1983. HRC & CC, 6, 371-374.
96. Lipsky S. R., Duffy M. L. 1986. HRC & CC, 8, 376-382.
97. Lipsky S. D., Duffy M. L. 1986. LC-GC 4, 898-906.
98. Lipsky S. R., Duffy M. L. 1986. HRC fc CC, 9, 725-730.
99. Seferovic W., Hinshaw J. V., Jr., Ettore L. S. 1986. J. Chromatogr. Sci., 24, 374-382.
100. De Nijs R. C. M., Dooper R. P. M. 1980. HRC & CC, 3, 583-584.
101. Freeman R. R. 1983. Hewlett-Packard Application Note AN 228-36. HP Pub. No. 43-5953-1747.
102. Grab K., Jr., Grab G., Grab K. 1978. J. Chromatogr., **186**, **1**.
103. Temmerman L, Sandra P. 1986. HRC & CC, 9, 117-119.
104. Moncur J. G. 1982. HRC fc CC, 5, 53-55.
105. Lareon P., Stark T., Dandeneau R. 1981. Proceedings of the Fourth International Symposium on Capillary Chromatography. Hindelang, R. E. Kaiser, Ed., pp. 727-750.
106. Schwartz M., Klun J. A. 1982. HRC & CC, 5, 380-381.

107. *Ogden M. Ж, McЛГог Я. М.* 1985. HRC & CC, 8, 326-331.
108. *Proot M., Sandra P.* 1986. HRC & CC, 9, 618-623.
109. *Farbrot A., Folestad S., Larsson M.* 1986. HRC & CC, 9, 117-119.
110. *Pacholec, F.* 1986. LC-GC, 4, 432-441.

Дополнительная литература

- Blomberg L. G., Markides K. E.* 1985. HRC & CC, 8, 632-650.
Blomberg L. G. 1984. HRC & CC, 7, 232-241.
Ettre L. S. 1985. Anal. Chem., **57**, 1419-1436.
Duffy M. L. 1985. Am. Laboratory, 94-105.
Grab K. 1987. J. Chromatogr., 398, 391-392.
Hinshaw J. 1988. LC-GC, 6, 24-29.
Tarbet B. J., Bradshaw J. S., Markides K. E., Jones B. A., Lee M. L.
1988. LC-GC, 6, 233-248.

Глава 3

Ввод пробы в капиллярную колонку

П. Сандра

Введение

"Если колонку часто называют сердцем хроматографии, то стадию ввода пробы в колонку можно с некоторыми оговорками назвать ахиллесовой пятой". Это высказывание Преториуса [1] отражает тот факт, что ввод пробы в капиллярной хроматографии имеет первостепенное значение. Функционирование системы ввода пробы определяет успешную работу всей хроматографической (Системы. Проведенные в последние годы исследования обеспечили существенное углубление наших представлений о явлениях, происходящих при вводе пробы в колонку. Были разработаны различные режимы ввода пробы. Необходимость использования различных вариантов ввода обусловлена, во-первых, тем, что хроматографирование определяется множеством параметров колонки, например: ее внутренним диаметром, толщиной пленки НФ, емкостью колонки, видом и линейной скоростью газа-носителя. Во-вторых, Современная капиллярная газовая хроматография позволяет анализировать соединения различной летучести и термической устойчивости в широком интервале концентраций. "Универсальный" оптимальный вариант ввода пробы в капиллярную колонку до сих пор не разработан, и сомнительно, чтобы такой вариант существовал в принципе. Дженкинс и Дженнингс [2] считают, что в настоящее время не существует и в будущем вряд ли появится устройство или методика, пригодная для ввода любых соединений в любых условиях. "Универсальной системы ввода пробы до сих пор нет и, по-видимому, никогда не будет" [3].

Однако это не означает, что нельзя получить правильные и воспроизводимые результаты с использованием различных систем ввода пробы, разработанных в последние годы. Следует только знать возможности и ограничения этих систем. Если к тому же имеется достаточно информации о составе анализируемого образца, можно с гарантией получить хорошие результаты разделения. Качественный и количественный хроматографический анализ предполагает, что полученные результаты соответствуют истинному составу смеси. Возможные искажения являются результатом несовершенства метода ввода пробы, различных эффектов колонки, детектора или совокупности этих факторов. Система ввода может обладать "дискриминационным" эффектом, т. е. некоторые компоненты пробы нельзя количественно ввести в колонку. В самой колонке может происходить необратимая или обратимая адсорбция некоторых компонентов пробы. Кроме того, функционирование колонки может зависеть от условий ввода пробы. Однако, прежде чем сделать вывод о несоответствии системы ввода пробы, следует внимательно изучить свойства колонки.

Основным требованием к системе ввода пробы в колонку является полное соответствие состава пробы, введенной в виде узкой зоны, исходному составу анализируемой смеси. Ширина зоны должна быть такой, чтобы ее дисперсия была несущественной по сравнению с дисперсией, обусловленной размытием пика. Общая измеренная дисперсия (σ_m) представляет собой сумму дисперсий:

$$\sigma_m^2 = \sigma_c^2 + \sigma_i^2 + \sigma_{ex}^2, \quad (3.1)$$

где σ_m — измеренная вариация пика (общее размытие пика), σ_c — вариация пика в колонке, σ_i — вариация пика на входе в колонку, σ_{ex} — внеколоночная вариация пика.

В современных капиллярных газохроматографических системах вклад внеколоночной дисперсии (изменение ширины пика за счет электрометра, системы обработки и регистрации данных) близок к нулю, поэтому

$$\sigma_m^2 = \sigma_c^2 + \sigma_i^2. \quad (3.2)$$

В уравнение входят величины (σ^2 , поэтому вклад изменения исходной ширины зоны в общее размытие не так существен, как это можно было предположить. Например, пик с размытием хроматографической зоны 5 с в случае исходной ширины зоны в 1 с имеет общее размытие 5,1 с, а в случае ширины зоны 2с — 5,3 с. Следовательно, для классической капиллярной колонки вполне допустима ширина исходной зоны, равная 1 с. При более высокой емкости колонки, т. е. при большем размытии хроматографической зоны, ее исходная ширина имеет еще меньшее значение.

Для введения пробы в виде узкой зоны используют два подхода:

1. В колонку вводят очень маленькие пробы (от 1 до 5 нл). Для этого используются устройства деления потока. Пары пробы, образовавшиеся за счет высокой температуры при вводе пробы, разделяются на два потока с различными объемными скоростями. Другая возможность — "холодное" деление жидкой пробы — еще пока недостаточно изучена. 2. Вся проба целиком вводится в колонку, после чего широкая исходная зона сразу же превращается в узкую. Сужение зоны достигается за счет фокусирования: термического эффекта растворителя или фокусирования посредством НФ. На практике эти приемы успешно используют при вводе пробы без делителя потока, прямо или непосредственным вводе пробы в колонку.

В следующих разделах будут более подробно рассмотрены основные системы ввода пробы, а именно:

1. Ввод пробы с делителем потока (split injection).

2. Ввод пробы без делителя потока (splitless injection).
3. Ввод пробы в колонку (on-column injection).
4. Прямой ввод пробы (direct injection).
5. Ввод пробы с программированием температуры испарителя (programmed temperature vaporizing injection).

Особое внимание будет обращено на количественную сторону различных вариантов ввода пробы. Будут рассмотрены критерии выбора системы ввода при проведении стандартных анализов, а также влияние системы ввода на оптимальные размеры хроматографической колонки.

В рамках этой книги невозможно подробно рассмотреть все аспекты, связанные со вводом пробы. В прекрасных монографиях К. Гроба-младшего [4, 5] подробно рассмотрены различные методы ввода пробы. Обзор систем ввода пробы представлен также в книге Р. Сандра "Sample Introduction in Capillary GC", Vol. 1 [3]; Vol. 2 [6].

Ввод пробы с делением потока

Метод ввода пробы с делением потока был первым, разработанным в капиллярной газовой хроматографии [7]. Обычное устройство ввода пробы с делением потока представляет собой испаритель. Пробка жидкости, введенная с помощью шприца, мгновенно испаряется, и небольшая часть паровообразной пробы поступает в колонку. Основная же часть пробы выводится из системы. Использование делителя потока гарантирует получение узких зон пробы на входе в колонку.

На рис. 3-1 схематически изображен делитель потока. Предварительно нагретый газ-носитель, расход которого устанавливается

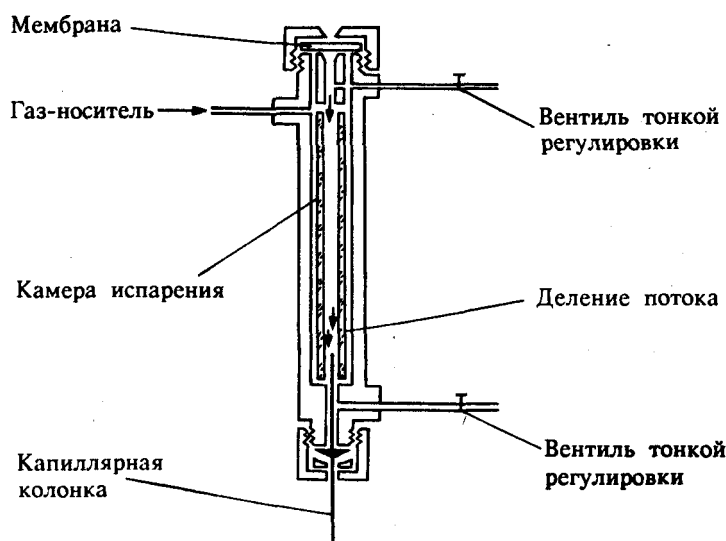


Рис. 3—1. Схема устройства ввода пробы с делителем потока.

с помощью регулятора давления или регулятора расхода в сочетании с регулятором противодействия [8], поступает в устройство ввода пробы. При этом газовый поток разделяется. Часть потока газа-носителя направляется вверх и омывает мембрану. Объемная скорость этого потока регулируется игольчатым вентилем и составляет обычно 3-5 мл/мин. Основная часть потока газа-носителя поступает в камеру испарения, представляющую собой вкладыш из стекла или кварца. В камере испарения паровообразная проба смешивается с газом-носителем. На входе в колонку этот смешанный поток разделяется, и только небольшая часть потока поступает в колонку. Коэффициент деления потока регулируется вентилем тонкой регулировки или регулятором потока. Для обычных капиллярных колонок внутренним диаметром 0,22-0,32 мм его значение, как правило, составляет 1:50 — 1:500. Низкие соотношения деления потока могут быть реализованы в сочетании с фокусированием пробы. Для колонок с высокой емкостью, наг пример широких или с толстым слоем НФ, соотношения деления потока обычно низкие (1:5 — 1:50). В высокоскоростной капиллярной газовой хроматографии, где используются колонки внутренним диаметром 50-100 мкм, соотношение деления потока может превышать 1:1000.

При вводе пробы с делением потока получают очень узкие исходные зоны. Однако следует учитывать, что можно, в случае необходимости, практически "на ходу" корректировать объем пробы и соотношение деления потока. Проиллюстрируем это следующим примером:

| | |
|--|--------------------------|
| Концентрация пробы | 0,01 — 0,1% |
| Содержание в 1 мкл | 0,01 — 0,1 мг |
| Чувствительность пламенно-ионизационного детектора | ~1 нг |
| Размеры колонки | 25 м x 0,25 мм |
| Толщина пленки НФ | 0,25 мкм |
| Емкость колонки по пробе | 50 нг каждого компонента |
| Объем и размеры вкладыша | 1 мл (8см ± 0,4см) |

Объем пробы 1 мкл-0,4 мл паровообразной пробы» разбавленной газом-носителем до ~ 0,8 мл

При ширине исходной зоны 1 с объемная скорость потока через делитель должна составлять 0,8 мл/с или 50 мл/мин. При объемной скорости газа-носителя в колонке 2 и 1 мл/мин это будет достигаться соответственно при соотношениях деления потока

1:25 | 1:50. Такое рассуждение будет, разумеется, справедливо только в отсутствие эффектов фокусирования. При вводе пробы с делителем потока происходит мгновенное ее испарение, поэтому трудно избежать дискриминации (искажения) пробы.

Дискриминация пробы наиболее выражена, если компоненты пробы присутствуют в разных концентрациях и имеют различную летучесть и полярность.

Дискриминация пробы при вводе с делителем потока обусловлена как характеристиками устройства ввода, так и условиями и ввода, например работой шприца.

Дискриминация компонентов пробы, обусловленная характеристиками устройства ввода, проявляется как нелинейность делителя потока. Линейность делителя потока означает, что соотношение деления потока в точке деления равно предварительно установленному и одинаково для всех компонентов пробы. Если смесь содержит компоненты с различной летучестью, полярностью и концентрацией, то линейное деление потока невозможно, даже если ввод пробы в камеру испарения происходит без дискриминации.

Нелинейность деления потока обусловлена рядом причин:

- 1) различной скоростью диффузии компонентов пробы;
- 2) неполным испарением;
- 3) нестабильностью соотношения деления потока.

Механизмы возникновения нелинейности деления потока и их относительный вклад подробно рассмотрены в книге Гроба [4].

Нелинейность деления потока удается свести к минимуму при полном испарении пробы с последующим перемешиванием ее с газом-носителем до введения в колонку. Очевидно, что часто при введении пробы с делением потока в месте деления проба представляет собой смесь паров и неоднородных капель.

Для того чтобы избежать неоднородности этой смеси, следует:

- повышать температуру ввода пробы;
- использовать оптимальную конфигурацию устройства ввода и стеклянных вкладышей.

Для достижения эффективного теплопереноса и тщательного смешения газа-носителя с испаренной пробой были предложены различные виды стеклянных вкладышей: незаполненные трубки; короткие трубки, заполненные стекловатой и помещаемые в месте деления потока или в области ввода пробы; длинные и узкие трубки со стекловатой; трубки, заполненные носителем или стеклянными шариками; трубки, переменного диаметра; трубки Дженнинга и т. д. Использование таких вкладышей в некоторых случаях помогает уменьшить дискриминацию компонентов пробы, но иногда может привести к еще большей дискриминации других компонентов.

Положительный эффект, достигаемый при использовании трубки со слоем носителя, можно продемонстрировать на примере анализа смеси метиловых эфиров жирных кислот. Такую смесь получают в процессе метанолиза масел или жиров. На рис. 3-2 представлена хроматограмма стандартной смеси эфиров и схема вкладыша. Содержание метиловых эфиров жирных кислот состава C_{10} — C_{22} можно определить с высокой правильностью и воспроизводимостью, используя способ "быстрого ввода горячей иглой". Проба вводится в стеклянный вкладыш, неплотно заполненный дезактивированными стеклянными шариками размером 100 мкм. Эфиры жирных кислот вводятся в виде раствора в изооктане. При коэффициенте деления потока 1:100 время нахождения пробы во вкладыше очень мало. Дополнительный нагрев обеспечивает полное испарение пробы и снижает дискриминацию.

Однако в некоторых случаях использование вкладышей с насадкой приводит к размыванию пика, особенно если вкладыш плотно заполнен насадкой. Это размывание обусловлено диффузией через насадку, причем предполагается, что во вкладыше не происходит ни адсорбции, ни распределения компонентов пробы. Для того чтобы избежать размывания пика, прибегают к термическому фокусированию пробы, в капиллярной колонке. В большинстве случаев теплоперенос в пустом, незаполненном вкладыше достаточен для того, чтобы проба в нем испарилась. Как правило, заполненные вкладыши не рекомендуются использовать, пока нет уверенности в том, что вкладыши без насадки не позволяют

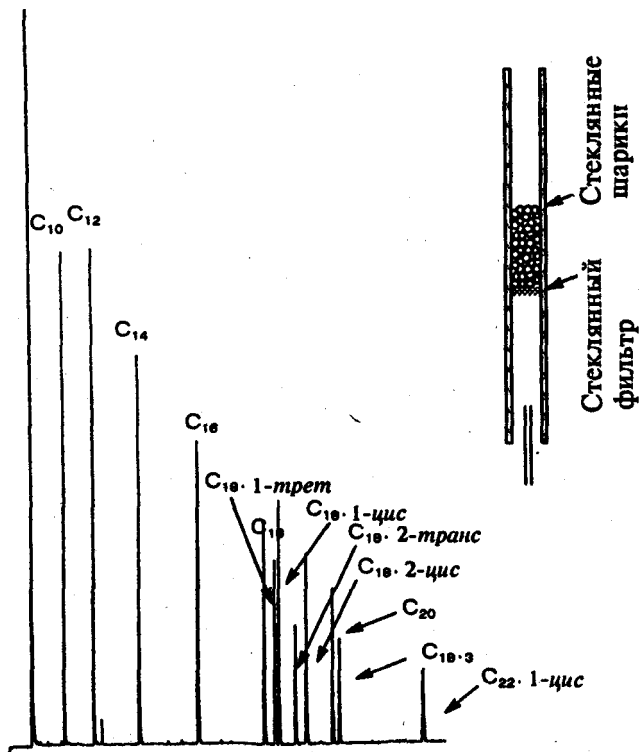


Рис. 3-2. Анализ смесц метиловых эфиров жирных кислот. Условия анализа: кварцевая колонка 25 x 0,25 мм, НФ 90% цианопр-пил, 5% винил, 5% метилсиликон, $df = 0,2$ мкм. Программированный подъем температуры от 120 до

180°С со скоростью 4 град/мин; газ-носитель водород (55 кПа), коэффициент деления потока 1:100, проба вводится в виде 0,2%-ного раствора в изоктане.

получать хорошие результаты. Например наилучшие результаты анализа смеси эфирных масел были получены при использовании делителей потока с пустыми вкладышами. Эфирные масла представляют собой сложные смеси соединений, компоненты которых сильно различаются по концентрации и полярности. Однако температуры кипения этих соединений лежат в довольно узком интервале, так что проба полностью испаряется в нагреваемом до 250 — 260°C устройстве ввода с полым вкладышем. Использование для разделения таких смесей делителя потока с заполненным вкладышем часто сопровождается адсорбцией полярных и разложением термически неустойчивых компонентов пробы.

Еще одно преимущество ввода пробы с делением потока при анализе эфирных масел или других сложных смесей, содержащих компоненты с близкими температурами кипения, состоит в том, что можно подсоединить две колонки к одному отверстию ввода пробы. В этом случае, однократно введя пробу, можно одновременно провести разделение смеси на двух различных неподвижных фазах [9-11].

На рис. 3-3 приведена хроматограмма анализа сесквитерпеновой фракции бальзама пачули, полученная с использованием двухканального метода.

По сравнению с методами ввода пробы, в которых используются эффекты фокусирования, при вводе пробы с делением потока получают очень высокую воспроизводимость величин удерживания. Можно легко рассчитать индексы удерживания на обеих колонках и сравнить их с табличными данными [12].

Предыдущие рассуждения основаны на предположении о том, что при вводе пробы шприцем не происходит никакого изменения пробы, т. е. дискриминации компонентов. Однако большинство проблем, связанных с дискриминацией компонентов пробы, обусловлено именно эффектами иглы шприца. При прохождении иглы шприца через мембрану начинается испарение летучих компонентов в самой игле, которая нагревается в устройстве ввода. Кроме того, после нажатия поршня шприца растворитель и летучие компоненты смеси испаряются быстрее, чем высококипящие компоненты. Последние частично остаются на стенках иглы шприца. При удалении иглы из устройства ввода вместе с ней удаляются и нелетучие компоненты. Это приводит к дискриминации компонентов смеси по их летучести. На рис. 3-4 [13] приведен типичный пример дискриминации n-алканов при вводе пробы с делителем потока.

Были изучены многочисленные варианты как медленного, так и быстрого ввода пробы шприцем. Использовали ввод пробы заполненной, горячей, холодной иглой, промывали иглу растворителем или продували воздухом, применяли так называемый сэндвич-метод. В этой главе мы рассмотрим быстрый ввод пробы горячей иглой. Использование этого варианта обеспечивает минимальную дискриминацию пробы, обусловленную шприцем, хотя полностью избежать ее при анализе проб, содержащих компоненты разной летучести, невозможно.

При вводе горячей иглой набирают пробу в шприц таким образом, чтобы между ней и поршнем шприца не было воздушной пробки (например, в шприц емкостью 10 мкл набирают 2 мкл пробы и поднимают поршень до отметки 5 мкл). После введения иглы в зону ввода пробы в течение 3 — 5с происходит нагрев иглы. Этого времени достаточно, чтобы игла шприца нагрелась до температуры испарителя. Только после этого быстро опускают поршень (быстрый ввод пробы) и через 1 с вынимают иглу из устройства ввода пробы. Эта методика была опробована рядом исследователей. Отмечена хорошая воспроизводимость полученных результатов.

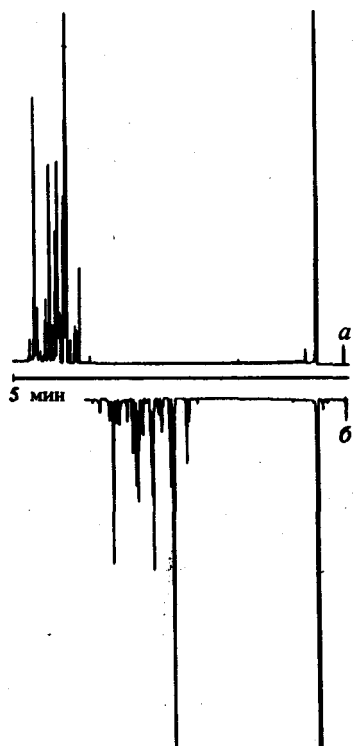


Рис. 3—3. Анализ сесквитерпеновой фракции бальзама пачули, проведенный с использованием двухканальной системы. Условия эксперимента: программирование температуры от 60 до 180° со скоростью подъема температуры 20 град/мин, газ-носитель водород (207 кПа), деление потока 1:800.

а — кварцевая колонка 10м x 0,1 мм, НФ ПЭГ 20 М, $d' = 0,2$ мкм; б — кварцевая колонка 10м x 0,1 мм, НФ ОV-1, $df = 0,2$ мкм.

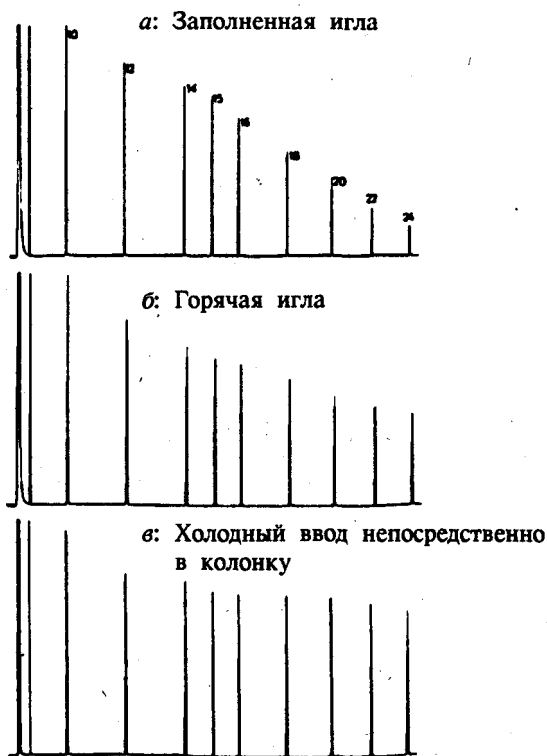


Рис. 3-4. Дискриминация n-алканов при вводе пробы различными методами (из работы [13] с разрешения издательства Dr. A. Huethig). По сравнению с холодным вводом пробы непосредственно в колонку при вводе пробы заполненной горячей иглой наблюдается искажение результатов по содержанию n-алканов, причем оно наиболее выражено в первом случае. Условия эксперимента: смесь n-алканов в n-гексане, коэффициент деления потока 1:40.

Важно отметить, что на результаты анализа существенно влияет и качество самого шприца. При "старении" шприца может нарушаться герметичность корпуса, портиться поршень и т. д. Следует любой ценой избегать использования неисправных шприцев. Необходимо отметить, что получение достоверных количественных и качественных результатов возможно только при использовании чистых испарителей. На рис. 3-5 [15] приведены хроматограммы, иллюстрирующие влияние загрязнений в испарителе на результаты анализа.

Дискриминация компонентов пробы, обусловленная шприцем, тесно связана с нагреванием иглы в камере испарителя. Можно разработать такие системы, в которых это явление не наблюдается вообще или сводится к минимуму.

Замедления нагрева иглы в испарителе можно достичь при

- вводе пробы охлажденной иглой;
- очень быстром вводе пробы;
- вводе пробы при программировании температуры испарителя.

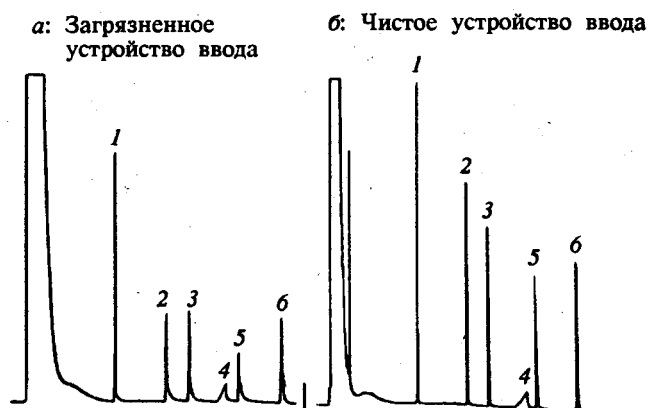


Рис. 3-5. Влияние загрязнений в устройстве ввода пробы (из работы [15], с разрешения издательства Dr. A. Huethig). Условия эксперимента: колонка 20 x 0,31 мм, НФ SE-52, $d/0,14$ мкм. Температура испарителя 30°C. Ввод пробы при 40°C, программирование температуры от 40 до 80° С со скоростью 2,5 град/мин. Газ-носитель водород (2,4 мл/мин), коэффициент деления потока 1:30.

1 — n-декан; 2 — 1-октанол; 3 — 2,6-диметилфенол; 4 — этилгексановая кислота; 5 — 2,6-диметиланилин; 6 — n-додекан.

При использовании первого метода охлаждают иглу во время Ввода пробы [16], так что не происходит селективного испарения компонентов. Очень быстрый ввод пробы [17] не позволяет игле нагреться. Оба эти метода кратко обсуждаются ниже.

Ввод пробы при программировании температуры испарителя будет рассмотрен отдельно.

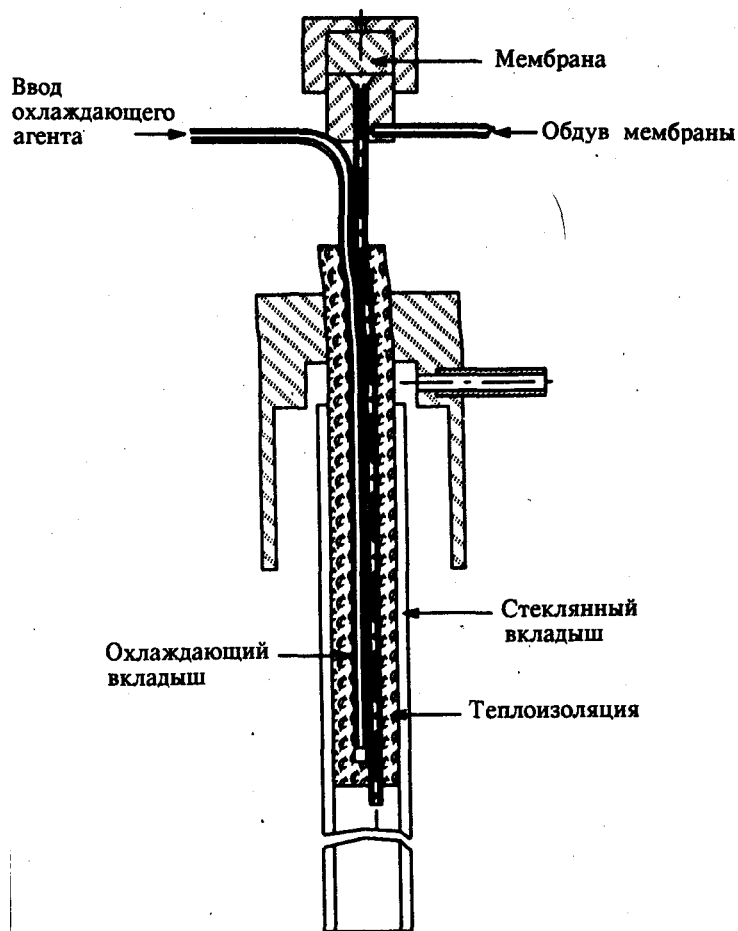


Рис. 3—6. Ввод пробы с делением потока охлажденной иглой (из работы [18] с разрешения издательства Dr. A. Nuethig).

На рис. 3-6 представлена схема устройства для ввода пробы охлажденной иглой. Игла шприца, находясь во входной трубке, охлаждается холодным воздухом или газообразным диоксидом углерода, циркулирующим в узле охлаждения. В горячей камере испарителя находится только кончик иглы длиной 2-3 мм. Стекланный вкладыш не охлаждается, поскольку узел охлаждения тщательно теплоизолирован. Ввод пробы охлажденной иглой позволяет избежать селективного испарения компонентов пробы из иглы. Кроме того, использование такой методики сводит к минимуму влияние условий работы со шприцем на результаты анализа [16, 18]. Это очень важно, поскольку при ручном вводе пробы с делением потока можно получить надежные и воспроизводимые данные, рассчитанные по относительным площадям пиков, но редко — по абсолютным. При вводе пробы охлажденной иглой были получены правильные и воспроизводимые данные как об относительном, так и об абсолютном содержании углеводородов C_{10} — C_{32} . Ввод пробы охлажденной иглой можно автоматизировать.

Автоматический ввод пробы можно считать как бы предварительным условием для получения воспроизводимых результатов: в г этом случае стадии ввода идентичны для каждой пробы. Это условие еще более ужесточается при очень быстром вводе, что практически неосуществимо вручную. Цель очень быстрого ввода пробы состоит в том, чтобы все стадии (ввод иглы, впрыскивание пробы и удаление иглы) осуществлялись чрезвычайно быстро — за время, недостаточное для нагрева иглы. Таким образом, испарения компонентов пробы не происходит. Кроме того, объем пробы, вводимой в колонку, равен предварительно установленному. В работе Снайдера [17] исследовано влияние продолжительности нахождения иглы в устройстве ввода на дискриминацию компонентов пробы. Продолжительность нахождения иглы в устройстве ввода определяется как промежуток времени между прокалыванием иглой нижней части мембраны при вводе пробы и прохождением этой точки при ее удалении. На рис. 3-7 приведены графики зависимости отношения площадей пиков C_x/C_{20} ($x = 10 - 40$) от числа атомов углерода для различной продолжительности нахождения иглы в устройстве ввода. В качестве растворителя использовали гесан. Эти данные получены при прямом вводе пробы в колонку, однако они справедливы и при вводе с делением потока. Приведенные результаты свидетельствуют о том, что если продолжительность нахождения иглы в устройстве ввода не превышает 500 мс, фракционирования пробы не происходит.

На рис. 3-8 проведено сравнение автоматического и ручного ввода пробы в капиллярную и насадочную колонки. Все полученные данные соотнесены с результатами холодного ввода этой же пробы непосредственно в колонку, поскольку в последнем случае не наблюдается фракционирования ни в игле, ни в устройстве ввода пробы. Небольшое отклонение от линейности, наблюдаемое при вводе пробы с делителем потока, обусловлено в большей степени нелинейностью делителя потока, а не дискриминацией в игле шприца. Учитывая, что при вводе пробы с делителем потока использовали систему с холодной иглой, можно сказать, что полученные результаты на удивление хороши.

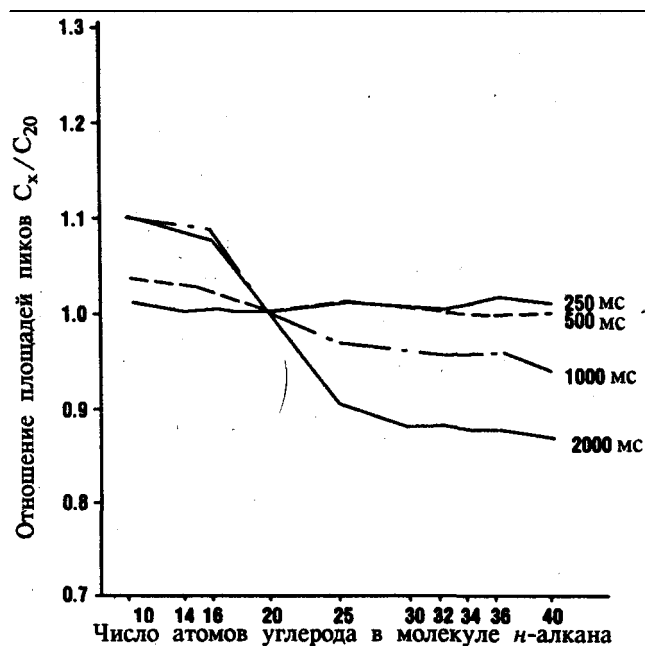


Рис. 3-7. Влияние продолжительности нахождения иглы в узле ввода пробы на фракционирование пробы. Условия эксперимента:

колонка 10 x 0,53 мм (колонка фирмы Hewlett-Packard, серия HP 530 мкм), НФ OV-1, режим программирования температуры: 60°C (2 мин), подъем до 350°C со скоростью 15 град/мин, 310°C (5 мин). Устройство ввода пробы с заполненным вкладышем, температура испарителя 350°C; газовый хроматограф фирмы Hewlett-Packard, модель HP 5880 AGO, 7637 А; автоматическое устройство ввода пробы; объем пробы углеводородов C₁₀ — C₄₀ в гексане 1 мкл.

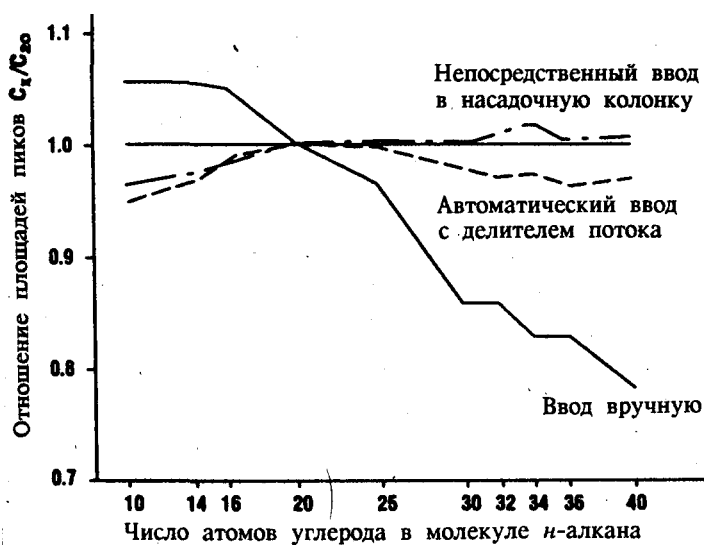


Рис. 3-8. Фракционирование компонентов пробы при различных методах ввода.

Из приведенных выше рассуждений следует, что при использовании систем с делителем потока проведение достоверного количественного анализа возможно, хотя и сопряжено с рядом трудностей. Для того чтобы снизить фракционирование пробы при ее вводе или уменьшить дискриминацию пробы, обусловленную различной летучестью ее компонентов, необходимо оптимизировать методику ввода пробы. Оптимизация ввода пробы, а также максимальная правильность и воспроизводимость легче всего достигаются, если компоненты пробы близки по летучести.

Рекомендации по вводу проб с делением потока

- При проведении количественного анализа предпочтение отдается методам стандартной добавки или внутреннего стандарта. Использование метода внешнего стандарта, при котором сравнивают абсолютные площади пиков, допустимо в сочетании с вводом пробы охлажденной иглой, программированием температуры испарителя или быстрым автоматическим вводом пробы.
- Воспроизводимость результатов улучшается, если объем вводимой пробы неизменен. Обычно вводят от 0,5 до 2,0 мкл пробы.
- Необходимо подбирать температуру устройства ввода пробы с учетом поставленной задачи. Следует избегать чрезмерно высоких температур испарителя.
- При ручном вводе предпочтение отдается быстрому вводу пробы горячей иглой.

- По возможности следует избегать легколетучих растворителей.
- Если использование вкладышей без насадки неэффективно, можно заменить их вкладышами, неплотно упакованными стекловатой или стеклянными шариками. Однако следует помнить о возможности адсорбции и разложения компонентов пробы на этих насадках.
- Одной из основных проблем, связанных с вводом пробы с делением потока, является работа со шприцем. Эту проблему можно решить при помощи автоматических систем ввода пробы (automatic sampling system).

Однако в некоторых случаях ввод пробы с делителем потока не позволяет проводить количественный анализ с высокой точностью. К сожалению, некоторые пробы невозможно анализировать без деления потока. К ним относятся прежде всего те пробы, которые нельзя разбавить: разжижители, растворители, паро- и газообразные пробы. На рис. 3-9 приведена хроматограмма определения примесей в стироле. В этом частном случае результаты, полученные с использованием делителя потока, превосходят по своей правильности и воспроизводимости результаты, полученные при применении других методов ввода.

Другой пример — анализ голландского природного газа (рис. 3-10). Для количественного определения примесей в колонку вводили 1 мл газа. Прекрасная форма пиков, выходящих на хроматограмме после пропана, обусловлена фокусирующим действием неподвижной фазы, нанесенной на оксид алюминия.

Другими областями, где до настоящего времени осуществляется ввод пробы исключительно с делителем потока, являются высокоскоростная газовая хроматография и капиллярная хроматография сверхвысокого разрешения [19, 20]. В этих вариантах капиллярной хроматографии используются колонки с внутренним диаметром 50-100 мкм. Для реализации высокой эффективности сверхтонких колонок необходимы очень узкие исходные зоны.

На рис. 3-11 приведены результаты анализа дизельного топлива, полученные с использованием колонки размерами 100 м x 100 мкм. Эффективность колонки составляет 1 млн теоретических тарелок. При коэффициенте деления потока 1:300 объем вводимой пробы составил 0,1 мкл.

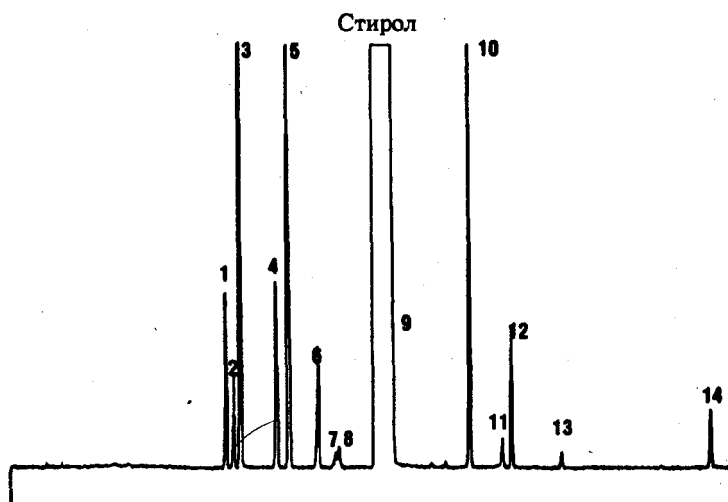


Рис. 3—9. Анализ мономера стирола (с разрешения Р. Миллера, корпорация Huntsman Chemical). Условия эксперимента: кварцевая капиллярная колонка 20 м x 0,25 мм, НФ DB Wax, df 1 мкм; программирование температуры от 40 до 150°C со скоростью 2 град/мин; Газ-носитель водород (35 см/с); объем пробы 1 мкл, коэффициент деления потока 1:170.

1 — этилбензол; 2 — *n*-ксилол; 3 — *m*-ксилол; 4 — кумол; 5 — *o*-ксилол; 6 — опилбензол; 7 — *p*-этилтолуол; 8 — *m*-тилтолуол; 9 — *o*-этилтолуол; 10- *a*-метилстирол; 11 — (*n*+*m*)-метилстирол; 12 — фенилэтилен; 13- транс-метидстирол; 14 — бензальдегид.

Ввод пробы в колонку без деления потока

Метод ввода пробы без делителя потока появился в результате Неправильной работы делителя. Случайно К. Гроб-старший ввел пробу в устройство ввода с делителем потока при закрытом вентиле делителя. К его величайшему изумлению, пики на хроматограмме не были чрезвычайно широкими, как он ожидал. Проведенное К. Гробом фундаментальное исследование этого явления привело к разработке метода ввода пробы в капиллярную колонку без деления потока [21, 22].

При вводе пробы без делителя потока вентиль делителя поток» закрыт. Введенная проба мгновенно испаряется в камере испарителя. Отсюда потоком газа-носителя пары пробы переносят в колонку. Перенос пробы продолжается несколько сотен миллисекунд, поэтому можно предположить, что исходные зоны будут довольно широкими. Однако размывание исходной зоны можно подавить, если использовать эффекты фокусирования: эффект растворителя, термическое фокусирование и фокусирование неподвижной жидкой фазой.

Основным преимуществом ввода пробы без делителя потока является то, что вся введенная проба попадает в колонку и в результате этого чувствительность существенно выше, чем при пользовании делителя. В течение долгого времени ввод проб деления потока был единственным методом, применяемым в капиллярных ГХ при определении следовых концентраций.

На рис. 3-12 представлена схема подсоединения устройства ввода без деления потока с обдувом мембраны. Разводка газовых линий в этом устройстве аналогична используемой при делении потока. Для того чтобы избежать загрязнений в системе, мембрана постоянно обдувается потоком газа (2 мл/мин). При этом объемная скорость газа на выходе из делителя составляет 20-50 мл/мин (рис. 3-12,в). Непосредственно перед вводом пробы соленоидный вентиль переводят в такое положение, чтобы линия деления потока была закрыта, а обдув мембраны при этом продолжался. На рис. 3.12,б приведена разводка потоков при вводе

пробы с закрытым делителем. После того как пары анализируемой смеси переносятся в колонку (через 30-80 с после начала ввода пробы), вентиль открывают. Оставшиеся в камере испарителя пары выводятся через линию деления потока сброса. По этой причине линию сброса при вводе пробы без делителя называют линией продувки.

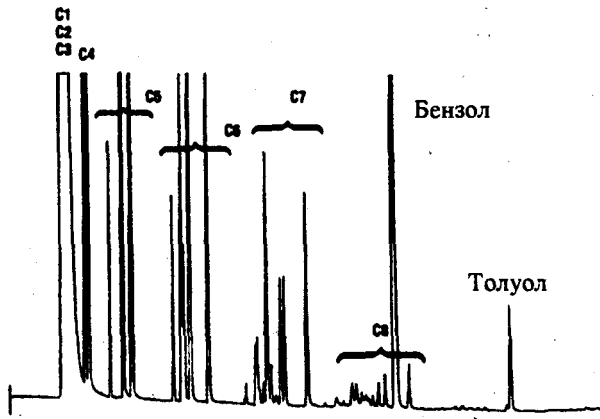


Рис. 3—10. Анализ природного газа. Условия эксперимента: колонка 25м ж 0,32 мм, Al_2O_3/KCl ; программирование температуры от 75 до 200°С со скоростью 3 град/мин; газ-носитель азот (0,32 кг/см²), коэффициент деления потока 1:5, объем пробы 1 мл.

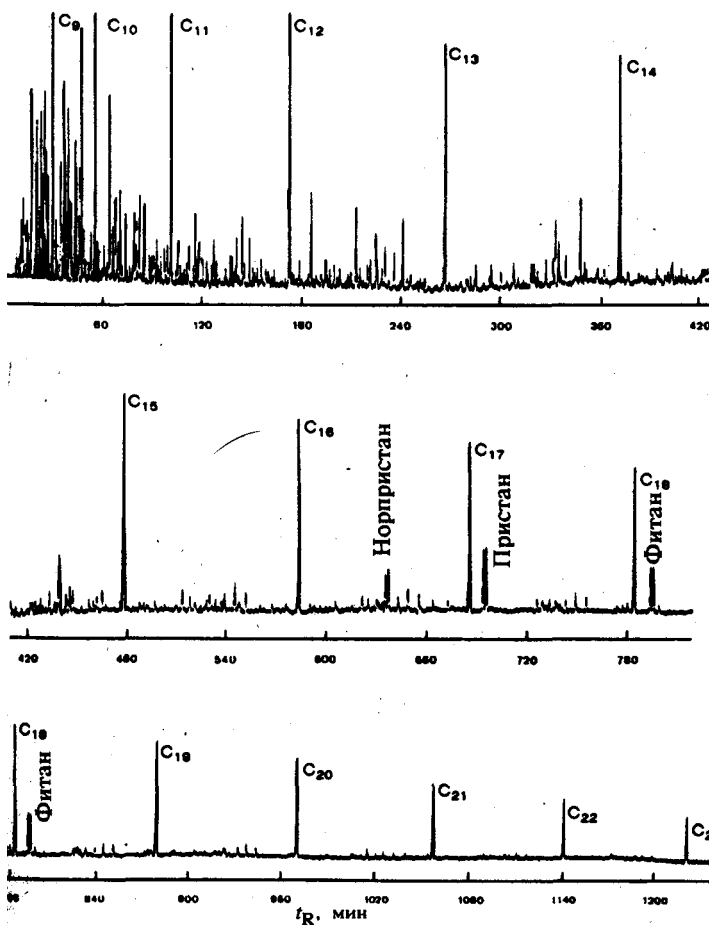
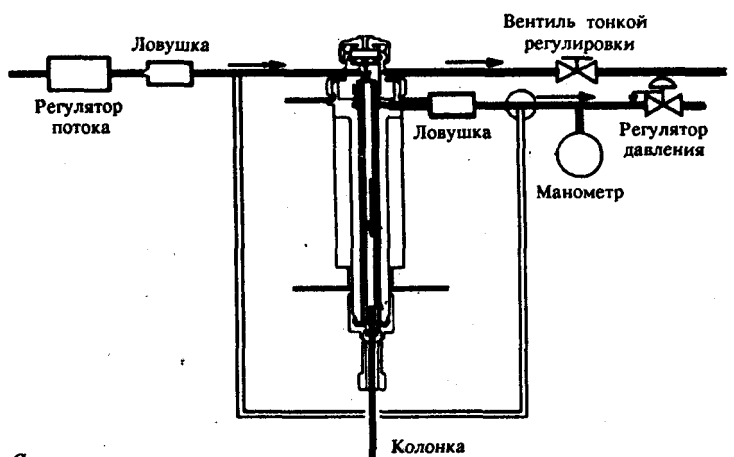
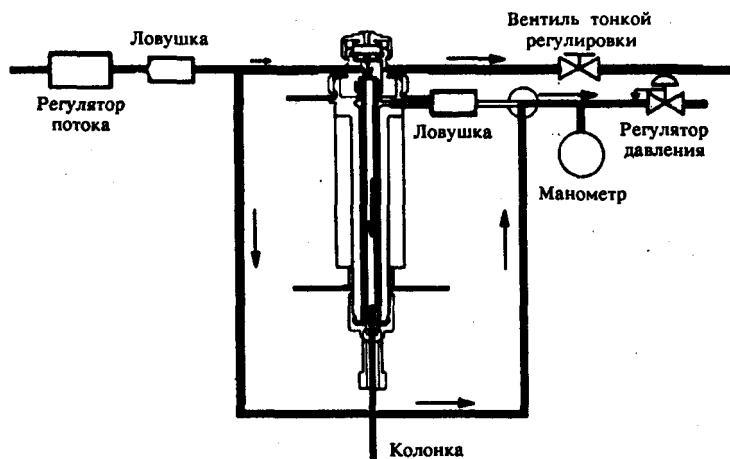


Рис 3-11. Анализ дизельного топлива на колонках со сверхвысокой разрешающей способностью ($n = 10^6$). Условия эксперимента: колонка 100м x 100 мкм, НФ OV-1, df 0,2 мкм; программирование температуры от 60 до 185°С со скоростью 0,1 град/мин; газ-носитель водород (10 атм); объем пробы 0,1 мкл, коэффициент деления потока 1:30.



а



б

Рис. 3-12. а — Схема устройства ввода пробы без деления поток до и после ввода пробы; б — схема ввода пробы без делителя поток с указанием разводки газовых потоков.

На рис. 3-13 приведена зависимость объемной скорости газа-носителя на входе от времени. Промежуток времени между моментом ввода и открытием линии сброса определяется природой растворителя и анализируемых веществ, объемом камеры испарения, объемом пробы, линейной скоростью газа-носителя и быстротой ввода пробы. Каким образом взаимосвязь этих факторов влияет на продолжительность интервала от момента ввода до открытия линии сброса, можно продемонстрировать на следующем примере. Пусть концентрация n -углеводородов $C_{12} - C_{16}$ в изоктане составляет по $2 \cdot 10^{-5}\%$. Содержание в 1 мкл — 20 нг. Чувствительность пламенно-ионизационного детектора составляет примерно 1 нг. Объем вкладыша 0,6 мл (длина вкладыша 8 см, внутренний диаметр 0,31 мм). Объем паробразной пробы 0,4 мл, разбавление газом-носителем $\sim 0,6$ мл.

При объемной скорости газа-носителя (водорода) 2 мл/мин продолжительность режима без деления потока должна составить по меньшей мере 30 с. Разбавление газом-носителем имеет экспоненциальный характер, поэтому продолжительность работы без делителя потока должна быть в 1,5 раза выше, чем время, необходимое для омывания испарителя газом-носителем, т. е. 45 с.

Процесс переноса паробразной пробы из камеры испарения в колонку протекает медленно. Особенно долго в камере испарения удерживаются пары растворителя. Обдув вкладыша способствует удалению оставшихся в испарителе следовых количеств паробразной пробы. На рис. 3-14 приведены данные, свидетельствующие о влиянии обдува на форму пика растворителя. Если все прочие условия эксперимента оптимальны, то количество пробы, уносимое при продувке, невелико. Объемная скорость обдува мембраны влияет также на количественный перенос растворенных веществ в колонку. Если вкладыш переполнен парами пробы, то часть пробы уносится через линию обдува мембраны. На рис. 3-15 приведены данные, иллюстрирующие влияние объемной скорости обдува мембраны на количественное определение n -ундекана. При малых объемных скоростях обдува и объемах пробы от 1 до 2 мкл обычно не возникает трудностей.

Важным моментом при разработке устройства ввода без деления потока является определение размеров камеры испарения. Для минимального разбавления пробы требуются длинные и узкие вкладыши. Внутренний объем вкладыша составляет 0,5-1 мл. Колонка устанавливается во вкладыш на длину 0,5 см и используются шприцы с длинными иглами, так что расстояние между кончиком иглы и входом в колонку составляет 1-1,5, см. Необходимо принимать меры, чтобы камера испарения не переполнялась. При этом достигается быстрый перенос пробы. Благодаря тому что компоненты пробы сравнительно долго находятся в камере испарения температура испарителя может быть ниже, чем при вводе пробы с делителем потока. Снижение температуры испарителя минимизирует разложение компонентов пробы; это же достигается и при использовании вкладышей без насадки.

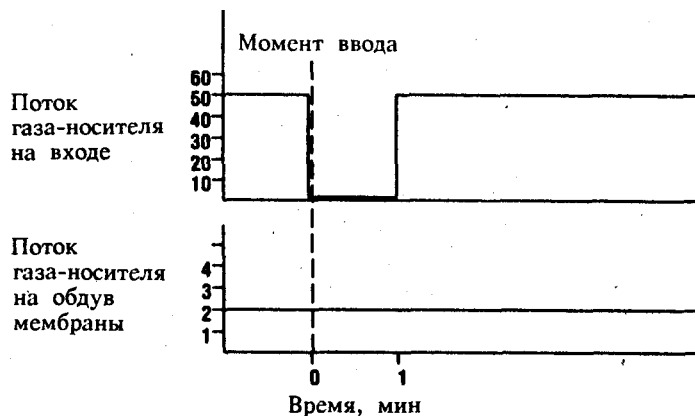


Рис. 3-13. Зависимость объемной скорости газа-носителя на входе от времени для режима пробы без делителя потока (60 с).

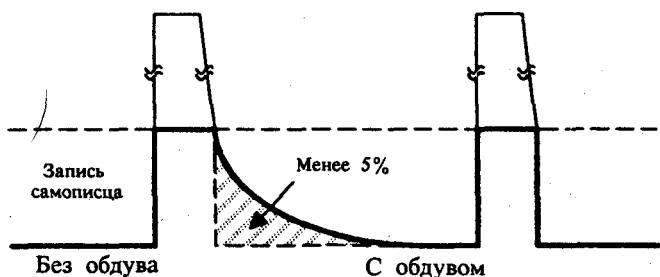


Рис. 3-14. Влияние обдува мембраны на форму пика.

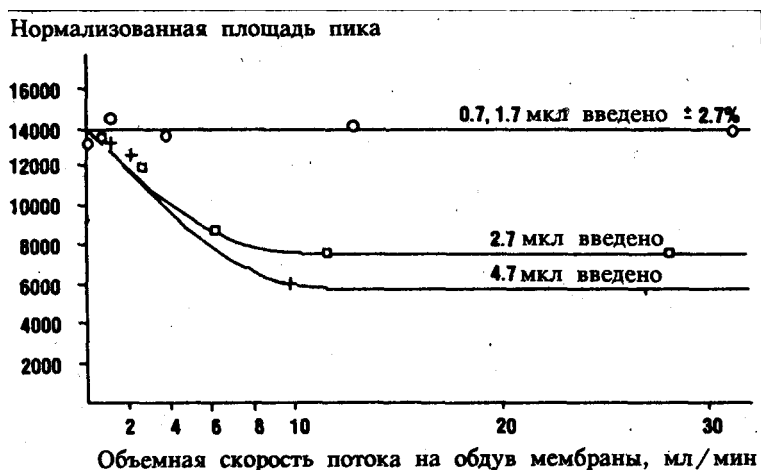


Рис. 3-15. Зависимость количественного определения м-ундекана от объемной скорости обдува мембраны при различных объемах вводимой пробы.

На рис. 3-16 приведены хроматограммы, полученные при анализе стирола и иллюстрирующие влияние температуры узла ввода. Повышение температуры узла ввода может явиться причиной явления дополнительных пиков на хроматограмме. Отметим, что при более высоких температурах на хроматограмме не только появляется больше пиков, но и соотношение "истинных" пиков (определенное путем непосредственного ввода пробы в колонку) также изменяется. Непосредственный ввод пробы в колонку позволяет получать наиболее точные результаты. Данные анализа свидетельствуют о том, что при вводе испаренной пробы наблюдается дискриминация ее компонентов, вызванная шприцем. Как указывалось ранее, дискриминация компонентов пробы за счет шприца является одной из основных причин ошибок. Отношение пиков гексена (x) и дифенилциклобутана (y) при непосредственном вводе в колонку составляет 1,35; при вводе без деления, при температуре 200°C — 0,84. Дискриминация пробы в нем случае превышает 33%! Часто приходится анализировать пробы (биологические образцы и объекты окружающей среды), содержащие побочные продукты большой молекулярной массы. Низкая температура узла ввода в отсутствие деления потока приведет к тому, что низколетучая основа будет удерживать представляющие интерес соединения. Для того чтобы повысить диффузию компонентов с нелетучей основы, необходимо поднять температуру узла ввода.

В некоторых случаях эксплуатационные качества устройства ввода без делителя потока зависят от условий эксперимента. Наибольшее влияние оказывают объем пробы, скорость введения, продолжительность продувки, температура ввода пробы, исходная температура термостата, тип и объемная скорость газа-носителя. Практически невозможно априори дать какие-либо общие рекомендации по учету этих факторов. Часто влияние того или иного фактора можно оценить только методом проб и ошибок.

Однако, независимо от проводимого анализа, при вводе пробы без деления потока необходимо фокусирование пробы на входе в капиллярную колонку. При вводе пробы без деления потока размывание исходной зоны протекает как во времени, так и в пространстве [4, 23,24].

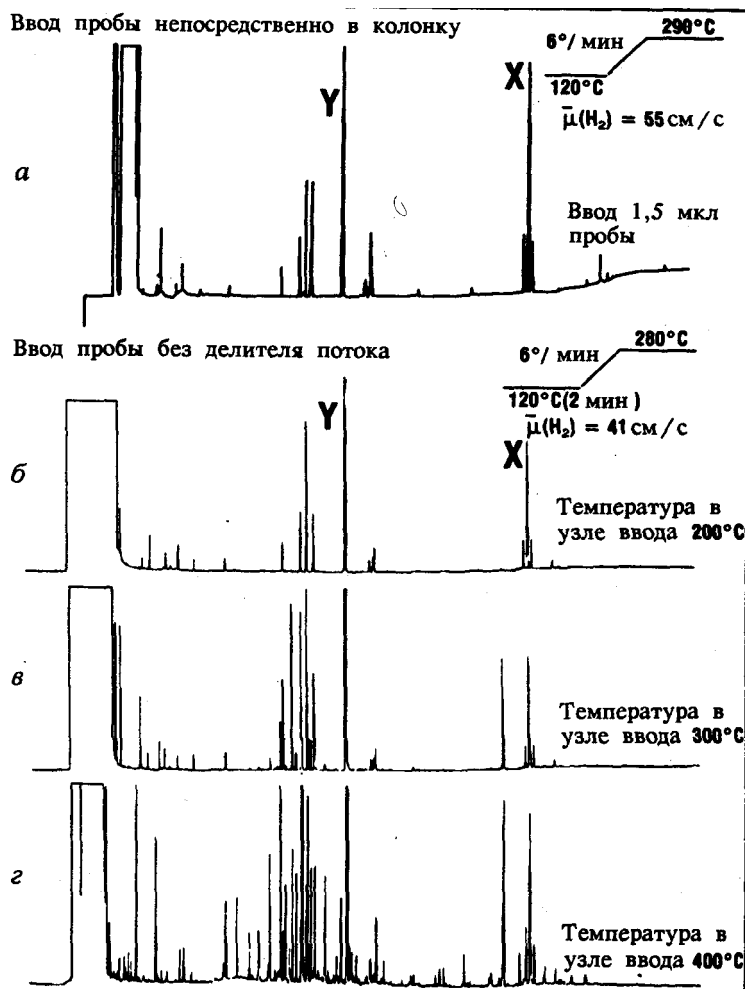


Рис. 3-16. Влияние температуры узла ввода пробы на результат хроматографического разделения.

Вверху — определение стирола путем непосредственного ввода пробы в колонку. *Внизу* (3 хроматограммы) — определение стирола при вводе пробы без деления потока и различной температурой узла ввода (эти хроматограммы представлены Р. Миллером, Huntsman Chemical Corporation). Условия эксперимента: а — кварцевая колонка 50 м X 0,31 мм, НФ SE-2100 на дезактивированном носителе карбовакс программирование температуры от 120 до 290°C со скоростью 6 град/мин; газ-носитель водород (55 см/с); б — г — кварцевая капиллярная колонка 50 м x 0,2 мм, НФ SE-54 (дезактивированный силоксан); программирование температуры от 120°C (2 мин) до 280°C со скоростью 6 град/мин; газ-носитель водород (41 см/с).

Размывание во времени обусловлено малой скоростью переноса зоны из камеры испарения в колонку. Этот процесс занимает несколько десятых секунды. Попадая в колонку, анализируемые вещества распространяются по части длины колонки. В результате происходит размывание зоны в пространстве. Коренное различие размывания во времени и пространстве состоит в том, что в первом случае анализируемые вещества равномерно распределяются в соответствии с временами удерживания, а во втором случае они равномерно распределяются по длине колонки. Если перед началом хроматографирования не проводить фокусирования пробы, то описанные выше явления приведут к появлению на хроматограмме пиков неправильной формы.

Размывание пробы во времени подавляется путем фокусирования растворителем или термического фокусирования, которое также называют "холодным улавливанием".

Эффект растворителя

Для того чтобы использовать эффект растворителя для концентрирования анализируемых соединений, температура колонки во время ввода пробы должна быть на 25 — 30° С ниже точки кипения растворителя. Парообразный растворитель конденсируется на входе в колонку и удерживается неподвижной фазой. Образующаяся при этом жидкая проба временно выполняет роль толстой пленки неподвижной фазы, удерживая испаренные компоненты пробы. Другими словами, растворитель действует как своего рода барьер для компонентов пробы. Толстая пленка растворителя образует на входе в колонку область с пониженным значением β .

В гл. 1 указывалось, что β — это отношение объема подвижной фазы (V_m) к объему неподвижной фазы (V_s):

$$\beta = V_m/V_s \quad (3.3)$$

Уменьшение величины β вызывает соответствующее увеличение коэффициента емкости:

$$k = K_D/\beta, \quad (3.4)$$

где K_D — коэффициент распределения.

Таким образом, в начале колонки происходит концентрирование компонентов пробы. После того как вся проба переходит из камеры испарения в колонку, включают линию обдува и повышают температуру колонки. При этом растворитель испаряется и начинается хроматографирование пробы, причем исходные зоны анализируемых веществ имеют небольшую ширину.

Термическое фокусирование

Термическое фокусирование, или "холодное улавливание", проводят при температуре колонки, достаточно низкой для конденсации анализируемых веществ, но в то же время и достаточно высокой для испарения растворителя. В таких условиях эффект растворителя не достигается. Однако на практике очень часто проводят концентрирование пробы, используя эффект растворителя и термическое фокусирование. При термическом фокусировании эффективное сужение зон компонентов происходит, если разность температуры колонки и температур кипения анализируемых веществ достаточно велика (не менее 150°C). На рис. 3-17 приведена хроматограмма, иллюстрирующая термическое фокусирование (конденсация в начальной части колонки).

При 100°C эффект растворителя не проявляется ни для метилхлорида, ни для диэтилового эфира. Углеводороды C₁₅, C₁₆ и C₁₇ (температуры кипения соответственно 270, 286 и 302°C) эффективно улавливаются в начальной части (на нескольких первых сантиметрах) колонки. Пики этих соединений имеют правильную форму. Не удается полностью избежать размывания пика углеводорода C₁₄ (температура кипения 254°C), однако форма пика практически не искажена. Толщина слоя неподвижной фазы также играет определенную роль при термическом фокусировании. На рис. 3-18 приведена хроматограмма парового анализа сополимера стирола, метилметакрилата и бутилакрилата. 1 мл равновесной паровой фазы вводили без деления потока в капиллярную колонку (50 м x 0,25 мм) с неподвижной фазой OV-101 (толщина пленки фазы 1 мкм). Продолжительность продувки составляла 60 с. Температура колонки во время ввода пробы составляла 20°C, затем по истечении 1 мин температуру колонки сразу повышали до 60°C и программировали температуру до 120°C со скоростью 1 град/мин. На рис. 3-18,а показана хроматограмма равновесной паровой фазы над сополимером, в который ввели по 1*10⁻¹⁴% метилметакрилата и стирола и 1*10⁻¹⁷% бутилакрилата. Эти соединения прекрасно концентрируются, в то время как пики, элюируемые раньше, имеют искаженную форму за счет размывания зоны во времени. На рис. 3-18, б показана хроматограмма смеси без добавки.

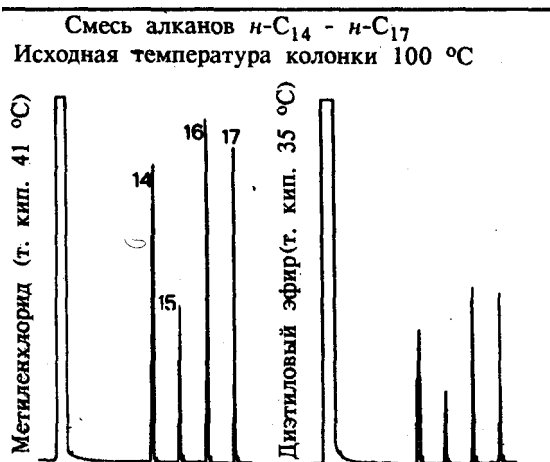


Рис. 3-17. Холодное улавливание при вводе пробы без делителя потока.

В опытах с программированием температуры холодное улавливание происходит автоматически. Это иллюстрирует рис. 3-19, где приведены хроматограммы пробы дизельного топлива, растворенного в н-пентане, в режиме ввода пробы с делением (а) и без деления потока (б). При вводе пробы с делением потока пики углеводородов C₉—C₂₂ имеют прекрасную форму. При вводе пробы без деления потока (температура 50°C, растворитель пентан) первые пики на хроматограмме размыты, поскольку эффект растворителя не проявляется.

Концентрирование компонентов пробы за счет холодного улавливания усиливается по мере увеличения числа атомов углерода молекуле, соответственно уменьшается размывание зоны. Пик углеводорода C₁₄ имеет прекрасную форму. Если вместо н-пентана в качестве растворителя используют н-октан, а другие условия эксперимента остаются неизменными, то форма пиков при вводе пробы без деления потока будет такой же, как при вводе с делением потока. Форма первых пиков улучшается за счет эффекта растворителя, а пиков, элюируемых позже за счет холодного улавливания.

Явление размывания зон в пространстве было впервые описано в 1981 г. [23]. Размывание зон в пространстве является прямым следствием эффекта растворителя. За счет эффекта растворителя зоны анализируемых веществ, размывание которых произошло во времени, вновь фокусируются на толстом слое растворителя. Однако при конденсировании слой растворителя на первых нескольких сантиметрах колонки становится слишком толстым и вследствие этого неустойчивым. Газ-носитель проталкивает пробку растворителя в колонку, в результате чего образуется зона, смоченная растворителем (рис. 3-20). Затем компоненты пробы распределяются по всей длине этой зоны. Таким образом, ширина образующейся зоны вещества равна ширине зоны, смоченной растворителем. Для проб объемом 1 мкл длина зоны, смоченной растворителем, составляет примерно 20-30 см при условии, что неподвижная фаза полностью смачивается растворителем (при анализе на неполярных диметилсиликоновых фазах в качестве растворителя используется изооктан, а на полярных фазах — полиэтилен-гликолях — этилацетат).

При использовании обычных капиллярных колонок длиной 25-30 м и внутренним диаметром 0,32 мм и объеме пробы 1 мкл размывание зоны визуально не наблюдается, поскольку форма пика в таких условиях не ухудшается. Только тщательный анализ хроматограммы позволит выявить размывание зоны. В работе К. Гроба-младшего [24] приведен типичный пример размывания зоны в пространстве. К. Гроб анализировал метиловые эфиры Жирных кислот C₆ — C₁₈ (в виде растворов в различных растворителях). Использовали ввод пробы без деления потока. Для сравнения проводили ввод пробы с делением потока. На рис. 3-21,а приведена хроматограмма, полученная при вводе пробы с делением потока — при этом размывания зон не происходит. Хроматограмма на рис. 3-21,б (раствор анализируемой смеси в н-гексане) получена при вводе пробы без деления потока и температуре 25°C. Растворитель конденсируется в начале колонки, а анализируемые вещества распределяются на смоченной растворителем зоне. Размывание пиков составляет примерно 30%, за исключением эфира C₈, который полностью концентрируется в том месте, где происходит испарение последней порции растворителя (эффект растворителя). При 60° эффект растворителя минимален и размывания пика в пространстве не происходит (рис. 3-21, в). Размывание зон C₆ и C₈ обусловлено размыванием во времени и отсутствием эффекта растворителя. Как указывалось выше, размывание пробы в пространстве часто нельзя наблюдать визуально, поскольку форма пиков не искажена. С другой стороны, если растворитель недостаточно хорошо смачивает неподвижную фазу, что имеет место при использовании полярных растворителей (метанола) на неполярных фазах, форма пиков на хроматограмме искажена. Это объясняется тем, что длина зоны, смоченной растворителем, слишком велика

(несколько метров) и растворитель распределяется по зоне равномерно. На рис. 3-21,г приведена хроматограмма раствора анализируемых соединений в метаноле. Видно, что форма пиков искажена и некоторые пики расщеплены.

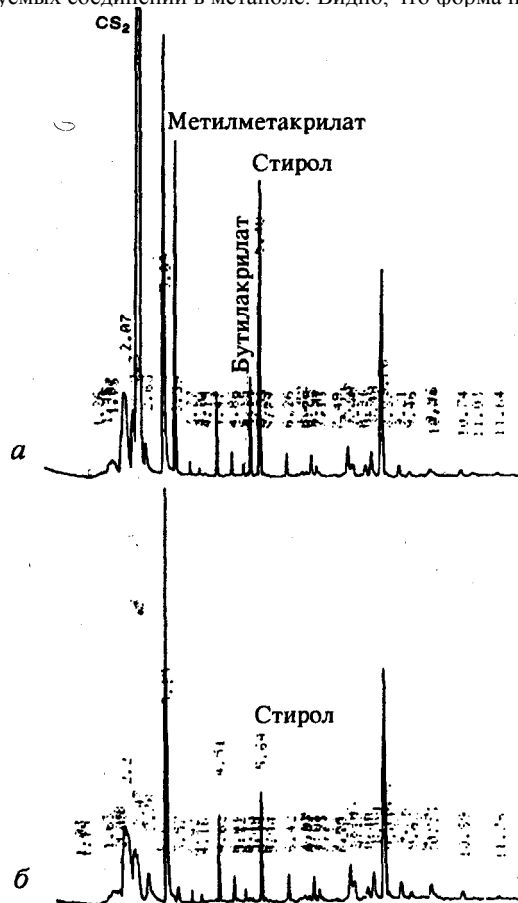


Рис. 3-18. Анализ равновесной паровой фазы сополимера стирола.

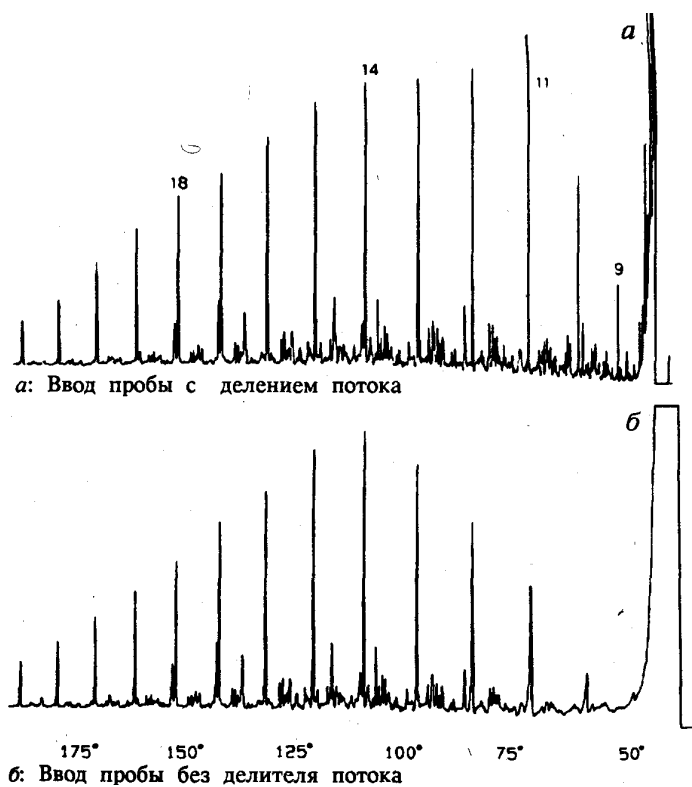


Рис. 3—19. Холодное улавливание в опытах с программированием температуры (из работы [4], с разрешения издательства Dr. A. Huethig Publishers). Колонка 13м x 0,30 мм, НФ SE-52, df 0,5 мкм; программирование температуры от 50 до 180°C со скоростью 5 град/мин.

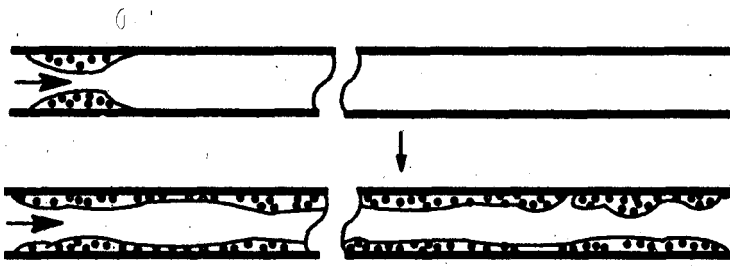


Рис. 3-20. Формирование зоны, смоченной растворителем.

Эффект фокусирования использованием пустого капилляра

Размывание зоны в пространстве можно подавить путем фокусирования неподвижной фазой с применением капилляра или "бреши" (пробела) в удерживании (retention gap, RG) [25, 26]. Пустой капилляр — это определенный начальный участок колонки, который не нанесена неподвижная фаза. В этой части колонки значения k всех анализируемых веществ будут близки к нулю. При испарении растворителя все вещества, распределенные по смоченной растворителем зоне, переносятся на неподвижную фазу где происходит их удерживание. На рис. 3-22 приведена схема, иллюстрирующая механизм RG. На практике "пустой" участок колонки получают, смывая неподвижную фазу или подсоединяя к аналитической колонке отрезок деактивированного кварцевого капилляра.

Большинство фирм выпускает колонки с иммобилизованными неподвижными фазами, которые не смываются растворителями. Поэтому для реализации эффекта RG хроматографистам приходится изготовлять колонку самостоятельно. Длина участка колонки без неподвижной фазы зависит от протяженности зоны, смоченной растворителем, а следовательно, от объема пробы и природы растворителя. Как правило, при объеме пробы 1-2 мкл длина этого участка составляет 0,5-1,0 м.

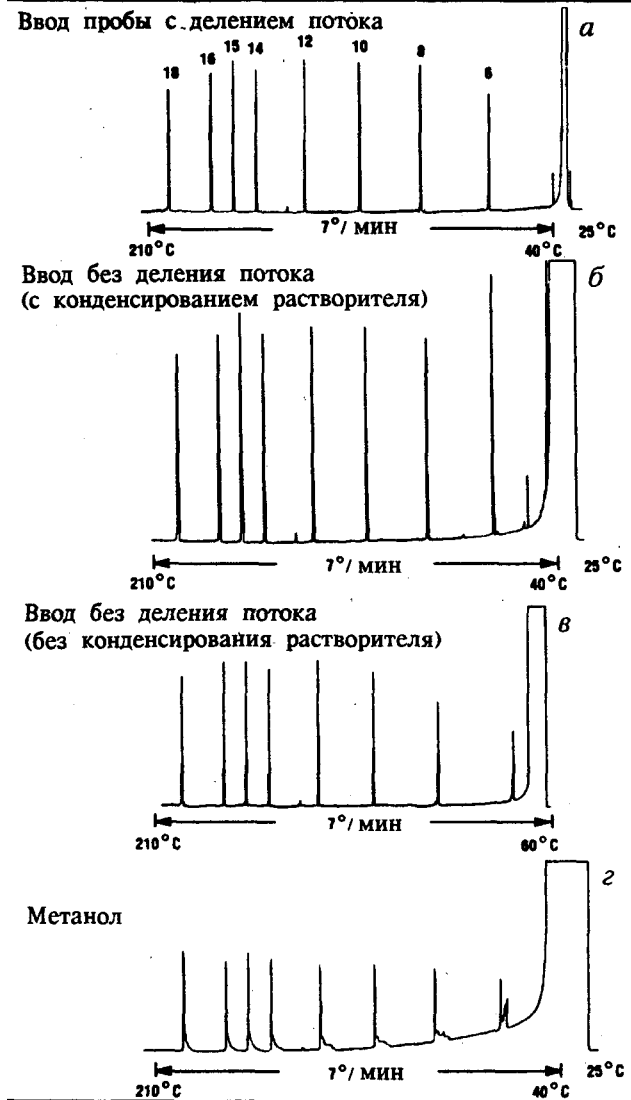


Рис. 3—21. Размывание зоны в пространстве при вводе пробы без деления потока (из работы [24] с разрешения Dr. A. Huething Publishers).

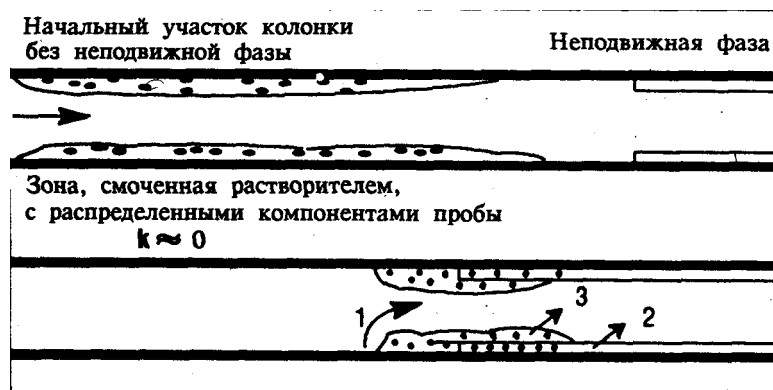


Рис. 3-22. Механизм действия эффекта.

1. Растворитель и анализируемые вещества перемещаются от тыльной (асти зоны, смоченной растворителем, k фронтальной зоне. 2. Фокуси-|ование неподвижной фазы — k растворенных веществ $> k$ растворителя. 3. фокусирование растворителем — k растворенных веществ в 1-5 раза выше, чем k растворителя.

Пустой капилляр необходимо соответствующим образом дезактивировать. При этом следует учесть специфику проводимого анализа. Для того чтобы концентрирование на колонке было успешным, растворитель пробы должен однородно смачивать поверхность. Если используются неполярные растворители, дезактивацию следует проводить с помощью неполярных силилирующих агентов, например HMDS или D4. В случае более полярных растворителей дезактивацию проводят с помощью силилирующих агентов, содержащих фенильные группы, например дифенилтетраметалсилазана или тетрафенилметилсиллилсилазана. Чем выше полярность используемого растворителя, тем больше фенильных групп должно содержаться в дезактивирующем агенте. В экстремальных случаях, если в качестве растворителя предполагается использовать воду или метанол, дезактивацию осуществляют путем нанесения очень тонкой (толщиной 0,01 мкм) пленки иммобилизованной неподвижной фазы — полиэтиленгликоля — на обрабатываемый участок колонки. Вопросы размывания зон в пространстве и использования пустой трубки (капилляра) будут также рассмотрены в разделе, посвященном непосредственному вводу пробы в колонку.

В последние годы метод ввода пробы без деления потока был непосредственным вводом пробы в колонку. На сегодняшний день, без всякого сомнения, более высокая точность воспроизводимости результатов достигаются при использовании непосредственного ввода в колонку. Однако в каждодневной практике метод ввода пробы без деления потока используется еще достаточно часто (анализ объектов окружающей среды, пестициды: лекарственных препаратов и т. д.).

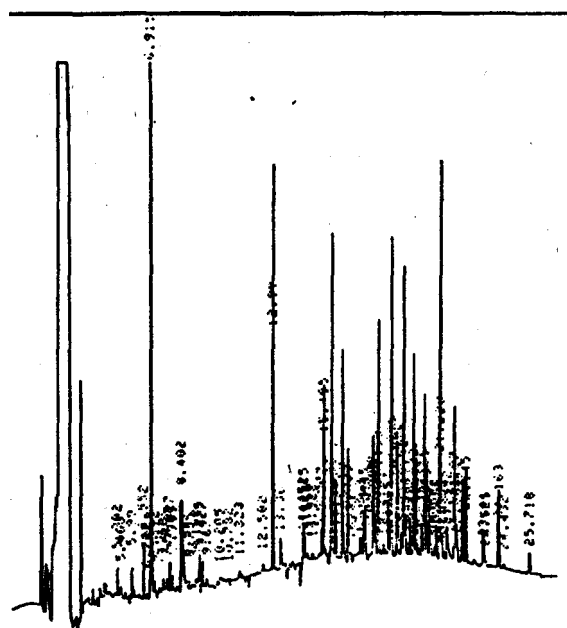


Рис. 3—23. Определение полихлорированных дифенилов в отработанном масле при вводе пробы без деления потока. Колонка 25 м x 0,25 мм, НФ OV-1, df 0,2 мкм; температурный режим 60°C (1 мин), затем программирование температуры до 280°C со скоростью подъема 150 град/мин; электрозахватный детектор; проба 1 мкл раствора в гексане.

В анализе этих объектов основная трудность состоит в подготовке пробы. Не всегда возможно или экономически оправданно проведение ее очистки до такой степени, чтобы можно было ввести пробу непосредственно в колонку. Часто в пробе содержатся следовые количества нелетучих или высококипящих компонентов. При проведении анализа таких объектов самым простым решением является ввод пробы без деления потока. Загрязнения, содержащиеся в пробе, в основном остаются на входе в испаритель, а эту часть узла ввода пробы легко очистить.

На рис. 3-23 приведена хроматограмма полихлорированных дифенилов, содержащихся в отработанном масле. Был предложен простой способ подготовки пробы, основанный на жидкость-жидкостном распределении (ацетонитрил — н-гексан) и твердофазной очистке на силикагеле с аминпропильными группами [27]. Обработанная таким образом проба обогащена полихлорированными дифенилами, однако в ней все еще содержатся следовые количества минеральных масел. При вводе пробы без деления потока (280°C) эти компоненты не испаряются и задерживаются на входе в испаритель. В конце рабочего дня эту часть узла ввода пробы можно легко очистить. Содержание арохлора-1260 в анализируемой пробе составляет $7 \cdot 10^{-14}\%$.

Другая причина применения ввода пробы без деления потока, несмотря на его недостатки, состоит в том, что при проведении следового анализа требования, предъявляемые к правильности и воспроизводимости, не слишком жестки. Так, при анализе пищевых продуктов не так уж существенно, каково содержание линдана — $0,9 \cdot 10^{-7}$ или $1,1 \cdot 10^{-7}$. Важен практический вывод. Имеет ли смысл проводить три дополнительные стадии очистки, чтобы установить истинное содержание линдана, равное $(1,05 \pm 0,03) \cdot 10^{-7}$? Какая разница, сколько стероидов содержится в моче — $2,0 \cdot 10^{-7}$ или $2,4 \cdot 10^{-7}$? При вводе пробы без деления потока может быть достигнута высокая воспроизводимость: стандартное отклонение составляет ± 1 — 2% [28]. Для повышения точности количественного определения можно использовать метод стандартной добавки или внутреннего стандарта. Метод абсолютной градуировки легко адаптировать к автоматическому вводу пробы без деления потока. Однако необходимо учитывать возможное влияние основы пробы. При проведении анализов, где необходима максимальная правильность и воспроизводимость, ввод пробы без деления потока непригоден.

Рекомендации по вводу проб без деления потока

- При проведении количественного анализа и вводе пробы без деления потока можно применять как метод стандартной добавки, так и метод внутреннего стандарта. Для получения достоверных результатов необходимо вводить воспроизводимые объемы проб (обычно 1-2 мкл).
- Воспроизводимость объемов вводимых проб является также обязательным условием получения воспроизводимых времен удерживания.
- Воспроизводимость времен удерживания и количественных результатов анализа существенно улучшается при использовании автоматических устройств ввода пробы.
- При определении летучих веществ с температурой кипения ниже 150°C ширина исходной зоны должна быть уменьшена за счет использования эффекта растворителя. Ширина зоны веществ со сравнительно высокой температурой кипения существенно уменьшается при использовании холодного улавливания. При анализе неизвестных проб можно реализовать как эффект растворителя, так и холодное улавливание, что достигается в условиях программирования температуры.
- Для реализации эффекта растворителя температура термостата должна быть на 20 — 30°C ниже температуры кипения растворителя.
- При вводе пробы ручную предпочтение отдается методу ввода горячей иглой. Скорость подачи пробы не должна превышать 1-2 мкл/с.
- Температура ввода пробы в ряде случаев зависит от характеристик основы пробы. В большинстве случаев достаточно температуры от 200 до 280°C . Анализ "грязных" проб требует более высоких температур (300°C).
- Полезно регулярно очищать устройство ввода пробы.
- Объемная скорость легких газов-носителей — гелия или водорода — должна быть более 2 мл/мин.
- В большинстве случаев предпочтение отдается более длительной продувке (50-80, а не 20-40 с).
- Ввод проб без деления потока неприменим, если компоненты пробы элюируются раньше, чем растворитель. Форма пика искажается в основном из-за частичного улавливания растворителем и пропитывания им фазы [29].
- В случае полярных растворителей форма пиков анализируемых соединений существенно улучшается при использовании эффекта концентрирования в пустом капилляре.

Ввод пробы в колонку

Микро- и макроустройства для непосредственного ввода пробы в колонку были впервые предложены Шомбургом и сотр. в 1977г. [32]. Поскольку для эффективной работы этих устройств было необходимо строгое выполнение ряда технических требований, они не нашли широкого применения. В 1978 г; К. Гроб и К. Гроб-младший [30, 31] описали непосредственный ввод пробы шприцем в капиллярную колонку диаметром 0,32 мм. При этом особое внимание уделялось выбору внутреннего диаметра колонки и внешнего диаметра иглы шприца и их правильному взаимному расположению. На рис. 3-24 представлено устройство ввода пробы, описанное Гробом. Для ввода пробы использовали стандартный шприц объемом 1 мкл с иглой диаметром 0,23 мм (калибр 32) и длиной 7,5 см. Иглу вводили через коническое отверстие до соприкосновения с запорным вентилем. Канал ввода диаметром 0,3 мм практически полностью блокируется иглой. За счет образовавшегося в канале сужения при открытии вентиля, на входе в колонку почти не наблюдается перепада давления. После открытия клапана вводят шприц глубже, и игла шприца входит в колонку внутренним диаметром 0,32 мм. Затем нажимают на поршень шприца (скорость ввода зависит от объема пробы), и жидкая пробка пробы попадает в колонку. После ввода возвращают шприц в первоначальное положение (над вентилем). Обычно это положение отмечено снаружи меткой. Закрывают вентиль и вынимают шприц. Вся система ввода пробы постоянно охлаждается холодным воздухом или циркулирующей водой.

Система непосредственного ввода пробы в колонку была в дальнейшем усовершенствована [33, 34]. На основании устройства ввода, расположенного в термостате хроматографа, была установлена система дополнительного вторичного охлаждения. Поток воздуха вводится через кожух, окружающий капиллярную колонку на входе, и направляется в ту область, куда поступает проба. Использование вторичного охлаждения устраняет дискриминацию компонентов пробы, обусловленную шприцем. Более того, наличие вторичного охлаждения позволяет проводить анализ при температуре колонки, превышающей температуру кипения растворителя. Начальная часть колонки охлаждена до такой степени, чтобы избежать испарения растворителя. Использование игл из плавленого кварца внутренним диаметром 0,14-0,18 мм позволило осуществлять непосредственный ввод пробы в колонки диаметром 0,22-0,25 мм. Эти иглы также в высокой степени инертны. При непосредственном вводе пробы в узкие капиллярные колонки диаметр канала, через который осуществляется ввод иглы, составляет 0,2 мм (рис. 3-24). Дополнительным преимуществом непосредственного ввода пробы является отсутствие мембран, используемых при вводе проб как с делением, так и без деления потока.

Впоследствии были предложены и другие устройства для непосредственного ввода. В работе [35] описано устройство с программированием температуры. Температура на входе в колонку совершенно не зависит от температуры термостата. Возможно линейное программирование температуры на входе в колонку в диапазоне от 20 до 350°C , причем скорость программирования

составляет 20-180 град/мин.

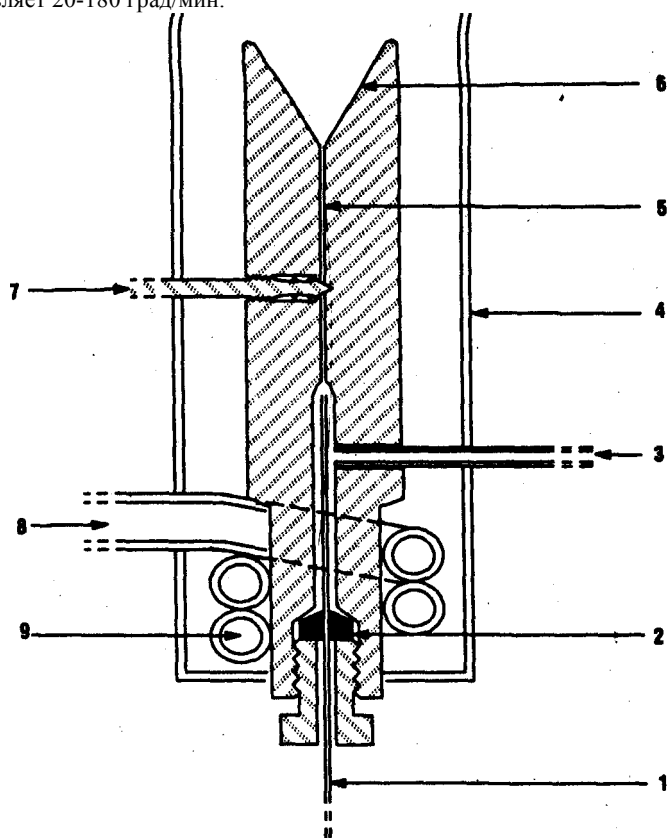


Рис. 3—24. Устройство холодного ввода пробы непосредственно в колонку (из работы [30] с разрешения издательства Elsevier Amsterdam).

1— стеклянная капиллярная колонка; 2 — графитовое уплотнение; 3 - вход газа-носителя; 4 — стальной стакан; 5 — канал диаметром 0,3; 6 — коническое отверстие; 7 — запорный вентиль; 8 — спиралевидная медная трубка, ввод охлажденного воздуха; 9 — выход охлажденного воздуха. Узел устанавливается в изоляции термостата так, чтобы уплотнение колонки было доступно из термостата колонок.

Простое устройство для непосредственного ввода пробы в колонку описано в работах [36, 37]. На рис. 3-25 приведено изображение этого устройства в разрезе. Устройство имеет низкую термическую массу, что облегчает охлаждение. Основная часть этого устройства — клапан типа "утиный нос". Этот клапан, выполненный из мягкого эластомера, не имеет движущихся частей. Он состоит из двух лепестков, прижатых друг к другу под действием давления на входе в колонку. Во время ввода пробы игла шприца проскальзывает между лепестками клапана (рис. 3-26). Ввод пробы происходит следующим образом. Шприцем с кварцевой иглой (длина 105 мм, внешний диаметр 0,14 мм) отбирают из сосуда определенное количество пробы. Промокают иглу, чтобы удалить избыток пробы с внешней поверхности иглы. Направляющая иглы отжимается и раздвигает лепестки изолирующего клапана. Затем игла шприца проходит через направляющую иглы и попадает в колонку. Под действием направляющей клапан раскрывается; это предотвращает контакт с мягким клапаном, поэтому к игле не могут прилипнуть частички материала клапана. Изолирующий клапан непрерывно продувают. Прямо под клапаном расположен фильтр из пористого материала, который служит для продувки клапана. Когда игла попадает в колонку, отпускают направляющую иглы; она выходит из лепестков изолирующего клапана, которые обжимают иглу шприца. Затем быстро опускают поршень шприца и сразу же удаляют шприц из устройства ввода.

В работах [3, 38, 39] описано перемещающееся устройство для непосредственного ввода пробы в колонку, применяемое в высокотемпературной капиллярной газовой хроматографии. Узел ввода можно перемещать вверх и вниз по стенке термостата. В верхнем [сложении] начальная часть колонки расположена вне термостата, поэтому ввод пробы можно проводить при комнатной температуре. Растворитель испаряется, а высококипящие компоненты улавливаются в холодной начальной части колонки. После полного элюирования растворителя, которое можно контролировать с помощью пламенно-ионизационного детектора, устройство ввода пускают вниз. В результате этого начальная часть колонки попадает в термостат и при температуре термостата происходит анализ пробы. Основным преимуществом такого устройства является то, что холодный ввод пробы непосредственно в колонку можно проводить при высоких температурах термостата. По существу принцип действия этого устройства аналогичен используемому в твердофазном устройстве ввода пробы [42]. Перемещающееся устройство ввода пробы было также разработано Дженнингсом [41]. Недавно описано автоматическое устройство непосредственного ввода пробы в колонку, применяемое при высокой температуре термостата [42]. Получены прекрасные результаты при определении липидов. Система вторичного охлаждения [33, 34] позволяет поддерживать температуру 60°C на входе в колонку при температуре термостата 300°C. Для обеспечения автоматической работы к аналитической колонке подсоединена короткая предколонка.

Простое и универсальное устройство непосредственного ввода пробы в колонку предложено автором [43]. Устройство снабжено клапаном из силиконовой резины, управляемым пневматически. Во время ввода пробы клапан герметично обжимает иглу шприца. Устройство ввода пробы охлаждается сжатым воздухом.

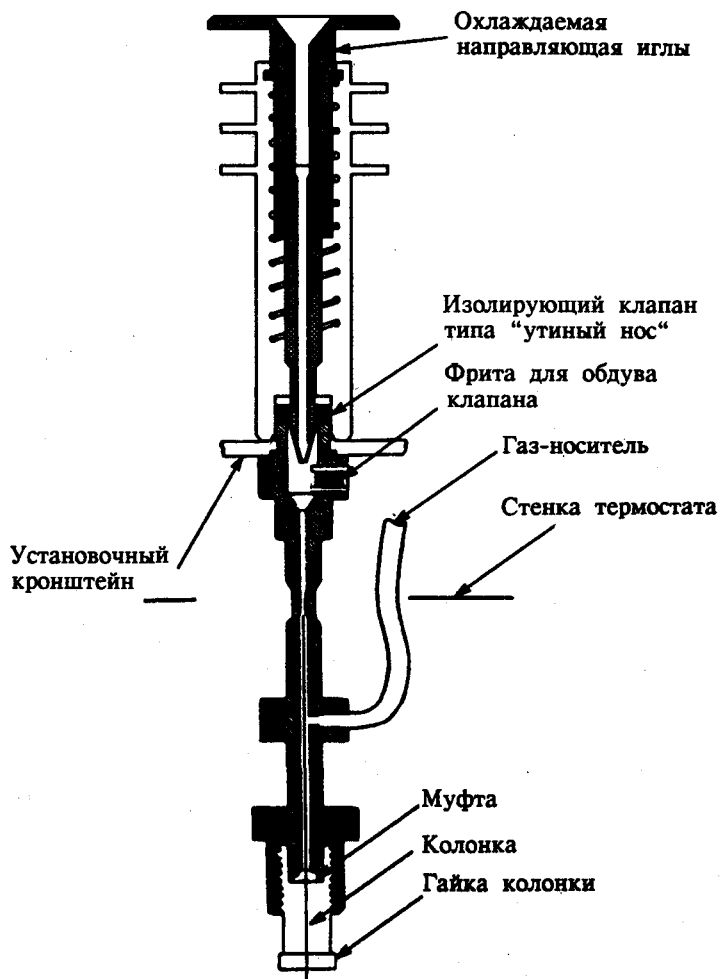


Рис. 3-25. Устройство для холодного ввода пробы непосредственно в колонку, снабженное клапаном типа "утиный нос" (в разрезе). При автоматическом вводе пробы клапан заменяется на дисковую мембрану.

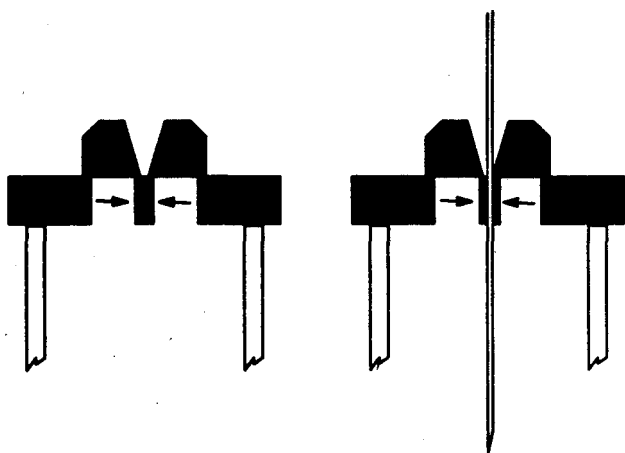


Рис. 3—26. Изображение изолирующего клапана типа "утиный нос" в разрезе. Стрелками показано, как за счет внешнего давления осуществляется уплотнение клапана.

Большинство описанных систем было разработано для проведения высокоэффективных разделений, т. е. анализов с использованием капиллярных колонок диаметром 0,22-0,32 мм. Очевидно, что эти системы можно применять и в сочетании с широкими капиллярными колонками (внутренний диаметр 0,53 мм), причем конструкция узла ввода пробы в последнем случае будет существенно проще. При вводе пробы в широкую капиллярную колонку можно использовать стандартные иглы внешним диаметром 0,47 мм (калибр 26), что допускает применение обычных газохроматографических мембран. В работе [44] описано простое самодельное устройство для холодного ввода пробы непосредственно в колонку. Для использования в автоматическом режиме узел ввода (рис. 3-25) снабжен дисковой мембраной. Стальную иглу калибра 26 можно использовать для ввода пробы в капиллярную колонку диаметром 530 мкм [45].

В большинстве выпускаемых в настоящее время систем холодного ввода пробы непосредственно в колонку используются регуляторы давления. Они упрощают конструкцию прибора, а кроме того, допускают неполную герметичность

системы. Во время ввода пробы несколько нарушается герметичность системы, поэтому регуляторы потока использовать нельзя. Кроме того, применение регуляторов потока исключает проведение обдува устройства ввода. В некоторых системах во время ввода пробы используются регуляторы давления, а при проведении анализа — регуляторы потока.

Внедрение в хроматографическую практику систем непосредственного ввода проб в колонку существенно расширило область применения капиллярной газовой хроматографии. Были успешно проведены определения соединений многих классов, ранее сопряженные с трудностями, если вообще возможные. Метод непосредственного ввода пробы в колонку без предварительного испарения обладает рядом преимуществ:

- отсутствие дискриминации компонентов пробы;
- постоянство ее состава;
- высокая правильность и воспроизводимость анализа.

Следует отметить, что последние разработки оборудования для ГХ сделали возможным автоматизацию непосредственного ввода пробы в колонку.

При непосредственном вводе пробы в колонку так же, как и при других методах ввода пробы, условия эксперимента влияют на результаты анализа. Параметры анализа, а именно начальная температура колонки, природа растворителя, объем анализируемой пробы и скорость ее ввода, температура кипения компонентов пробы, взаимосвязаны. Конечно, в рамках этой книги невозможно подробно рассмотреть все эти факторы. Известная книга К. Гроба "On-column Injection in Capillary GC" [5], посвященная непосредственному вводу пробы в колонку, содержит 590 страниц! Непосредственный ввод пробы в колонку идеально подходит для анализа проб большого объема. Логическим следствием этого является использование комбинации методов — ВЭЖХ в режиме реального времени и капиллярной ГХ [46, 47].

Рассуждения, приведенные в этой главе, относятся в основном к пробам объемом 0,5-2 мкл. Подробно рассмотрены характерные особенности непосредственного ввода проб такого объема в колонку и практические рекомендации.

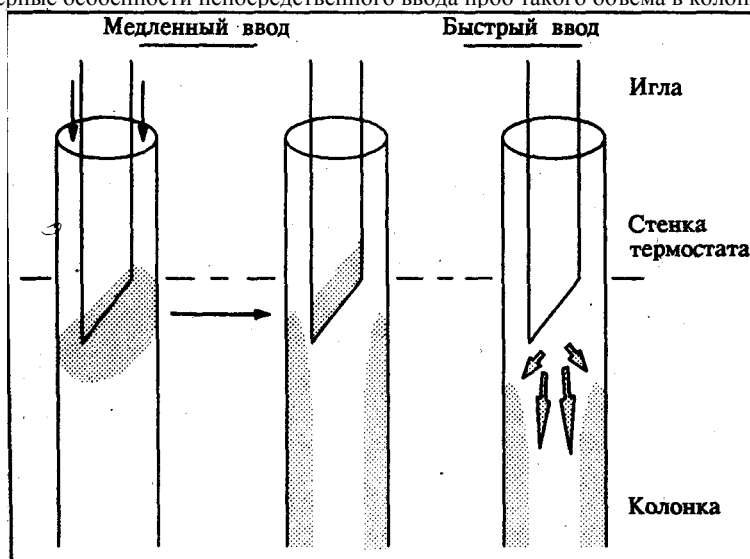


Рис. 3-27. На рисунке показано, что при быстром вводе исключается "оседание" компонентов пробы на внутренней поверхности иглы. Пробы конденсируются в колонке на расстоянии, существенном удаленном от иглы.

Пробы объемом 0,5-2 мкл следует вводить в колонку как можно быстрее, причем температура термостата не должна превышать температуру кипения растворителя. На рис. 3-27 показано, что при медленном вводе пробы часть образца может прилипнуть к игле. Чем дальше игла находится в узле ввода, тем больше летучих веществ вносится с газом-носителем в колонку, а веществ с низкой летучестью — остается на стенках иглы. Напротив, при быстром вводе проба попадает в колонку, практически не задерживаясь на стенках иглы, что исключает дискриминацию компонентов пробы.

В большинстве систем при непосредственном вводе пробы в колонку нарушается герметичность. Однако, если объем пробы не превышает 2 мкл, потери пробы не происходит. При скорости газа-носителя (гелия или водорода) 30-60 см/с проба полностью переносится в колонку. Если возникают проблемы с переносом пробы в колонку, то это связано с резким перепадом давления при вводе; объемная скорость газа-носителя снижается до такой степени что наблюдается движение газа в обратном направлении. Чтобы избежать этого, устанавливают более эффективное сопротивление потоку или работают при непрерывном обдуве.

При непосредственном вводе пробы температура термостата может быть существенно выше, чем при вводе без делителя потока. В последнем случае должна произойти повторная конденсация растворителя. При непосредственном же вводе проба поступает в колонку в жидком виде. Проведенные исследования показали, что при нормальных рабочих условиях (температура термостата меньше или равна температуре кипения растворителя) жидкая проба переносится вдоль всей колонки под действием газа-носителя. При вводе пробы растворитель и анализируемые вещества распределяются на некоторой части колонки до тех пор, пока под действием потока газа-носителя на внутренней поверхности колонки не образуется устойчивая пленка растворителя. Важно уменьшить длину смачиваемой растворителем зоны, поскольку растворенные вещества распределяются по всему этому участку. Ширина исходной зоны равна протяженности этого участка (эффект размывания в пространстве). (Очевидно, что размывания зоны во времени при непосредственном вводе пробы в колонку не происходит.) Выше указывалось, что размывание зоны в пространстве приводит к расширению и даже расщеплению пика.

Длина зоны, смоченной растворителем, зависит от диаметра колонки, объема введенной пробы, температуры ввода пробы, толщины пленки НФ и, самое главное, сродства растворителя к неподвижной жидкой фазе.

В случае хорошей смачиваемости (неполярные растворители и неполярные силиконовые фазы) длина зоны, смоченной растворителем, должна быть равна 20 см на каждый микролитр введенной пробы. Если смачиваемость плохая, длина этого участка может быть в 10-20 раз больше. Такая ситуация наблюдается, например, при определении метанола на неполярной силиконовой фазе.

Если объем пробы велик или смачиваемость фазы растворителем недостаточна и при этом не произошло концентрирования определяемых веществ, то размывание зоны в пространстве делает невозможным и качественный, и количественный анализ. На рис. 3-28 показаны пики додекана, полученные при различных объемах вводимой пробы. Видно, что ширина пиков для проб объемом 0,5 и 1,0 мкл одинакова. Для пробы объемом 2 мкл уже заметен вклад размывания, однако форма пика не искажена. Искаженные и расщепленные пики получаются при объеме пробы, превышающем 2 мкл.

При анализе 1 мкл раствора пробы в метаноле на колонке с неполярной фазой пики веществ, элюирующихся при температуре на 50 — 60°C выше температуры кипения растворителя, искажены или расщеплены. Это явление проиллюстрировано на примере анализа фракции эфирного масла *L. Valeriana celtica*, полученной ступенчатым элюированием н-гексаном и метанолом в условиях ВЭЖХ. Фракцию полярных компонентов получали в двухфазной системе: 1 мкл н-гексана и 6 мл метанола. Обе фазы анализировали газохроматографически на колонке 20 x 0,3 мм с OV-1 (толщина пленки фазы 0,3 мм). Объем вводимой пробы составлял 1 мкл. На рис. 3-29 приведены хроматограммы метанольного и н-гексанового слоя. Метанол вызывает расщепление пика, а н-гексан — нет.

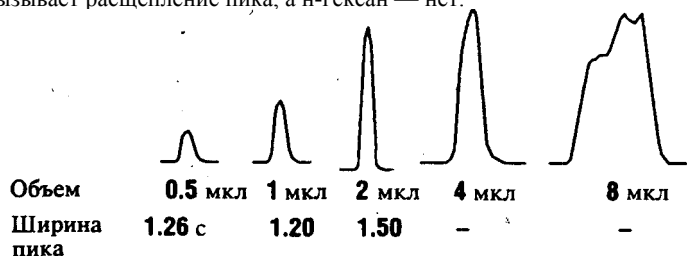


Рис. 3—28. Зависимость ширины пика от объема вводимой пробы. Анализируемое вещество додекан, растворитель гексан. Условия эксперимента: колонка 25м x 0,31 мм с НФ SE-54; газ-носитель водород (44 см/с); программирование температуры от 60 до 320°C со скоростью подъема температуры 15 град/мин.

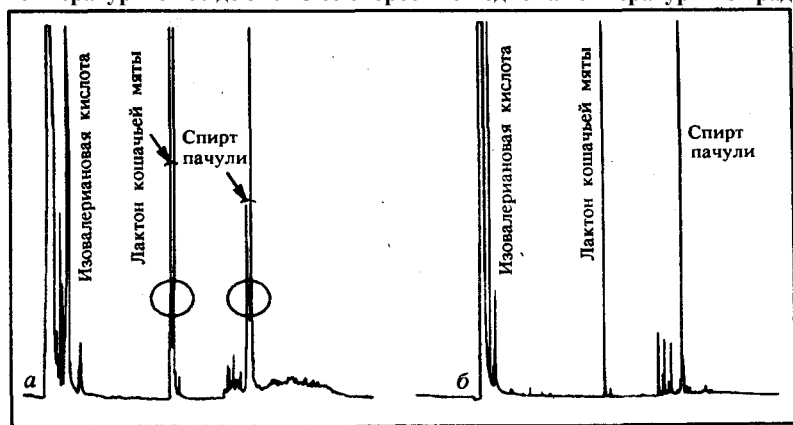


Рис. 3-29. Хроматограмма фракции эфирных масел *L. Valeriana t celtica*. Объем вводимой пробы 1 мкл. Растворители: а — метанол; б — н-гексан. (Из работы [48] с разрешения издательства Elsevier, | Амстердам).

Плохая смачиваемость в случае полярного растворителя и неполярной фазы приводит к формированию длинной неоднородной зоны. Этот недостаток может быть преодолен при использовании метода пустого капилляра или проведении анализа на полярной неподвижной фазе, например ПЭГ. Для лучшего понимания происходящих явлений на рис. 3-30 наглядно представлено, что происходит при непосредственном вводе пробы в колонку, если начальная температура последней не превышает температуру кипения растворителя. Проба распределяется вдоль смоченной растворителем зоны (рис. 3-30, а). По мере испарения растворителя повышается концентрация в нем компонентов пробы с более высокой летучестью (рис. 3-30, б, в). Процесс испарения начинается в той части колонки, куда введена проба. Менее летучие компоненты пробы распределяются в неподвижной фазе. По мере протекания процесса наблюдаются два явления. Летучие компоненты пробы концентрируются за счет улавливания растворителем (небольшая ширина исходной зоны), а более высококипящие компоненты распределяются по всей длине зоны, смоченной растворителем. Ясно, что исходная ширина зоны непосредственно связана с длиной части колонки, на которой распределена проба. Действительно, если на начальную часть колонки нанесена неподвижная фаза, то при непосредственном вводе пробы в колонку эффективность всегда ниже, чем при вводе пробы с делением потока.

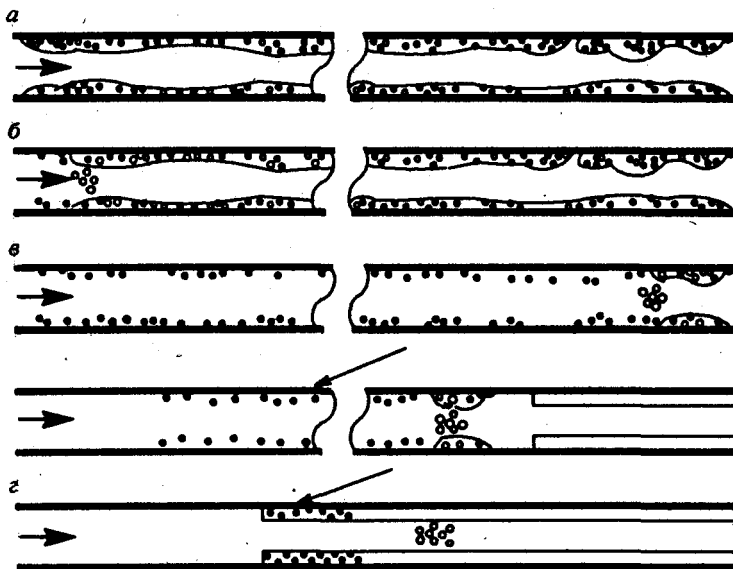


Рис. 3-30. Процессы, происходящие при непосредственном вводе пробы в колонку.

Более того, проба распределяется вдоль зоны, смоченной растворителем, отнюдь не однородно. Наибольшая концентрация определяемых веществ имеет место в начале и конце зоны, смоченной растворителем [49]. Если длина смоченной зоны невелика (например, при вводе 1 мкл пробы и хорошей смачиваемости неподвижной фазы растворителем), то в ходе хроматографирования происходит реконцентрирование определяемых веществ. Однако размывание зоны при этом составит 5-8% [48]. Если длина смоченной зоны велика, что наблюдается при большом объеме проб и плохой смачиваемости, то реконцентрирование становится невозможным и на хроматограмме появляются искаженные или расщепленные пики. Фокусирование или концентрирование может быть достигнуто в зоне пустого капилляра. Так, зоны растворенных веществ на рис. 3-30 сужены за счет фокусирования неподвижной фазой.

На практике в большинстве случаев можно пренебречь размыванием зоны в пространстве. При объеме пробы 1 мкл снижение эффективности с избытком компенсируется теми преимуществами, которые имеет непосредственный ввод пробы в колонку. При вводе проб большого объема или использовании полярных растворителей рекомендуется использовать метод пустого капилляра. Длина участка колонки, на который не нанесена неподвижная фаза, должна составлять 50-100 см на каждый микролитр введенной пробы.

При правильном проведении непосредственного ввода пробы в колонку получают наиболее точные и воспроизводимые результаты. Полностью устраняется дискриминация компонентов пробы, обусловленная использованием шприца. Как известно, дискриминация компонентов пробы за счет шприца является основным источником погрешностей при проведении количественного анализа проб, содержащих вещества с сильно различающимися молекулярными массами. Более того, поскольку проба вводится в колонку в виде жидкости, устраняется дискриминация компонентов за счет различного испарения в камере испарителя. На рис. 3-31 приведена хроматограмма смеси углеводородов $C_8 - C_{40}$ в гексане. Пробы вводили при температуре 60 °C, т. е. ниже точки кипения растворителя. За счет эффекта растворителя происходит концентрирование углеводорода, а размывание зоны углеводородов $C_{12} - C_{40}$ пренебрежимо мало. В табл. 3-1 приведены данные, характеризующие воспроизводимость полученных результатов для двух смесей углеводородов различной концентрации.

Стандартное отклонение s при концентрации компонентов 14 нг менее 1%, а при 0,14 нг — менее 3%. Правильность получаемых результатов также необычайно высока. Расчеты показали, что факторы отклика для высококипящих углеводородов близки к 1. На рис. 3-32 приведена Хроматограмма разделения триглицеридов. Эти вещества менее инертны и термоустойчивы, чем углеводороды. С помощью передвижного устройства непосредственного ввода пробы в колонку вводили 0,2 мкл 0,05%-ного раствора масла какао в гексане с низким содержанием полиненасыщенных триглицеридов. Температура термостата составляла 340°C.

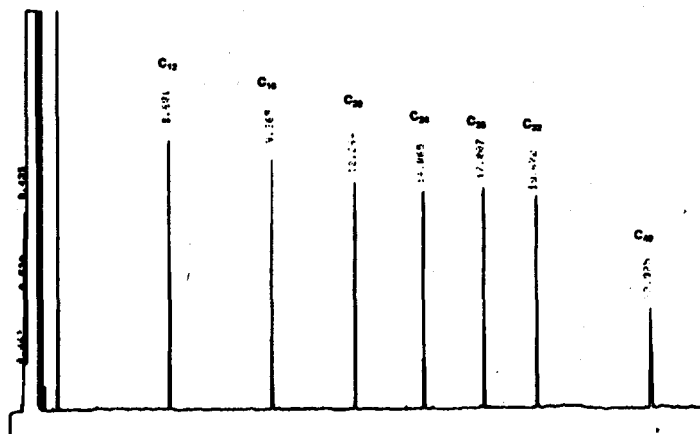


Рис. 3—31. Хроматограмма тестовой смеси углеводородов $C_8 - C_{40}$. Условия эксперимента: капиллярная колонка 25м X 0,25, НФ поперечно-сшитая фаза SE-54; программирование температуры от 60 до 320°C со скоростью подъема температуры 10 град/мин; газ-носитель водород (50 см/с).

Таблица 3—1. Воспроизводимость определения углеводов C₁₂ — C₄₀ при непосредственном вводе пробы

| Углеводород | Введено 14 нг (n = 6) | | Введено 0,14 нг (n = 6) | |
|-----------------|-----------------------|------|-------------------------|------|
| | площадь пика | s, % | площадь пика | s, % |
| C ₈ | 288,20 | 0,76 | 5,15 | 2,90 |
| C ₁₂ | 309,09 | 0,49 | 3,16 | 1,57 |
| C ₁₆ | 306,65 | 0,47 | 3,03 | 1,63 |
| C ₂₀ | 287,12 | 0,70 | 3,05 | 1,27 |
| C ₂₄ | 274,21 | 0,57 | 2,95 | 2,54 |
| C ₂₈ | 289,83 | 0,58 | 3,12 | 0,80 |
| C ₃₂ | 282,86 | 0,58 | 3,21 | 0,59 |
| C ₄₀ | 264,46 | 0,51 | 2,93 | 0,79 |

Таблица 3-2. Правильность определения хроматографических характеристик стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот (n=11)

| Число атомов углерод» в цепи | Истинная масса | Средняя неисправленная площадь, % | Относительный фактор отклика* | Средняя исправленная площадь, % | Отношение площади пика к истинной массе |
|------------------------------|----------------|-----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---|
| 9:0 | 4,99 | 4,89 | 1,02 | 4,99 | 1,00 |
| 10:0 | 10,02 | 10,02 | 1,00 | 10,02 | 1,00 |
| 11:0 | 5,01 | 5,00 | 1,00 | 5,00 | 1,00 |
| 10:0 αОН | 2,50 | 2,26 | 1,10 | 2,49 | 0,99 |
| 10:0 βОН | 1,26 | 1,17 | 1,08 | 1,26 | 1,00 |
| 12:0 | 10,00 | 10,16 | 1,00 | 10,16 | 1,02 |
| 13:0 | 5,00 | 4,96 | 1,00 | 4,96 | 0,99 |
| 14:0 | 10,00 | 10,19 | 0,98 | 9,99 | 1,00 |
| 15:0 | 4,99 | 5,05 | 0,99 | 5,00 | 1,00 |
| 14:0 αОН | 2,51 | 2,33 | 1,05 | 2,45 | 0,97 |
| 14:0 βОН | 1,25 | 1,17 | 1,07 | 1,25 | 1,00 |
| 16:0 | 10,00 | 10,23 | 0,98 | 10,03 | 1,00 |
| 17:0 | 5,00 | 5,00 | 0,97 | 4,87 | 0,97 |
| 16:0 αОН | 2,50 | 2,29 | 1,09 | 2,50 | 1,00 |
| 18:0 | 9,98 | 10,16 | 0,99 | 10,06 | 1,01 |
| 19:0 | 4,99 | 5,03 | 0,97 | 4,88 | 0,98 |
| 20:0 | 9,99 | 10,10 | 0,99 | 10,00 | 1,00 |

*Эти величины приведены для сравнения и не могут использоваться вместо процедуры градуировки.

По завершении элюирования растворителя начальную зону колонки водили в термостат и регистрировали хроматограмму. Стандартное отклонение для основных триглицеридов (пальмитиновая кислота — олеиновая кислота — пальмитиновая кислота, пальмитиновая кислота — олеиновая кислота — стеариновая кислота, стеариновая кислота — олеиновая кислота — стеариновая кислота) было ниже 1% [50]. Более высокой воспроизводимости можно достигнуть при автоматическом вводе пробы непосредственно в колонку.

На рис. 3-33 приведена хроматограмма стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот [45]. Эта смесь используется для идентификации в микробиологии. Относительное стандартное отклонение *S_r* времен удерживания составляет 0,02-0,05% (n = 11); площадей пиков — 0,06-0,6%. Средняя абсолютная погрешность менее 1% (см. табл. 3-2).

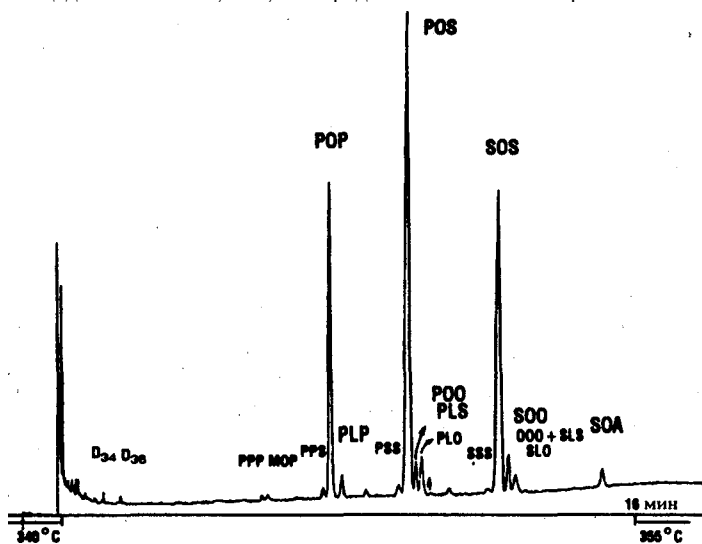


Рис. 3-32. Хроматограмма образца масла какао, содержащего небольшое количество полинасыщенных триглицеридов. (Из работы [50] с разрешения JAOS.) Условия эксперимента: кварцевая капиллярная колонка 25 м жО, 25 мм, НФ OV-17, df 0,12 мкм; фирма Rescom (Бельгия); температурный режим 340°C (1 мин), затем программирование температуры до 355°C со скоростью подъема 1 град/мин; давление водорода на входе 10 кПа.

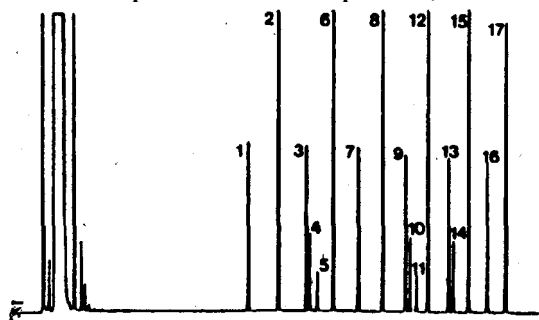


Рис. 3—33. Хроматограмма стандартной смеси метиловых эфиров насыщенных жирных кислот с неразветвленной цепью. Условия эксперимента: колонка 30 м x 0,53 мм, НФ 5% фенилметилсиликона, df 0,88 мкм; температурный режим 60°C (2 мин), программирование температуры до 300°C со скоростью 10 град/мин; газ-носитель гелий (4 мл/мин); проба 2 мкл раствора смеси в гексане; автоматический ввод пробы, автосэмплер HP 7673A.

На рис. 3-34 [51] приведена хроматограмма смеси свободных жирных кислот, от уксусной до каприновой. Пробу автоматически вводили непосредственно в колонку. Относительное стандартное отклонение абсолютных площадей пиков меньше 1%, а относительных площадей пиков — менее 0,4% (число вводов пробы $n = 20$). Температура устройства ввода пробы была на 20°C выше точки кипения растворителя (дихлорметана). Размывания пиков и искажения их формы удавалось избежать, применяя вторичное охлаждение. Дополнительное охлаждение может оказаться весьма благоприятным при проведении рутинных анализов. Однако снижение температуры термостата до уровня, не превышающего температуру кипения растворителя, занимает много времени.

На рис. 3-35 приведена хроматограмма пиперина — основного компонента перца (и экстрактов перца), придающего ему жгучий вкус [52]. Пробу раствора пиперина в дихлорметане объемом 0,5 мкл быстро вводили при температуре термостата 100°C. Дополнительно охлаждали первые несколько сантиметров колонки. После ввода пробы повышали температуру сразу до 250°C. Высококипящие компоненты пробы концентрировались на первых сантиметрах колонки, а растворитель испарялся. Движения потока в обратном направлении не происходит за счет совокупного действия дополнительного охлаждения, малого объема пробы и большого диаметра капиллярной колонки. Относительное стандартное отклонение при шестикратном вводе стандартной смеси (рис. 3-35, а) и пробы (б) не превышает 1%. Эти результаты лучше, чем данные анализа методом ВЭЖХ. Представленные данные также свидетельствуют о пригодности как метода внутреннего стандарта, так и абсолютной калибровки при проведении количественного анализа.

В публикуемых в последние годы работах есть огромное количество свидетельств тому, что при проведении количественного анализа холодный ввод пробы непосредственно в колонку превосходит все другие варианты. Еще одной важной особенностью этого метода является постоянство состава пробы. Термически лабильные соединения не подвергаются тепловому воздействию; хроматографирование этих веществ происходит при сравнительно низких температурах. Практически полностью исключена возможность протекания реакций разложения и перегруппировки. Это позволяет проводить анализы, неосуществимые ранее методом газовой хроматографии, что прекрасно продемонстрировано в работе [30]. Показано, что только с использованием холодного ввода пробы непосредственно в колонку можно провести газохроматографическое количественное определение горчичных масел и их нитрильных производных в редисе.

Хроматограмма смеси некоторых микотоксинов (без получения производных) представлена на рис. 3-36. Микотоксины содержатся в смеси в нанограммовых количествах. Полученные данные об отсутствии изменения состава пробы подтверждены методом хромато-масс-спектрометрии, что говорит о его совместимости с "методом газовой хроматографии". На рис. 3-37 приведена хроматограмма смеси силилированных ароматических оксикислот. Пробу вводили непосредственно в колонку, поскольку производные триметилсилана малостойчивы.

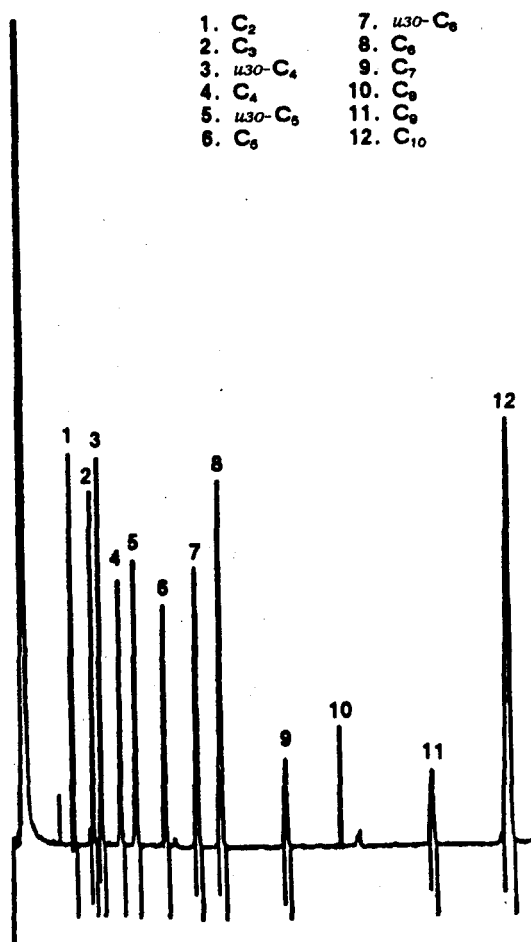


Рис. 3-34. Анализ смеси свободных жирных кислот на широкой кварцевой капиллярной колонке (из работы [51] с разрешения! издательства Elsevier).

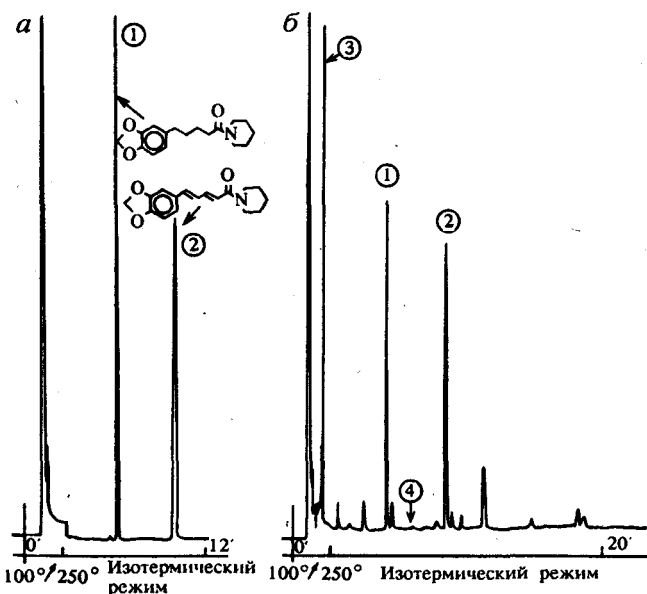


Рис. 3—35. Анализ пиперина (а) и экстракта черного перца (б). (Из работы [52] с разрешения издательства Elsevier.) Условия эксперимента: стеклянная капиллярная колонка 25 м x 0,5 мм, НФ HTS OV-1; изотермический режим (250°C); газ-носитель водород (4,6 мл/мин). Внутренний стандарт — тетрагидропиперин (пик 1); пик 2 — пиперин.

Недостатки метода непосредственного ввода пробы в колонку

Следует отметить и недостатки метода непосредственного ввода пробы в колонку. Жидкая проба попадает в колонку, минуя стадию испарения, поэтому предъявляются особые требования к чистоте анализируемой пробы. Нелетучие или малолетучие вещества будут собираться в верхней части колонки. Их присутствие снижает эффективность колонки, кроме того, эти вещества могут вести себя как центры адсорбции. Поэтому очень важно провести очистку пробы. Если это невозможно,

рекомендуется использовать предколонку, которая одновременно играет роль пустого капилляра в одноименном методе.

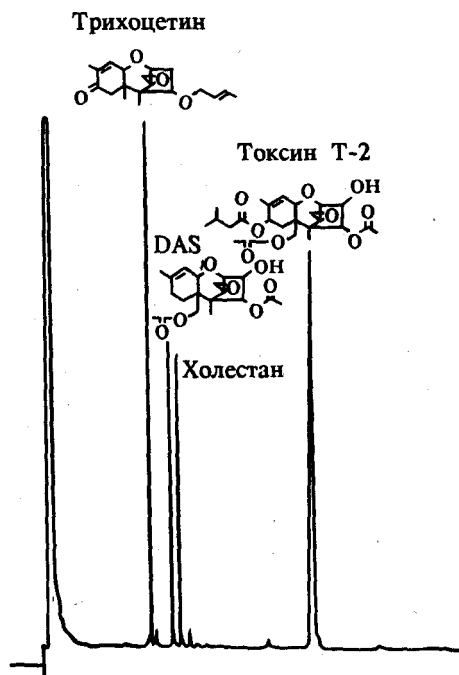


Рис. 3-36. Анализ недериватизированных микотоксинов. Уело-; вия эксперимента: колонка 20м x 0,3 мм, НФ ОV-1701, df 0,15 мкм; температурный режим 80 °C (1 мин), затем программирование температуры до 250 °C со скоростью 40 град/мин; проба — 0,5 мкл раствора микотоксинов в хлороформе.

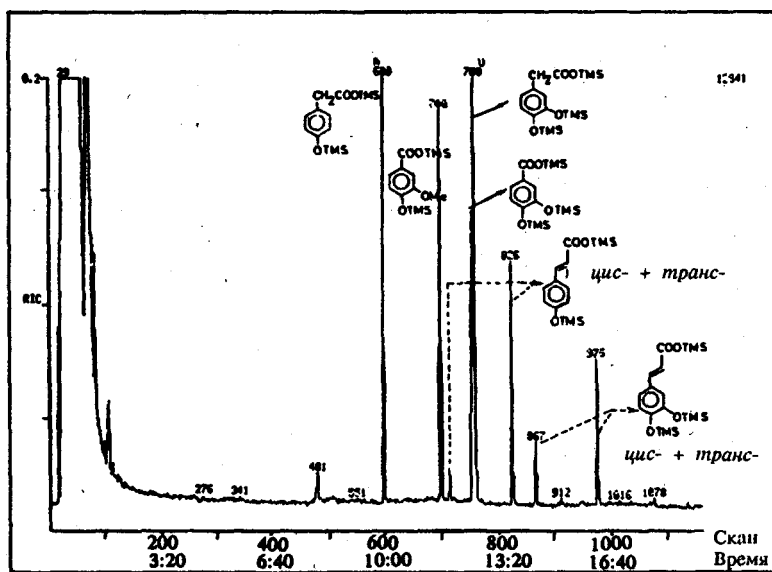


Рис. 3-37. Хроматограмма смеси силилированных ароматических оксикарбоновых кислот. Условия эксперимента: колонка 25м x 0,25 мм, НФ 1E-54, df 0,25 мкм; программирование температуры от 60 до 200°C со скоростью 8 град/мин; проба — 0,8 мкл раствора в н-гексане TMS — тетраметилсилан).

Внедрение в хроматографическую практику иммобилизованных неподвижных фаз сделало возможным промывку колонок растворителем, что способствует эффективному удалению химических загрязнений. Однако в некоторых случаях нелетучие вещества, растворяясь, проникают в пленку неподвижной фазы и остаются в ней. Наиболее эффективным средством является удаление части колонки (от 20 до 50 см).

На практике пробы часто бывают слишком концентрированными для непосредственного ввода в колонку, и их приходится разбавлять. Казалось бы, это очень просто. Однако простота обманчива: вследствие разбавления на хроматограмме могут появиться дополнительные пики. При непосредственном вводе пробы в колонку может быть достигнута чувствительность ниже $1 \cdot 10^{-4}\%$. Это означает, что примеси в растворителе, содержащиеся в количестве миллиграммов на литр, будут искажать хроматограмму, анализируемой смеси. Даже аналитически чистые растворители часто содержат загрязнения в таких, концентрационных пределах. Чтобы учесть появление дополнительных пиков, вызванных наличием примесей в растворителе, на практике часто сначала хроматографируют сам растворитель и вычитают хроматограмму "холостого" опыта. Удовлетворительная очистка растворителя достигается путем твердофазной экстракции с последующей дистилляцией на колонке Вигре или Сидуорда.

И, наконец, еще одним недостатком холодного ввода пробы непосредственно в колонку является ограниченная применимость этого метода к пробам, содержащим большие количества индивидуальных соединений. Количественное определение составляющих смеси, элюирующихся до макрокомпонентов, не представляется возможным. Это объясняется тем, что содержащийся в высокой концентрации макрокомпонент ведет себя подобно растворителю. В результате за счет частичного улавливания растворителем [29] на хроматограмме появляются искаженные пики. Это явление часто называют обратным

эффектом растворителя. По этой причине невозможно провести анализ смеси мономеров стирола (рис. 3-9), вводя пробу непосредственно в колонку. Разбавление же пробы не представляется возможным из-за низкого содержания в смеси других соединений. Приведем еще один пример. Имеется смесь, содержащая, широкую гамму летучих соединений. При анализе ее с использованием непосредственного ввода в колонку достигнуты удовлетворительные результаты. Добавим к смеси существенное количество диоктилфталата (ДОФ). На хроматограмме полученной смеси пики веществ, элюируемых до ДОФ, имеют искаженную форму, причем искажения пиков не воспроизводятся. В зависимости от различий в полярности основы анализируемой пробы получаются различные формы пиков. Компоненты пробы, обладающие близкой полярностью, имеют сильно искаженные пики (эффект фиксации). Пики веществ, сильно различающихся по полярности, могут быть вообще не искажены (эффект сгущения). При анализе таких проб можно прибегнуть к вводу пробы с программированием температуры испарителя.

В настоящее время, несмотря на перечисленные выше недостатки, метод холодного ввода пробы непосредственно в колонку является самым надежным при проведении большинства анализов.

Рекомендации по непосредственному вводу пробы в колонку

- Пробы объемом 0,5-2 мкл быстро вводят при температуре термостата, не превышающей температуры кипения растворителя. Если проводят дополнительное охлаждение на входе, то температура термостата может быть выше температуры кипения растворителя.
- Жидкая проба, введенная в колонку, образует устойчивую пленку (смоченная зона). Этот процесс протекает за несколько секунд. Если температуры кипения анализируемых веществ и растворителя существенно различаются, то допускается резкий нагрев колонки до высокой температуры. Напротив, если температуры кипения анализируемых веществ и растворителя близки, то проводят программируемый подъем температуры, что позволяет в полной мере реализовать эффект растворителя.
- При искажении или расщеплении пика рекомендуется применять метод пустого капилляра.
- При проведении количественного анализа можно применять методы как внутреннего стандарта, так и абсолютной калибровки.
- Если состав анализируемой смеси не слишком сложен, лучше использовать широкие капиллярные колонки, так как это облегчает автоматический ввод проб. Если при автоматическом вводе пробы необходимо достичь высокой эффективности, рекомендуется подсоединить к обычной узкой капиллярной колонке широкую капиллярную предколонку, представляющую собой отрезок (20-50 см) дезактивированного капилляра без НФ.
- В качестве газа-носителя чаще всего используется водород. Если из соображений безопасности водород применять нельзя, то используют гелий. Высокая скорость газа-носителя (50-80 см/с для H_2 и 30-50 см/с для He) обеспечивает пренебрежимо малое размывание пика.

Прямой ввод пробы в колонку

Различные методы ввода пробы в колонку получали свои названия. По мере того, как они были предложены, и смысл, первоначально вкладываемый в какой-либо термин, мог со временем меняться, что приводило к неточности обозначений. Примером такого разночтения является так называемый прямой ввод пробы в колонку. Часто прямой ввод путают и, более того, отождествляют с непосредственным вводом пробы в колонку. Ниже приведены определения прямого и непосредственного ввода пробы в колонку.

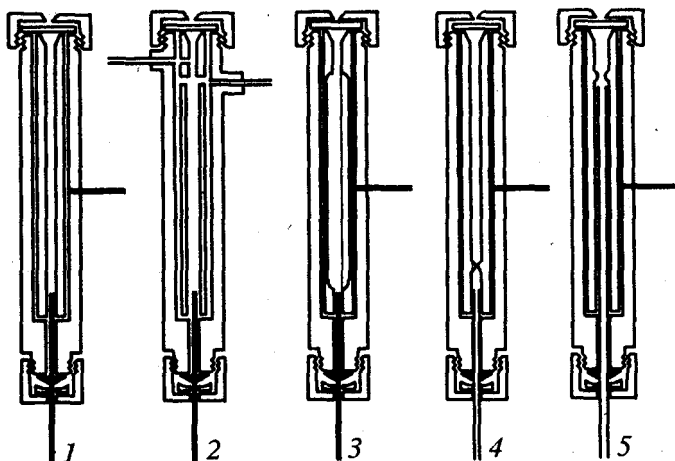


Рис. 3-38. Стекланные вкладыши для осуществления прямого ввода пробы в колонку:

1 — полый вкладыш; 2 — полый вкладыш с обдувом мембраны; 3 — полый вкладыш увеличенного объема; 4 — полый вкладыш с коническим сужением; 5 — вкладыш для прямого ввода в колонку; 1, 3, 4, 5 — регулирование расхода или потока; 2 — только регулирование давления.

Прямой ввод пробы. — это метод, основанный на вводе мгновенно испаренной пробы в колонку. Нагрев узла ввода пробы проводят независимо от нагрева термостата. Испарение пробы происходит на входе в устройство ввода — в стеклянном вкладыше (внеколоночное испарение) или в начальной части колонки (внутриколоночное испарение). Размывание пика происходит за счет размывания во времени и пространстве. На рис. 3-38 представлены различные устройства для прямого ввода пробы в колонку.

Непосредственный ввод пробы, — это метод "холодного" ввода, основанный на введении жидкой пробы в колонку. Во время ввода пробы зону ввода охлаждают во избежание дискриминации компонентов пробы за счет горячей иглы. Размывание пробы при вводе происходит только за счет размывания в пространстве. Анализируемые вещества концентрируются в начальной части колонки. По мере увеличения температуры термостата проба постепенно испаряется. Непосредственный ввод пробы может быть осуществлен в обычные капиллярные колонки (внутренний диаметр 0,25; 0,32 и 0,53 мм), а прямой ввод — только в

широкие или очень широкие капиллярные колонки.

Прямой ввод в широкую капиллярную колонку был впервые описан в 1959 г. [53]. В то время основное внимание уделяли эффективности колонки. Вопросы количественного определения при прямом вводе пробы в колонку не были по существу глубоко изучены. Внедрение в хроматографическую практику широких кварцевых капиллярных колонок внутренним диаметром 0,53 мм вновь вызвало интерес к прямому вводу пробы в колонку. Указывалось [54], что проведение анализа путем прямого ввода пробы в кварцевую капиллярную колонку диаметром 0,53 мм является альтернативой ГХ с насадочными колонками и осуществляется очень просто: следует только установить стеклянный вкладыш и подсоединить его к колонке. При этом можно проводить анализ как в режиме высокого (объемная скорость 2-5 мл/мин), так и низкого (объемная скорость 5-20 мл/мин) разрешения. Однако не все так просто, как кажется с первого взгляда. Прямой ввод пробы предусматривает ее испарение при повышенных температурах. Поэтому все предыдущие утверждения о дискриминации компонентов. Пробы за счет шприца, а также эффектах размывания остаются в силе. для получения оптимальных результатов при прямом вводе необходимо тщательно изучить все факторы, которые могут повлиять на ход анализа. К сожалению, до сих пор не проведено детальное исследование процесса прямого ввода в колонку диаметром 0,53 мм. Безусловно, такое исследование выявило бы недостатки некоторых используемых в настоящее время вкладышей.

Несмотря на то что систематическое исследование прямого ввода не проводилось, в ходе эксплуатации были сформулированы Рекомендации по его применению. Следует отметить, что широкие капиллярные колонки можно подсоединять к любому устройству ввода: с делителем потока, без делителя потока, устройству непосредственного ввода пробы в колонку или устройству с программированием температуры испарения. Если широкие капиллярные колонки эксплуатируются в режиме высокого разрешения (т.е. при объемных скоростях газа-носителя, близких к оптимальным), то к ним применимы те же рекомендации по эксплуатации, что и к узким капиллярным колонкам.

При обычных объемах вводимой пробы (~ 1 мкл) рекомендации по прямому вводу пробы в колонку аналогичны предложением для ввода пробы без делителя потока:

- При проведении ввода пробы вручную предпочтение отдается быстрому вводу горячей иглой. При этом уменьшается дискриминация компонентов пробы за счет шприца.
- Если в устройстве ввода происходит испарение, при количественном анализе неизбежна дискриминация компонентов пробы. Прямой ввод пробы не является исключением.
- Во избежание потерь пробы за счет переполнения вкладыша парами следует располагать колонку как можно ближе к точке ввода пробы.
- Для сведения к минимуму разбавления пробы (размывание зоны во времени) предпочтительно использовать длинные и узкие вкладыши.
- Следует компенсировать размывание зоны путем фокусирования компонентов в начальной части колонки. Вопросы использования эффекта растворителя и термического фокусирования изложены выше.
- Следует избегать введения проб объемом порядка микролитра при температурах термостата, существенно превышающих точку кипения растворителя. Исключением являются пробы, содержащие только высококипящие вещества, которые подвергаются повторному фокусированию за счет холодного улавливания при выбранной температуре колонки.

Метод прямого ввода пробы имеет лишь один недостаток по сравнению с вводом пробы без делителя потока: в узле прямого ввода отсутствует устройство обдува мембраны и входа. Вследствие этого на хроматограмме появляются большие размытые пики растворителя и посторонние пики. Проблемы появления посторонних пиков устраняются при использовании систем обдува мембраны в узлах прямого ввода (рис. 3-38, случай 2). "Хвосты" пиков растворителя можно резко уменьшить, если после того, как устройство ввода было продуто газом-носителем в течение 20-30 с, в течение 10 с проводить обдув мембраны.

Прямой ввод пробы рекомендуется осуществлять быстро, что на первый взгляд вызывает удивление [51]. Можно показать, что медленный ввод (в течение 1-2 с) позволяет получать пики значительно лучшей формы, особенно если используются вкладыши большого объема (рис. 3-38, случай 3). Однако при этом увеличивается дискриминация компонентов пробы за счет шприца. Очень большое значение имеет разность температуры узла ввода и точки кипения растворителя. Таким образом, при осуществлении прямого ввода в каждом конкретном случае следует учитывать совокупность факторов: скорость ввода (быстрый или медленный ввод), температуру кипения и природу растворителя, температуру узла ввода.

Размывание пика во времени и пространстве также является источником возможных ошибок при количественном определении. Использование эффекта растворителя, холодного улавливания и других описанных выше подходов позволяет снизить степень размывания пика. Примером может служить анализ стандартов веществ, загрязняющих окружающую среду (рис. 3-39), на капиллярной колонке с толстым слоем НФ.

Пики компонентов 2-57 (рис. 3-39) имеют прекрасную форму, что достигается за счет фокусирования компонентов путем холодного улавливания при начальной температуре колонки 40°C. Успешному проведению холодного улавливания способствует наличие толстой пленки НФ. В опытах с программированием температуры размывание пика выражено меньше, поскольку холодное улавливание происходит автоматически. Кроме того, использование широких капиллярных колонок по определению приводит к более широким пикам. Поэтому условия ввода пробы меньше влияют на форму пика.

Часто осуществляют прямой ввод проб объемом 0,2-0,3 мкл при повышенных температурах. Для ввода таких проб используют шприцы объемом 1 мкл, игла которых снабжена плунжером. В этом случае можно осуществлять прямой ввод пробы в колонку (рис. 3-38, случай 5). Во избежание соскабливания НФ иглой шприца необходимо смыть НФ с начальной части капиллярной колонки. К колонкам с иммобилизованной фазой следует подсоединять капиллярную колонку или пустой капилляр RG. На рис. 3-40 приведена хроматограмма окисленной фракции масла, растворенного в дихлорметане. Продукт анализировали на узкой капиллярной колонке (ввод пробы с делением потока) и широкой капиллярной колонке (прямой ввод) [55]. На обеих колонках (25 м x 0,25 мм и 50 м x 0,50 мм соответственно) достигнута одинаковая эффективность. Однако при прямом вводе пробы (объемом 0,2 мкл) размывание пика не наблюдается (рис. 3-40,в). В обоих случаях имеет место дискриминация компонентов пробы, за счет шприца.

Используя автоматическое устройство быстрого ввода пробы, можно устранить дискриминацию ее компонентов за счет уменьшения продолжительности нахождения иглы в устройстве ввода. На рис. 3-41 приведены данные, свидетельствующие о влиянии времени нахождения иглы в узле ввода. Проводили анализ углеводородов в растворе н-гексана и н-пентана. Объем пробы в обоих случаях составляет 1 мкл. Приведены графики зависимости отношения площадей ионов C_x/C_{20} ($x = 10 - 40$) от числа атомов углерода для различной продолжительности нахождения иглы в узле ввода пробы. Время нахождения иглы определяют как промежуток времени между прокалыванием нижней части мембраны иглой (прохождением ею этой точки при удалении иглы. Для раствора в н-гексане и температуре ввода 350°C (в узле ввода — стекловата) дискриминация пробы при нахождении иглы в устройстве ввода в течение 500 мс практически не наблюдается. Для раствора в н-пентане аналогичные результаты достигаются при нахождении иглы в узле ввода в течение 250 мс. Полученные результаты указывают на необходимость учета температуры кипения растворителя. Чем выше летучесть растворителя, тем более выражена дискриминация компонентов пробы за счет фракционирования в игле. Результаты исследования характеристик устройства прямого ввода пробы были доложены на IX Международном симпозиуме по капиллярной хроматографии (Монтери, Калифорния, США, май 1988 г.) [55].

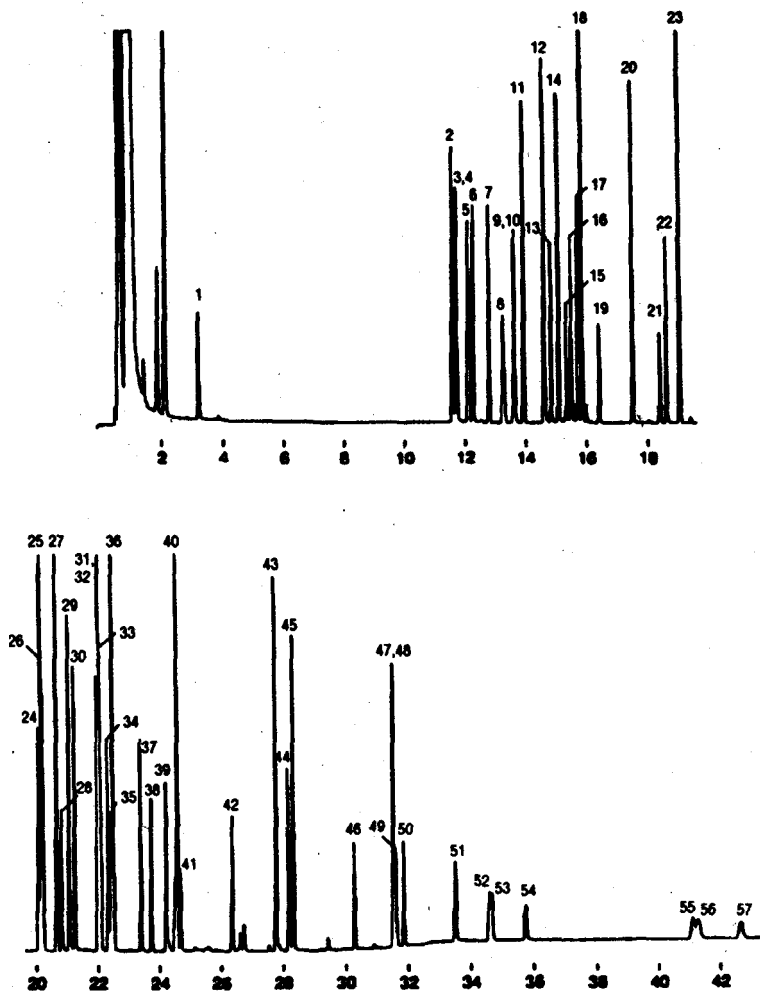


Рис. 3-39. Определение органических примесей в воздухе. Условия эксперимента: колонка 30м ж 0,53 мм, df 1,5 мкм; программирование температуры колонки от 40°C (6 мин) до 300°C (15 мин) со скоростью 10 град/мин; температура узла ввода и детектора 300°C; газ-носитель гелий (80 см/с); объем пробы 2,5 мкл (вкладыш типа 2, рис. 3-38).

1 — N-нитрозодиметиламин; 2 — фенол; 3 — 2-хлорфенол; 4 — бис(2-хлорэтиловый) эфир; 5 — 1,3-дихлорбензол; 6 — 1,4-дихлорбензол; 7 — 1,2-дихлорбензол; 8 — бис(2-хлоризопропиловый) эфир; 9 — гексахлорэтан; 10 — N-нитроэо-ди-н-пропиламин; 11 — нитробензол; 12 — изофорон; 13 — 2-нитрофенол; 14 — 2,4-диметилфенол; 15 — бис(2-хлорэтокси)метан; 16—2,4-дихлорфенол; 17—1,2,4-трихлорбензол; 18— нафталин; 19 — гексахлорбутадиеи; 20 — п-хлор-м-крезол; 21 — гексахлорциклопентадиен; 22 — 2,4,6-трихлорфенол; 23 — 2-хлорнафталин; 24 — аценафтилен; 25 — диметилфталат; 26 — 2,6-динитротолуол; 27 — аценафтен; 28 — 2,4-динитрофенол; 29 — 4-нитрофенол; 30 — 2,4-динитротолуол; 31 — диэтилфталат; 32 — флуорен; 33 — 4-хлорфенилфениловый эфир; 34 — 4,6-динитро-о-крезол; 35 — нитрозодифениламин; 36— 1,2-дифенилгидразин; 37— 4-бромфениловый эфир; 38 — гексахлорбензол; 39 — пентахлорфенол; 40 — фенантрен; 41 — антрацен; 42 — ди-н-бутилфталат; 43 — флуорантен; 44 — бензидин; 45 — пирен; 46 — бутилбензилфталат; 47 — бенз[а]антрацен; 48 — 3,3-дихлорбензидин; 49 — хризен; 50 — бис(2-этилгексил)фталат; 51 — ди-н-октилфталат; 52 — бенз[б]флуорантен; 53 — бенз[к]флуорантен; 54 — бенз[а]пирен; 55 — индено[1,2,3-сcd]пирен; 56 — дибенз[ah]антрацен; 57— бенз[ghi]перилен.

Ввод пробы с программированием температуры испарителя

В 1979 г. авторы [56, 57] описали метод ввода проб объемом до 250 мкл. Пробу медленно вводили в холодный стеклянный вкладыш, заполненный стекловатой. Низкокипящий растворитель постоянно испарялся и выводился через отверстие сброса. Оставшиеся компоненты пробы переносились в колонку при быстром нагреве (30 град/мин) устройства ввода. При переносе пробы линия сброса была закрыта (ввод пробы без деления потока).

Две группы исследователей — Шомбург и сотр. [58, 60] и Пой и сотр. [59, 61] — использовали эту идею и практически одновременно разработали метод ввода пробы с программированием температуры испарителя. Следует отметить, что исследователи ставили своей целью не ввод больших проб, а устранение дискриминации компонентов пробы за счет фракционирования в игле шприца. В дальнейшем устройства ввода с программированием температуры испарителя усовершенствовались. Этот метод часто называют холодным вводом пробы с делением/без деления потока. В настоящее время выпускается широкий ассортимент устройств ввода с программированием температуры испарителя, позволяющих осуществлять горячий и холодный ввод пробы с делением и без деления потока, непосредственный и прямой ввод пробы в колонку и т. д. Программирование температуры испарителя в сочетании с вводом проб большого объема, концентрированием путем многократного ввода, отдувкой растворителя и т. д. считается в настоящее время самым универсальным методом. Следует отметить, что возможности этого способа ввода пробы еще до конца не изучены. Для окончательных выводов о достоинствах и недостатках метода необходимо больше практических данных. В данном разделе мы остановимся на принципе действия метода холодного ввода с делителем/без делителя потока, не рассматривая конфигурации устройства.

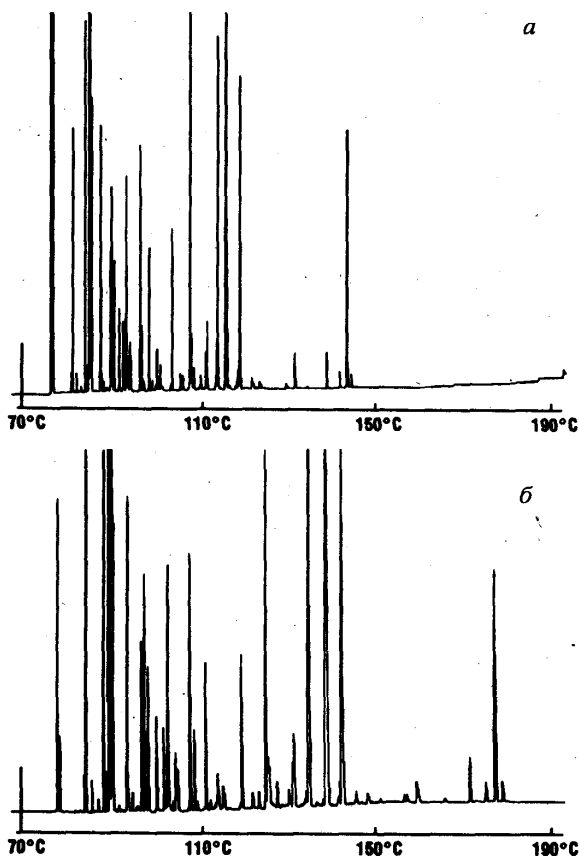


Рис. 3—40. Хроматограмма окисленной фракции эфирного масла на узкой (а) и широкой (б) капиллярной колонке. Условия эксперимента: а — колонка 25 м x 0,25 мм, НФ ПЭГ-НМВ; программирование температуры от 70 до 190°C со скоростью 2 град/мин; делитель потока со стеклянным вкладышем, коэффициент деления потока 1:20; б — колонка 50 м x 0,50 мм, НФ ПЭГ — НМВ; программирование температуры от 70 до 190°C со скоростью 2 град/мин; прямой ввод пробы.

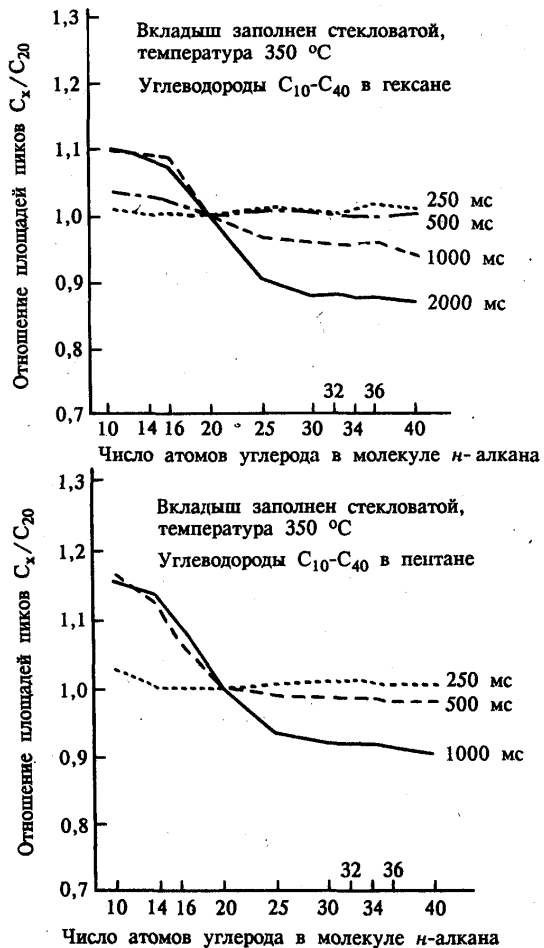


Рис. 3-41. Влияние продолжительности нахождения иглы в узле ввода пробы на фракционирование пробы в игле.

На рис. 3-42 представлена схема устройства ввода пробы с программированием температуры испарителя. Система состоит из стеклянного вкладыша длиной 5-8 см (внешний диаметр 0,2 см, внутренний диаметр 0,1 см), заполненного силианизированной стекловатой. Вкладыш закреплен в металлическом корпусе таким образом, чтобы препятствовать попаданию газа-носителя из нижней части. Капиллярная колонка вводится во вкладыш на глубину 0,5-0,8 см.

Верхняя часть этого устройства является классическим устройством ввода с делением/без деления потока; в ней имеются вводы для газа-носителя и газа для обдувки мембраны. Разработаны также безмембранные устройства [62, 63]. Верхняя часть узла ввода независимо от его конструкции всегда остается холодной. Проба вводится в стеклянный вкладыш при холодном устройстве ввода пробы. После удаления иглы шприца нагревают трубку испарителя. В результате происходит испарение растворителя и анализируемых веществ. Нагрев трубки осуществляется при помощи электричества (рис. 3-42) или предварительно нагретого сжатого воздуха. В зависимости от конструкции нагрев узла может быть стремительным [58,59] либо при постепенном линейном подъеме температуры с определенной скоростью (2-12 град/с) [63]. Использование таких устройств позволяет оптимизировать условия анализа термически неустойчивых соединений, работать в режиме отдувки растворителя, что важно при селективном детектировании с помощью ЭЗД или масс-спектрометра, осуществлять концентрирование с использованием многократного ввода. С помощью вентиля делителя потока можно работать как в режиме деления потока, так и без деления. Во время анализа или после него камеру испарителя охлаждают воздухом или диоксидом углерода. После этого можно вводить следующую пробу. Охлаждение камеры испарителя занимает 1-5 мин. Ниже кратко рассмотрены основные режимы — холодный ввод пробы с делением потока, ввод с удалением растворителя и холодный ввод без деления потока.

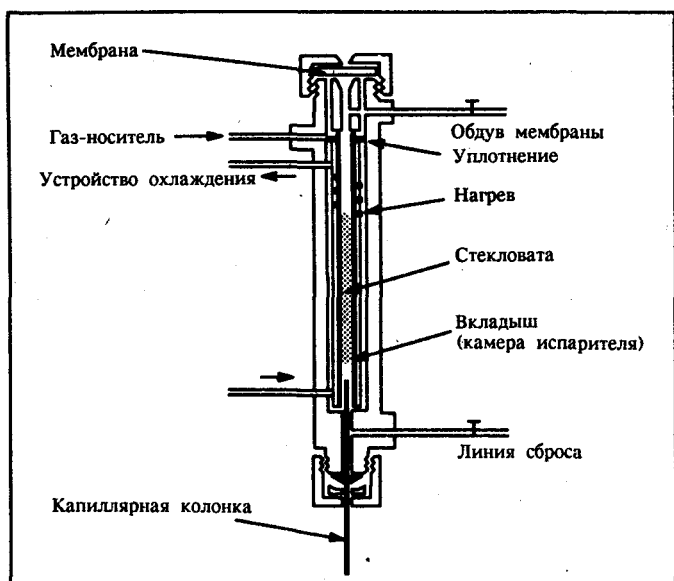


Рис. 3-42. Схема устройства ввода с программируемой температурой испарителя.

Холодный ввод пробы с делением потока

При холодном вводе с делением потока анализируемое вещество в виде жидкой пробки вводится в холодную камеру испарителя. Это предотвращает испарение пробы в игле шприца и, следовательно, ее фракционирование. Кроме того, можно точнее, чем при классическом вводе пробы с делением потока, измерить объем введенной пробы. В результате количественное определение методом абсолютной калибровки становится более точным. Внутренний объем камеры испарения и его термическая масса малы, а, следовательно, нагрев и охлаждение происходят быстро. Необходимо следить за тем, чтобы камера испарения не переполнялась парами пробы.

Рекомендуется ввод проб небольшого объема при сравнительно высоком Коэффициенте деления потока. Если растворитель начинает испаряться до начала нагрева испарителя, можно вводить большие пробы. Это достигается подбором низкокипящих растворителей, высоких коэффициентов деления потока и/или вводом пробы при температуре, близкой к точке кипения растворителя. С другой стороны, испарение низкокипящих компонентов происходит довольно медленно. Чтобы избежать размывания зоны, часто необходимо проводить термическое фокусирование путем программирования температуры термостата.

Ввод пробы с удалением растворителя

Для удаления растворителя вводят пробу в холодный узел ввода при открытом вентиле линии деления потока. Подбирают такие условия, чтобы испарился только растворитель. Пары растворителя удаляются через линию сброса. По завершении удаления растворителя оставляют линию деления потока открытой (удаление растворителя в режиме деления потока) или закрывают ее (удаление растворителя в режиме без деления потока). Чаще используется второй метод. При нагревании устройства ввода анализируемые вещества переходят в колонку. Однако при этом невозможно избежать потерь летучих компонентов пробы. Таким образом, описанная методика применима только для анализа высококипящих компонентов. Пробы большого объема можно вводить медленно. Улавливание веществ средней летучести можно улучшить, заполняя вкладыш адсорбентом, например тенаксом, активированным углем, хромосорбом и т.д. Достигается прекрасное удерживание, но температуры десорбции высоки (300 - 350° С). Кроме того, возможно разложение полярных соединений [64].

Удаление растворителя проводят также при многократном вводе пробы [63]. На рис. 3-43 приведена хроматограмма, полученная при восьмикратном введении 1 мкл пробы углеводородов C₁₃ — C₂₀ в гексане (концентрация компонентов 10⁻⁴ %). После ввода пробы проводили удаление растворителя. В этих условиях вместе с растворителем удалялась часть углеводородов

C₁₃ – C₁₆. Содержание компонентов C₁₇ — C₃₀ оставалось неизменным.

Холодный ввод пробы без деления потока

Как и в традиционном варианте ввода пробы без деления потока, линия сброса во время ввода пробы закрыта. Однако, в отличие от традиционного варианта, во избежание дискриминации компонентов пробы в игле шприца камера испарителя не нагревается.

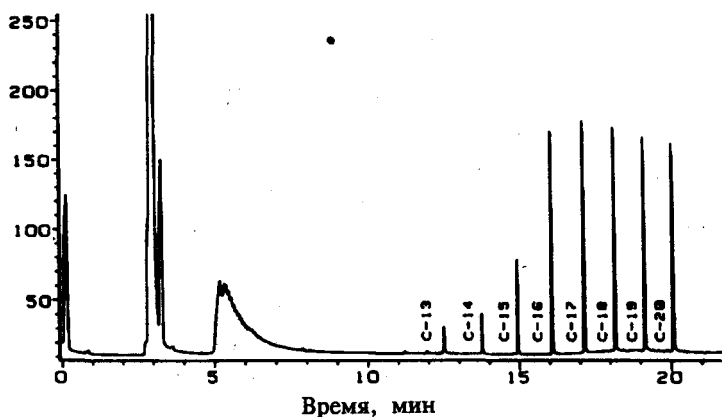


Рис. 3—43. Пример многократного ввода пробы (из работы [63] с разрешения издательства Dr. A. Huethig Publishers). Многократный ввод пробы позволяет концентрировать компоненты пробы выше С₁ без каких-либо искажений. Условия эксперимента: кварцевая капиллярная колонка длиной 25 м (Ultra 2); давление газа-носителя (He) 7 кПа; температурный режим термостата 40°C (0,5 мин), подъем температуры от 40 до 250°C со скоростью 50 град/мин, затем до 330°C со скоростью 15 град/мин, 330°C (15 мин); количество вводов пробы до нагрева камеры испарения 8, нагрев испарителя после 8-го ввода; программирование температуры испарителя от 10 до 330°C со скоростью 13 град/мин; продолжительность удаления растворителя 30 с, пламенно-ионизационный детектор (300°C); коэффициент деления потока X:30 (30 с), затем резким без деления потока.

Затем испаритель нагревают, и проба переходит в колонку, температура которой существенно ниже температуры кипения растворителя. При этом реализуется эффект растворителя и происходит реконцентрирование определяемых веществ. По истечении 30-90 с открывают вентиль на линии сброса и удаляют пары, оставшиеся в стеклянном вкладыше. Из-за небольшого объема стеклянного вкладыша обычно вводят пробы, объем которых не превышает 1 мкл; иначе камера испарения может переполниться. На рис. 3-44 приведены хроматограммы каменноугольного дегтя [65], полученные путем холодного ввода пробы без деления (а) и с делением потока (d). Если необходимо вводить пробы большого объема, рекомендуется подбирать такие условия, чтобы испарение растворителя начиналось до нагрева испарителя. Этого можно достичь при использовании либо низкокипящих растворителей, либо повышенной начальной температуры узла ввода.

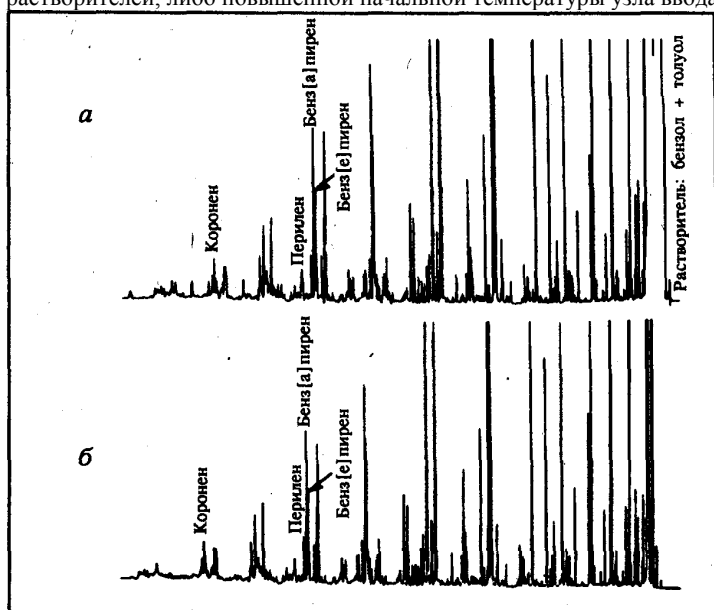


Рис. 3-44. Анализ каменноугольной смолы, осуществляемый при вводе пробы с программированием температуры испарителя в режиме без деления (а) и с делением (б) потока (из работы [66] с разрешения издательства Elsevier).

а — холодный ввод пробы без деления поток». Анализ веществ с очень низкой летучестью — полициклических ароматических углеводородов в бензоле (раствор содержит низкие концентрации определяемых веществ). Объем пробы 0,4 мкл; кварцевая капиллярная колонка длиной 20 м, НФ метилполисилоксан, OV-1. Температура колонки: 25°C (1 мин), резкий подъем до 80°C, затем программирование температуры до 320°C со скоростью 8 град/мин; температура узла ввода: резкий подъем с 35 до 280°C. Газ-носитель водород (4 кПа); продолжительность анализа 35 мин;

b — холодный ввод пробы с делением потока. Анализ веществ с очень низкой летучестью — полициклических ароматических углеводородов в толуоле (раствор содержит более высокие концентрации анализируемых веществ, чем в анализе, описанном выше). Объем пробы 0,2 мкл; кварцевая капиллярная колонка длиной 20 м, НФ метилполисилоксан OV-1. Температура колонки: резкий нагрев от 25 до 80°C, затем программирование температуры до 320°C со скоростью 8 град/мин; температура узла ввода: резкий подъем от 25 до 280°C. Газ-носитель водород (0,4 бар); продолжительность анализа 35 мин.

Шомбург и сотр. [65, 66] провели сравнение результатов количественного определения при использовании ввода пробы без деления потока с программированием испарителя и холодного ввода непосредственно в колонку (табл. 3-3). Определяли относительные нормализованные площади пиков C_{10} — C_{32} . В данном конкретном случае для ввода пробы без деления потока при программировании температуры испарителя получены прекрасные результаты. С другой стороны, было показано [67], что рассматриваемый метод неприменим при проведении имитированной дистилляции (определение парафинов до C_{120}).

Анализ нестойких соединений при вводе пробы с программированием температуры испарителя может сталкиваться с проблемами. В работе [62] сообщалось о разложении триметилсилильных эфиров жирных кислот при холодном вводе пробы без деления потока.

При холодном вводе пробы непосредственно в колонку, а также при холодном вводе с делением потока разложения эфиров не наблюдалось. При холодном вводе пробы без деления потока анализируемые вещества довольно долго находятся во вкладыше, в результате чего за счет термического напряжения или активности -стекловаты происходит разложение. В некоторых случаях даже применение инертной, хорошо дезактивированной стекловаты не является достаточным. Для решения этой проблемы предложено использовать полые вкладыши с переменным поперечным сечением [68] (рис. 3-45).

В заключение отметим, что ввод пробы с программированием температуры испарителя является перспективным. К настоящему времени уже получены прекрасные результаты, однако необходимы дополнительные исследования, чтобы определить границы применимости метода. Основное достоинство метода состоит в возможности программирования температуры узла ввода. Испарители, в которых осуществляется стремительный непрограммируемый подъем температуры, не обладают такими возможностями, как устройства с линейным подъемом температуры с программируемой скоростью в широком интервале.



Рис. 3—45. Стеклоанный вкладыш с деформированными стенками (с разрешения Gerstel GmbH).

Таблица 3—3. Оценка количественного определения при холодном вводе пробы непосредственно в колонку (А) и холодном вводе пробы с делением потока в программировании температуры испарителя (Б). Определение относительных (нормализованных) площадей пиков алканов C_{10} — C_{32} (из работы [17] с разрешения издательства Elsevier, Амстердам)

| Углеводород | А (n = 7) | | Б (n = 7) | |
|--------------|--|------|--|------|
| | Площадь пика | W, % | Площадь пика | S, % |
| C_{10} | 8,18 | 0,38 | 8,26 | 0,46 |
| C_{12} | 8,26 | 0,34 | 8,37 | 0,31 |
| C_{14} | 8,21 | 0,44 | 8,27 | 0,30 |
| C_{16} | 8,29 | 0,55 | 8,23 | 0,41 |
| C_{18} | 8,44 | 0,66 | 8,26 | 0,48 |
| C_{20} | 8,53 | 0,88 | 8,22 | 0,30 |
| C_{22} | 8,31 | 0,29 | 8,52 | 0,47 |
| C_{24} | 8,24 | 0,52 | 8,39 | 0,45 |
| C_{26} | 8,26 | 0,55 | 8,62 | 0,69 |
| C_{28} | 8,42 | 0,72 | 8,39 | 0,58 |
| C_{30} | 8,42 | 0,69 | 8,29 | 0,33 |
| C_{32} | 8,42 | 0,71 | 8,16 | 0,46 |
| Проба | 0,2 мкл C_{10} — C_{32} в гептане; 0,002% каждого компонента | | 0,4 мкл C_{10} — C_{32} в гептане; 0,02% каждого компонента | |
| Колонка | длина 24 м, НФ OV-101 | | длина 24 м, НФ OV-101 | |
| Температура | 50°C (2 мин), затем подъем температуры до 300°C (15 град/мин) | | 50°C (1 мин), затем подъем температуры до 300°C (15 град/мин), температура испарителя 35 - 300°C | |
| Газ-носитель | Н ₂ (4,5 кПа) | | He (5,8 кПа) | |

Литература

1. Pretorius V., Bertsch W. 1983. HRC & CC, 6, 64.
2. Jenkins R., Jennings W. 1983. HRC & CC, 6, 228.
3. Sandra P. 1985. Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography, Vol 1. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
4. Grab K. 1986. Classical Split and Splitless Injection in Capillary GC Heidelberg: Dr. A. Huethig.
5. Grab K. 1987. On-Column Injection in Capillary GC. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
6. Sandra P., in preparation. Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography, Vol 2. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
7. Desty R., Goldup A., Whyman H. 1959. J. Inst. Petroleum, 45, 287.
8. Smith D., Bente P. III, Freeman R., Cusack J. Hewlett-Packard Technical Paper No. 74.
9. Schomburg G; Husmann H., Weeke F. 1975. J. Chromatogr., 112, 205.
10. Kugler E., Halang W., Schlenkermann R., Weibel H., Langlais E. 1977. Chromatographia, 10, 438.
11. Neu H. 1987. Proc 8th Int. Symp. Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italy, pp. 142. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
12. Phillips R., Wolfstrommer R., Freeman R. Hewlett-Packard Application Note AN 228-16.
13. Grab K., Jr., Neukom H. 1979. HRC & CC, 2, 15.

14. Grab K., Jr., Neukom H. 1980. HRC & CC, 3, 627.
15. Grab K., Grob G. 1979. HRC *fc* CC, 2, 109.
16. Schomburg G., Hausig V., Husmann H., Behlau H. 1984. Chromatographia, 19, 29.
17. Snyder W. D. Hewlett-Packard Technical Paper No. 108.
18. Schomburg G., Hausig V. 1985. HRC & CC, 8; 572.
19. Proot M., Sandra P. 1986. HRC *fc* CC, 9, 619.
20. Proot M., David F., Sandra P., Verzele M. 1985. HRC & CC, 8, 426.
21. Grob K. Grob G. 1969. J. Chromatogr. Sci., 7, 584.
22. Grob K. Grab G. 1969. J. Chromatogr. Sci., 7, 587.
23. Grob K. Jr. 1981. J. Chromatogr., 213, 13.
24. Grob K. Jr. 1985. J. Chromatogr., 324, 252.
25. Grob K. Jr. 1981. J. Chromatogr., 213, 3.
26. Grob K. Jr. 1982. J. Chromatogr., 237, 15.
27. Sandra P., Pedant G., Denoulet B. Submitted il988. HRC & CC. In press.
28. Rooney T. A. Hewlett-Packard Application Note AN 228-5. ,
29. Grob K., Jr. 1982. J. Chromatogr., 261, 235.
30. Grob K., Grab K., Jr. 1978. J. Chromatogr., 151, 311. ,
31. Grob K. 1978. HRC & CC, 1, 263. .
32. Schomburg G; Behlau H; Dielmann R., Weeke F., Husmann H. 1977. J. Chromatogr., 142, 87.
33. Galli M., Trestiam S., Grob K; Jr. 1979. HRC & CC, 2, 366.
34. Galli M., Trestiam S. 1981. J. Chromatogr., 203, 193.
35. Hinshaw J. V., Yang F. J. 1983. HRC *fc* CC, 6, 554.
36. Freeman R. R., Augenblick K. B., Phillips R. J. Hewlett-Packard Technical Paper 88.
37. Knauss K., Fulleman J., Turner M. P. Hewlett-Packard Technical Paper 94.
38. Geeraert E; Sandra P., de Schepper D. 1983. J. Chromatogr., 279, 287.
39. Geeraert E., de Schepper D., Sandra P. 1983. HRC & CC, 6, 386.
40. Van den Berg P. M. J., Cox T. 1972. Chromatographia, 5, 301.
41. Jennings W. J. & W Catalogue.
42. Termonie M., Munari F., Sandra P. 1987. HRC & CC, 10, 263.
43. Dawes E. SGE Catalogue.
44. Badingi H. T., de Jong C. 1983. J. Chromatogr., 279, 493,
45. Kollbffer H., Toney C., Butler J. Hewlett-Packard Technical Paper 110.
46. Grob K., Jr., Walder C., Schilling B. 1986. HRC *fc* CC, 9, 95.
47. Grob K., Jr., StoU J. M. 1986. HRC *fc* CC, 9, 518.
48. Sandra P. f van Roelenbotch M; Verzele M., Bicchi C. 1983. J. Chromatogr., W9, 279.
49. Grob K., Jr. 1981. J. Chromatogr., 213, 3.
50. Geeraert E., Sandra P. 1987. JAOCS, Vol. 64. 1, 100.
51. Sandra P. 1985. The Science of Chromatography. J. Chromatogr., Library Vol. 32, p. 381.
52. Verzele M; Redant G., Qureshi S; Sandra P. 1980. J. Chromatogr., 199,105.
53. Zlatkis A., Kaufman H. R. 1959. Nature, 184, 4010.
54. In Restek, Halfmil Capillary Columns, Catalogue.
55. Ternner K., McNair H., Sandra P., David F. 1988. 9th Int. Symp. Cap. Chromatography, Monterey, p. 176. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
56. Vogt W., Jacob K., Obwexer H. W. 1979. J. Chromatogr., 174, 437.
57. Vogt W., Jacob K., Ohneeorge A. B., Obwexer H. W. 1979. J. Chromatogr., 186, 197.
58. Schomburg G. 1981. 4th Int. Symp. Cap. Chromatography, Hindelang, W. Germany, p. 921. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
59. Pay F., Visani S., Terror F. 1981. J. Chromatogr., 217, 81.
60. Schomburg G. 1985. Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography: Vol. 1, p. 55 и цитируемые работы. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
61. Pay F., Cobelli L. 1985. Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography, Vol. 1, p. 77 и цитируемые работы. Heidelberg; Dr. A. Huethig.
62. Saravatte C., Munari F., Trestianu S. 1985. Proc. 6th Int. Symp. Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italy, p. 227. Heidelberg:
63. Dr. A. Huethig. См. также: 1987. HRC *fc* CC, 10, 288.
64. Lendero L., Gerttel E., Gerstel J. 1987. Proc., 8th Int. Symp. Capillary Chromatography, Riva del Garda, Italy, p. 342. Heidelberg: Dr. A. Huethig.
65. Sandra P. Неопубликованные результаты.
66. Schomburg G., Hwmann H., Behlau H., Schuiz F. 1983. J. Chromatogr. 279, 251.
67. Schomburg G., Husmann H., Schuiz F. 1983. J. Chromatogr., 279, 259.
68. Saravalle C., Munari F., Trestianu S. 1987. HRC *fc* CC, 10, 288.
69. Gerstel E. Cooled Injection Systems, Gerstel GmbH Catalogue.

Хроматографическое оборудование

I. Термостат хроматографа

К. Хайвер

Достоверность величин удерживания в хроматографии зависит от того, насколько воспроизводима работа всей хроматографической системы. Влияние характеристик прибора на воспроизводимость времени удерживания определяется суммой дисперсий за счет отдельных систем прибора: устройства ввода пробы (σ_1), системы управления (σ_2) и устройства вывода данных (σ_3):

$$\sigma_{\text{IR}}^2 = \sigma_1^2 + \sigma_2^2 + \sigma_3^2$$

Использование автоматических систем ввода жидкой пробы в хроматограф позволяет существенно снизить дисперсию величин удерживания на стадии ввода пробы. Отклонение величин удерживания, обусловленное несовершенством электроники системы программирования температуры термостата, чрезвычайно мало (мерее 0,005 мин) и практически постоянно. Таким образом, роль этого фактора пренебрежимо мала. Незначительна также и дисперсия величины удерживания за счет устройства вывода данных (электрометра, детектора, интегратора и т. д.). Таким образом, основным источником погрешности при определении времени удерживания является система управления. Наибольшее влияние на воспроизводимость хроматографических данных оказывают пневматическая часть системы управления и регулятор температуры термостата. Неудачная конструкция пневматического регулятора может привести к изменению линейной скорости потока через колонку. Наиболее устойчивая линейная скорость потока через колонку достигается при использовании регулятора с электронной обратной связью.

Регулирование температуры термостата

Температурные градиенты и случайные флуктуации приводят к дисперсии коэффициента емкости колонки k , что в свою очередь влияет на воспроизводимость величин хроматографического удерживания. В капиллярной газовой хроматографии при распознавании образцов или качественном анализе по времени или индексу удерживания регулирование температуры является самым уязвимым местом с точки зрения получения надежных данных. В работе [1] изучено влияние колебаний температуры на характеристики удерживания в газовой хроматографии.

Ниже приведены основные факторы, которые следует учитывать как при эксплуатации капиллярного хроматографа, так и в ходе разработки надежного термостата [2].

- **Правильность** установления температуры, т. е. соответствие истинной температуры в термостате и устанавливаемой исследователем.
- **Пределы изменения рабочих температур.** В последнее время расширены пределы изменения рабочих температур в капиллярной газовой хроматографии. В современных термостатах можно поддерживать минимальную температуру, близкую к комнатной, причем отпала необходимость в проведении криогенного охлаждения. Максимальная рабочая температура превышает 450°C.
- **Скорость подъема температуры.** Большое значение имеет возможность точно осуществлять подъем температуры в системе, особенно при максимальных скоростях программирования температуры. Обычно при программировании температуры наблюдается небольшое запаздывание в начале и опережение в конце программы. Система регулирования температуры должна обеспечивать сведение к минимуму этих эффектов. Характерная кривая подъема температуры в термостате представлена на рис. 4-1. "Наихудшая" максимальная скорость подъема температуры задается наклоном кривой на участке, соответствующем максимальным температурам. Перечислим параметры, которые влияют на максимальную скорость подъема температуры: термическая масса системы, мощность нагревателя, термическая "герметичность" системы (хорошая термоизоляция), теплоперенос от нагретых зон (таких, как узел ввода пробы и детектор), характеристики колонок и приспособлений, установленных в термостате.
- **Скорость охлаждения термостата** — время, которое требуется для охлаждения термостата до исходной температуры и ее стабилизации. Скорость охлаждения термостата влияет на его производительность. Чем быстрее устанавливается исходная температура после программируемого нагрева, тем выше производительность термостата, т. е. число выполненных анализов.

Надежность данных о временах удерживания также зависит от того времени, которое необходимо для достижения равновесного состояния в термостате. На рис. 4-2 показано, как может возникнуть ошибка при определении времени удерживания, если после готовности прибора к проведению анализа (сигнал "READY") ввод пробы осуществляется с задержкой.

Изотермические градиенты — это разность максимальной и минимальной температуры термостата при термическом равновесии в условиях постоянства температуры. Величины изотермического градиента характеризует качество термостата.

Градиенты температур в неустановившихся условиях — температурные градиенты, возникающие при подъеме температуры или охлаждении термостата. Эти градиенты выше изотермических, и, если они не воспроизводятся, это может оказать существенное воздействие на программирование температуры.

- **Термический шум** — периодические колебания температуры вокруг устойчивой средней температуры. Погрешности во временах удерживания могут зависеть от амплитуды и частоты термического шума.
- **Изменение окружающей температуры** — отношение отклонения окружающей температуры к изменению температуры термостата. Эта величина характеризует влияние изменения внешних температурных условий на электронную систему регулирования температуры. В работе [3] описано влияние изменения окружающей температуры на температуру термостата газового хроматографа. При проведении параллельных опытов для получения воспроизводимых величин удерживания изменение окружающей температуры должно быть как можно выше.

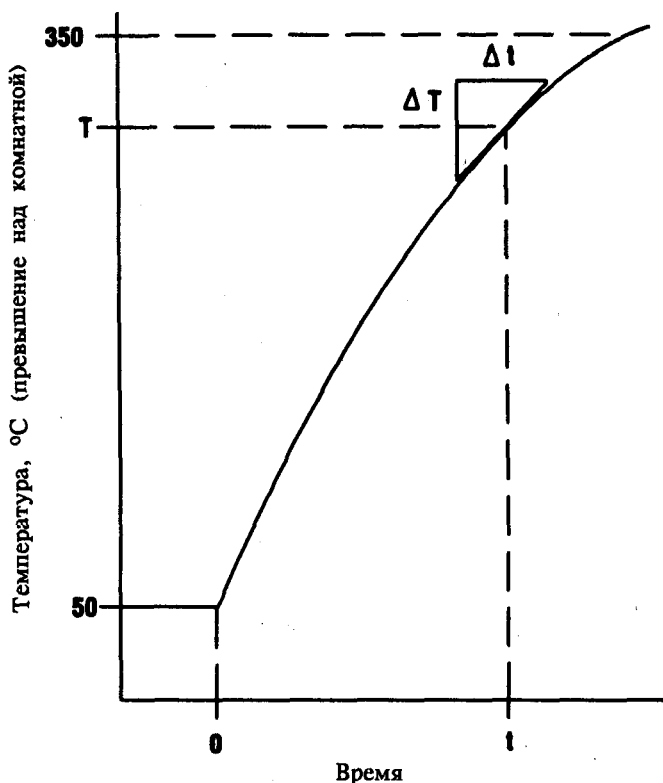


Рис. 4—1. Типичная кривая подъема температуры термостата.

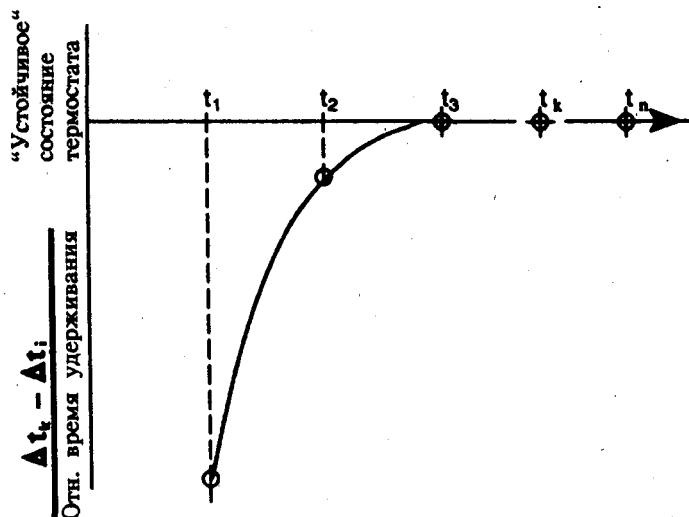


Рис. 4—2. Ошибка в определении времени удерживания при задержке ввода пробы после достижения термостатом температуры начала анализа (сигнал "READY").

Таблица 4—1. Воспроизводимость времен удерживания некоторых компонентов стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот при анализе с использованием различных газовых хроматографов

| Соединение | Газовый хроматограф N 1 | | Газовый хроматограф N 2 | | Газовый хроматограф N 3 | |
|--|-------------------------|-------|-------------------------|-------|-------------------------|-------|
| | Время удерживания | Sr, % | Время удерживания | Sr, % | Время удерживания | Sr, % |
| C ₉ H ₁₈ O ₂ | 1,563 | 0,30 | 1,600 | 3,38 | 2,033 | 0,64 |
| C ₁₀ H ₁₈ O ₂ (2-OH) | 4,478 | 0,09 | 4,400 | 1,11 | 4,244 | 0,35 |
| C ₁₅ H ₃₀ O ₂ | 8,928 | 0,02 | 8,72 | 0,42 | 8,720 | 0,15 |
| C ₁₉ H ₃₈ O ₂ | 14,102 | 0,04 | 15,12 | 0,14 | 15,620 | 0,09 |

Для достижения воспроизводимого разрешения и удерживания при анализе сложных проб методом высокоэффективной газовой

хроматографии необходима высокая стабильность температуры в термостате [4, 5]. В табл. 4-1 приведены данные о воспроизводимости времен удерживания стандартной смеси метиловых эфиров жирных кислот. При проведении анализа использовали три различных выпускаемых промышленностью термостата. Поскольку эта смесь используется в качестве стандарта для идентификации микроорганизмов путем распознавания образцов, наблюдаемые расхождения во временах удерживания и низкую воспроизводимость при использовании газовых хроматографов 2 и 3 следует считать недопустимыми.

Термическая стабильность термостата газового хроматографа зависит от конструкции прибора. Гарантией качества данных в высокоэффективной газовой хроматографии является хорошая воспроизводимость получаемых данных, во многом определяемая конструкцией термостата. В работе Бенте с сотр [6, 7] рассмотрены вопросы оптимизации работы выпускаемого промышленностью оборудования.

II. Детекторы

М. Уилсон

Высокоэффективные полые капиллярные колонки можно успешно использовать в сочетании с любым детектором, применяемым в газовой хроматографии. В брошюре "Detectors fom Gas Chromatograpy—a Practical Primer", изданной фирмой Hewlett-Packard, описаны различные детекторы и теоретические принципы их работы (см. дополнительную литературу к данной главе). Помимо детекторов, перечисленных в табл. 4-2, в сочетании с капиллярными колонками могут использоваться масс-спектрометр и ИК-спектрометр с фурье-преобразованием. Эти детекторы рассмотрены в гл. 5. Для того чтобы сохранить преимущества высокого разрешения и инертности, характерные для капиллярных колонок, необходимо обратить особое внимание на соединение колонки и детектора и по возможности оптимизировать его.

Тип и объемная скорость газа-носителя могут быть оптимальными для данного детектора, но не оптимальными для капиллярной колонки. При подсоединении капиллярной колонки к детектору важно учитывать следующие факторы:

- тип и объемную скорость вспомогательного газа;
- положение конца колонки относительно детектора;
- мертвые объемы и активные центры.

Для каждого типа детекторов характерны свои оптимальные условия эксплуатации, которые будут рассмотрены ниже. Здесь мы сделаем лишь несколько общих замечаний. Существуют два способа соединения колонки и детектора. Колонку можно вставлять непосредственно в детектор или использовать специальное вторичное устройство, установленное в корпусе детектора (рис. 4-3). При правильной реализации оба метода подсоединения колонки позволяют получать отличные результаты. Использование вторичного соединительного устройства чрезвычайно удобно при необходимости перехода от одного детектора к другому. Это обеспечивает широкую свободу выбора детектора при проведении анализа, причем требуется только регулировать расход вспомогательного газа. При прямом соединении колонки и детектора вспомогательный газ подается в нижнюю часть детектора или смешивается с газом, подаваемым в детектор для его функционирования, например с водородом в пламенно-ионизационном детекторе (ПИД). В этом случае каждый детектор имеет свою систему пневматического регулирования расхода вспомогательного газа.

Таблица 4—2. Характеристики детекторов, используемых в капиллярной газовой хроматографии

| Детектор | Типичные определяемые соединения | Диапазон чувствительности | Объемная скорость, мл/мин | | |
|-----------------------------------|--|---|-------------------------------|---------|---------|
| | | | газ-носитель + вспомогат. газ | водород | воздух |
| пид | Углеводороды | 10-100 пг 10^{-6} - 99% | 20-60 | 30-40 | 200-500 |
| ДТП | Соединения различных классов | 5-100 нг 10^{-3} - 100% | 15-30 | | |
| эзд | Галогенсодержащие органические соединения, хлорсодержащие растворители и пестициды | 0,05-1 пг $5 \cdot 10^{-9}$ - 10^{-4} % | 30-60 | | |
| Азотно-фосфорный | Азот и фосфорсодержащие органические соединения | 0,1-10 пг 10^{-8} - 0,1% | 20-40 | 1-5 | 70-100 |
| Пламенно-фотометрический (393 нм) | Серусодержащие соединения | 10-100 пг 10^{-6} - 10^{-2} % | 20-40 | 50-70 | 60-80 |
| Пламенно-фотометрический (526 нм) | Фосфорсодержащие соединения | 1-10 пг 10^{-7} - 0,1% | 20-40 | 120-170 | 100-150 |

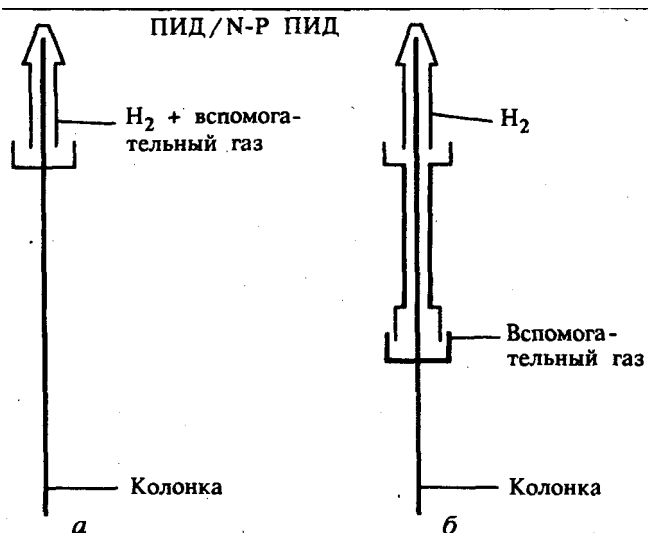


Рис. 4-3. Подсоединение колонки к детектору с использованием двух различных методов подвода вспомогательного газа на выходе из колонки: *a* — непосредственное подсоединение; *b* — соединение с помощью вторичного соединительного устройства. Отметим, что в обоих случаях колонка располагается в верхней части сопла. Вспомогательный газ поднимается вверх и способствует уменьшению мертвого объема соединительного устройства.

Кварцевые капиллярные колонки обладают высокой гибкостью и могут быть выпрямлены [8]. Поэтому для их подсоединения к детектору, в отличие от стеклянных колонок, не требуется выпрямлять концы колонок. При этом конец колонки может быть максимально приближен к зоне детектирования. На рис. 4-4 приведены хроматограммы, демонстрирующие преимущество максимально близкого — в пределах нескольких миллиметров — подведения колонки к пламени ПИД. Такое соединение позволяет выполнить всю систему из стекла, что предотвращает загрязнение хроматографической системы, ухудшающее качество ее функционирования.

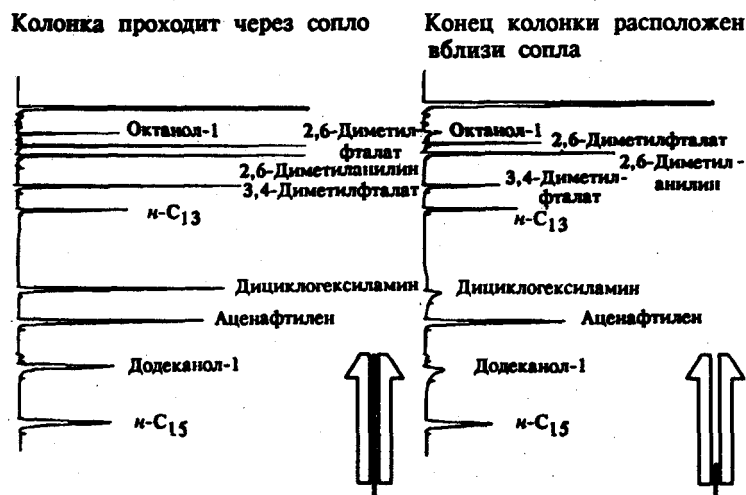


Рис. 4-4. Влияние расположения колонки относительно детектора на качество хроматографических данных. Кварцевая капиллярная колонка, НФ SP-2100 (карбовакс 20 М, дезактивированный), 20 м x 0,2 мм.

Совместное использование вспомогательного газа и газа-носителя позволяет оптимизировать чувствительность детектора в соответствии с разрешением. В табл. 4-2 представлены диапазоны изменения объемных скоростей вспомогательного газа и газа-носителя для различных газохроматографических детекторов. Правильное расположение конца колонки относительно детектора и установление оптимальной объемной скорости вспомогательного газа обеспечивают уменьшение мертвого объема при подсоединении колонки, а также устраняют действие активных центров.

Типы детекторов в капиллярной газовой хроматографии

Пламенно-ионизационный детектор

Для достижения максимальной чувствительности пламенно-ионизационного детектора важен правильный выбор вспомогательного газа. Как следует из данных рис. 4-5, при использовании ПИД в качестве вспомогательного газа лучше использовать азот, а не гелий. Применение гелия приводит к снижению чувствительности детектора на 22%. Однако чувствительность детектора зависит не только от объемной скорости (рис. 4-6). На рис. 4-7 приведены хроматограммы, иллюстрирующие зависимость чувствительности детектора от объемной скорости суммарного газового потока.

Как указывалось ранее, для проведения оптимального разделения в капиллярной газовой хроматографии важно положение конца колонки относительно детектора. В ПИД, разработанных недавно специально для капиллярных колонок, конец колонки расположен на 1-2 мм ниже пламени детектора (рис. 4-8). Если конец колонки попадает в пламя детектора, происходит разложение по-лимидного покрытия колонки, что приводит к искажению сигнала и появлению дополнительных шумов. Если конец колонки расположен слишком низко, то увеличивается мертвый объем системы и инициируются активные центры (см. рис.

4-4).

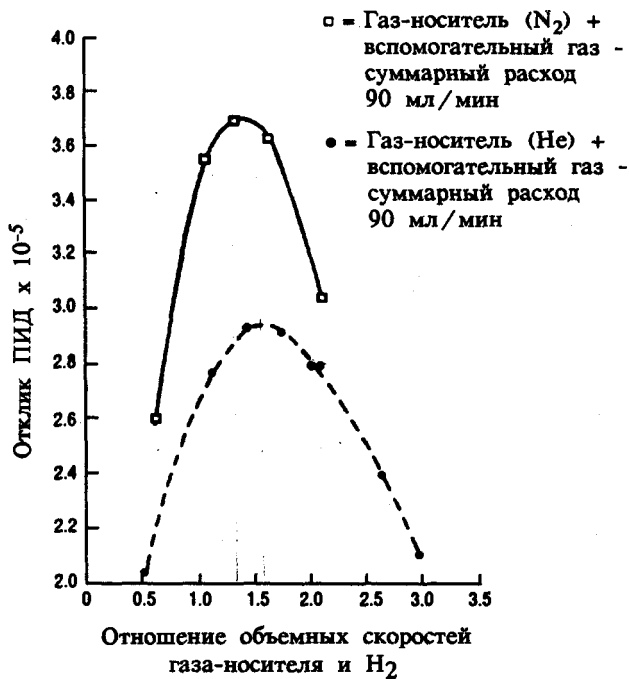


Рис. 4-5. Зависимость сигнала детектора от отношения объемных скоростей газа-носителя и водорода.

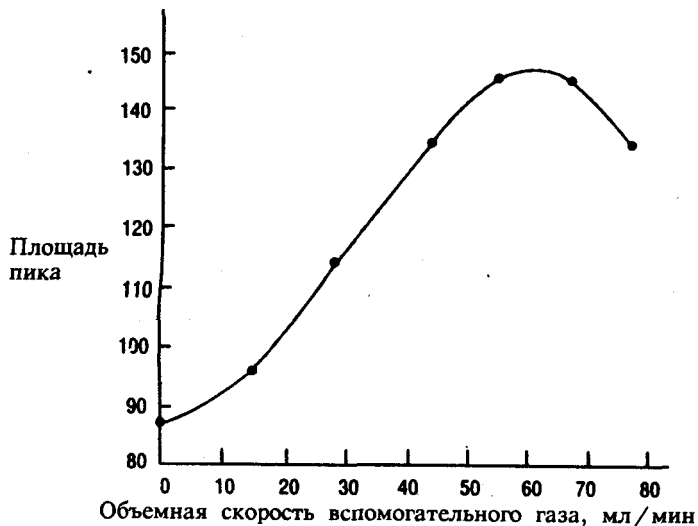


Рис. 4—6. Зависимость чувствительности ПИД по площади пика от объемной скорости вспомогательного газа. Эта кривая получена при объемной скорости водорода 40 мл/мин. Для данного детектора максимальная чувствительность наблюдается при отношении объемных скоростей водорода и вспомогательного газа, равном ~ 0,67. При объемной скорости водорода 30 мл/мин максимальный расход вспомогательного газа составляет 30 мл/мин.

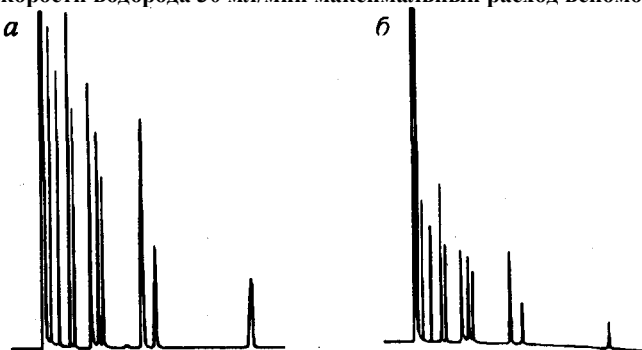


Рис. 4-7. Зависимость чувствительности детектора от общей скорости газа-носителя: а — в присутствии вспомогательного газа He (48 мл/мин); б — без вспомогательного газа.

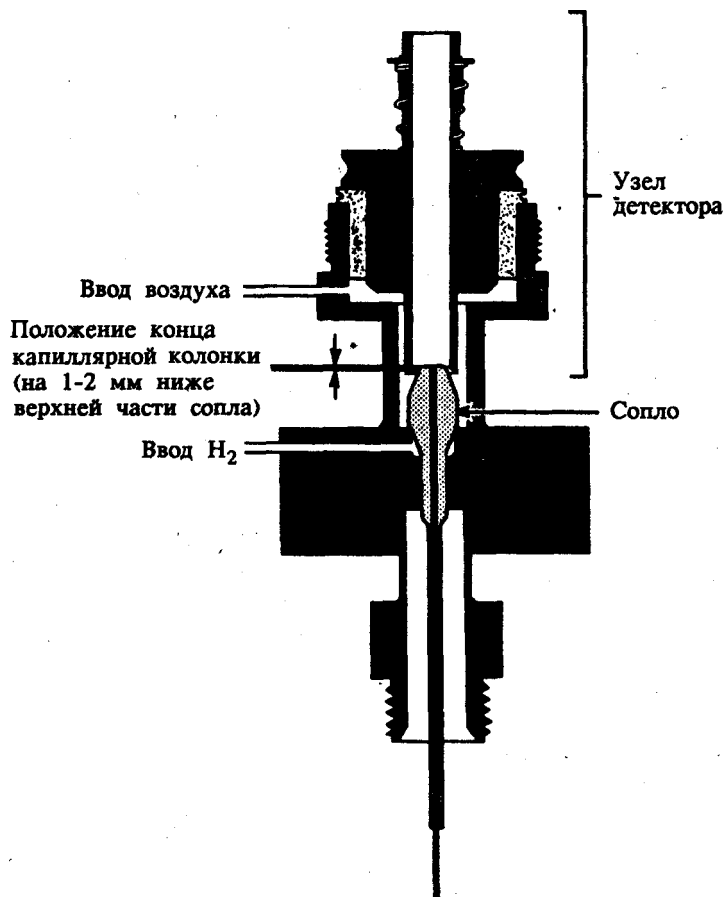


Рис. 4-8. Схема ПИД для капиллярной газовой хроматографии.

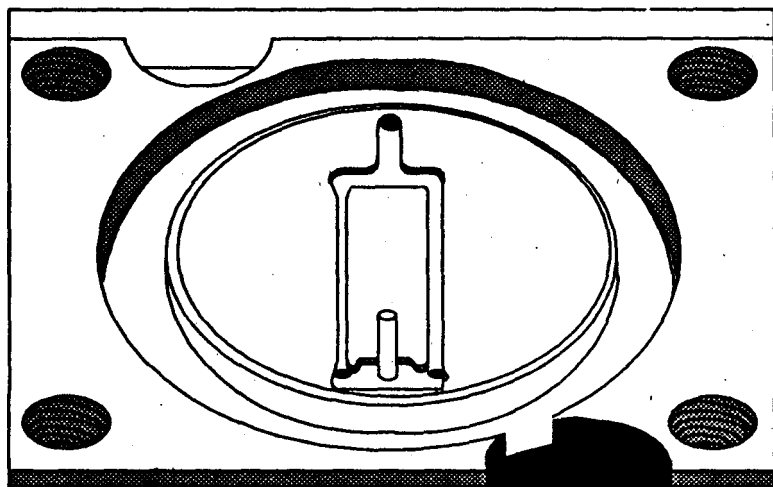


Рис. 4-9. Схема микродетектора по теплопроводности с установленной в нем кварцевой капиллярной колонкой диаметром 0,53 мм.

Детектор по теплопроводности

Детектор по теплопроводности (ДТП) регистрирует концентрацию, поэтому его чувствительность определяется объемом ячейки и объемной скоростью газа-носителя. ДТП с импульсной модуляцией и одной нитью накала [9] характеризуется лучшими эксплуатационными характеристиками, чем используемые ранее в капиллярной хроматографии детекторы этого типа. Схема такого детектора приведена на рис. 4-9. Предложенная конструкция позволяет помещать конец капиллярной колонки на расстоянии 2 мм от нити детектора. Эффективный объем ячейки детектора составляет всего 3,5 мкл, однако рекомендуется все же использовать вспомогательный газ. При суммарной объемной скорости газа-носителя и вспомогательного газа порядка 5 мл/мин достигаются прекрасные результаты. Такая объемная скорость газа обеспечивает быстрый обдув внешней поверхности колонки и предотвращает размывание пика в области соединения детектора с колонкой.

В качестве газа-носителя и вспомогательного газа в ДТП рекомендуется использовать гелий. Применение водорода может привести к восстановлению оксидного покрытия нити накала, в результате чего изменится сигнал детектора. Сравнительное изучение кривых газохроматографической системы с ПИД и с микродетектором по теплопроводности (рис. 4-10) показало, что достигаемые эффективности практически идентичны. Хроматограммы, приведенные на рис. 4-11 и 4-12, дают ясное представление об инертности и динамическом диапазоне ДТП с импульсной модуляцией и одной нитью накала.

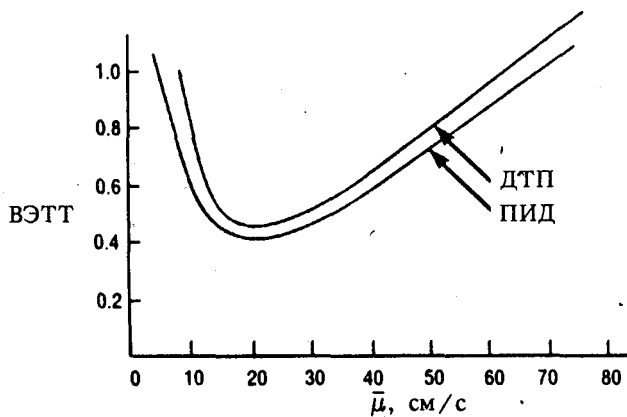


Рис. 4—10. Кривые Ван-Деेमтера, полученные при использовании кварцевой капиллярной колонки (12 м x 0,2 мм) в сочетании с ПИД или ДТП. Проба — 1 мкл 1%-ного раствора м-додекана в гексане ($k=6,8$); коэффициент деления потока 140:1; объемные скорости газов через ДТП: вспомогательный газ — 4 мл/мин, дополнительный газ — 18 мл/мин.

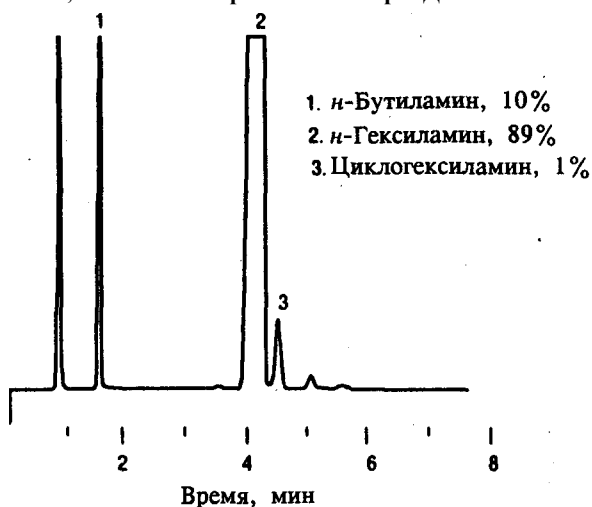


Рис. 4-11. Разделение аминов с помощью ДТП. Условия эксперимента: объем пробы 1 мкл; коэффициент деления потока 20:1; колонка 10 м x 0,53 мм, НФ метилсиликон; скорость газа-носителя (He) 21 см/с; температура 80°C.

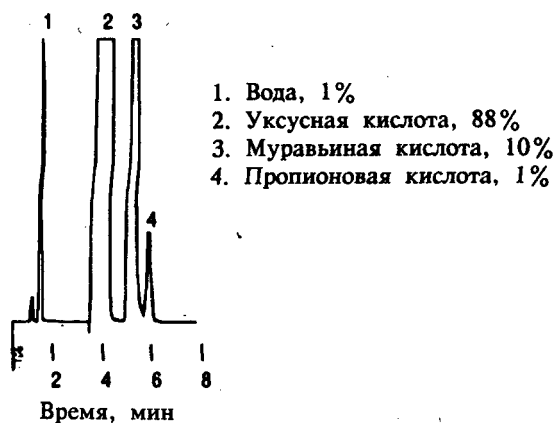


Рис. 4-12. Разделение летучих кислот с помощью ДТП. Условия эксперимента: объем пробы 1 мкл; коэффициент деления потока 20:1; колонка 10 м x 0,53 мм, НФ карбовакс 20 М; скорость газа-носителя (He) 22 см/с; температура 120°C.

Электронзахватный детектор

Для обеспечения равновесной концентрации термических электронов в электронзахватном детекторе (ЭЗД) необходимо использовать дополнительный газ, например азот или смесь аргона с метаном. Этот газ можно также использовать в качестве газа на обдув. Электронзахватный детектор является концентрационным, поэтому его чувствительность обратно пропорциональна расходу. Может показаться, что предпочтительно использовать низкие скорости вспомогательного газа. Однако объем ячейки детектора должен быть достаточно велик для того, чтобы в нем поместился источник частиц, и, следовательно, объем проходящего газа должен быть достаточно велик для эффективной продувки ячейки. При одной и той же объемной скорости нельзя достичь оптимальной чувствительности детектора и минимальной ширины зоны анализируемого вещества. Таким образом, в каждом конкретном случае следует подбирать объемную скорость вспомогательного газа, учитывая требования решаемой задачи.

Обычно при использовании в качестве газа-носителя гелия или водорода объемная скорость вспомогательного газа —

азота или смеси аргона с метаном (5%) — составляет 20-70 мл/мин. На рис. 4-13 приведена зависимость сигнала детектора от объемной скорости дополнительного вспомогательного газа. Следует обратить внимание на динамический диапазон ЭЗД при определении следовых количеств галогенсодержащих органических соединений, а также на стабильность сигнала детектора при превышении этого концентрационного диапазона. Схема ЭЗД, применяемого в высокоэффективной газовой хроматографии, представлена на рис.4-14.

Азотно-фосфорный детектор

Наилучшие характеристики азотно-фосфорного детектора (АФД) достигаются при использовании гелия как вспомогательного газа. Скорость потока водорода через детектор должна быть низкой (2-5 мл/мин), а вспомогательного газа — гелия — порядка 20-30 мл/мин. На рис. 4-15 показано правильное положение конца колонки у сопла детектора. Если кварцевая колонка расположена выше сопла, то разложение полиимидного покрытия колонки может создать помехи при ионизации. Это приведет к появлению шумов, дополнительных пиков, смещению базовой линии или всем этим эффектам одновременно.

Пламенно-фотометрический детектор

Положение конца колонки в пламенно-фотометрическом детекторе (ПФД) особенно важно, поскольку большинство серу- или фосфорсодержащих соединений чрезвычайно активны. Для сохранения инертности кварцевой капиллярной колонки поток, выходящий из нее, должен попадать в основание пламени. Это достигается в разработанной недавно конструкции ПФД (рис. 4-16). Так же как и в случае ПИД и АФД, попадание конца колонки в пламя приводит к появлению шумов или дополнительных пиков. Точное регулирование объемной скорости газового потока через детектор по существу устраняет гашение сигнала детектора. Хроматограмма на рис. 4-17 иллюстрирует высокую селективность ПФД при определении серусодержащих компонентов лигроиновой фракции нефти. Не наблюдается помех со стороны углеводородной фракции.

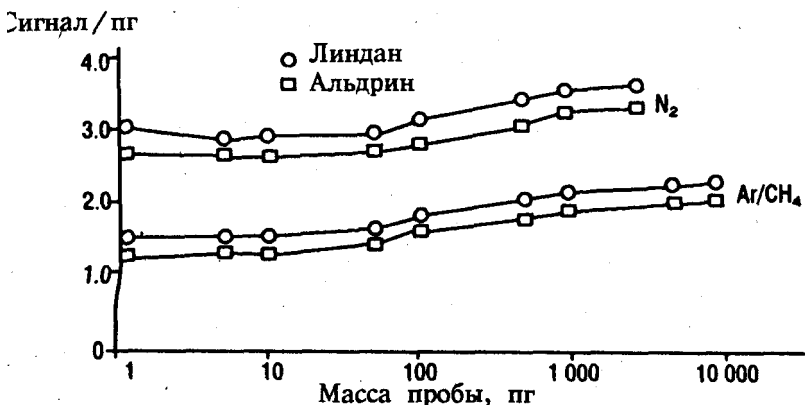


Рис. 4—13. Зависимость сигнала ЭЗД от типа используемого дополнительного газа.

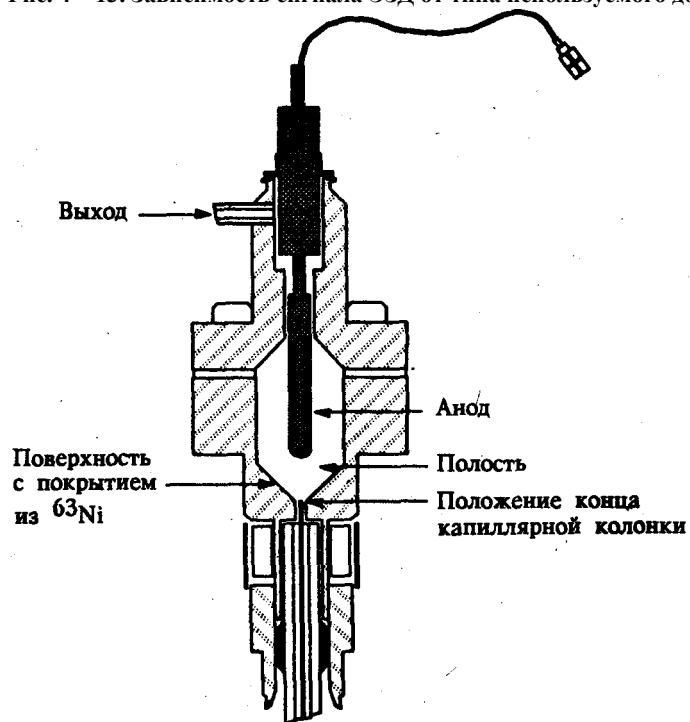


Рис. 4—14. Схема конструкции ЭЗД, на которой указано, как производится соединение с капиллярной колонкой.

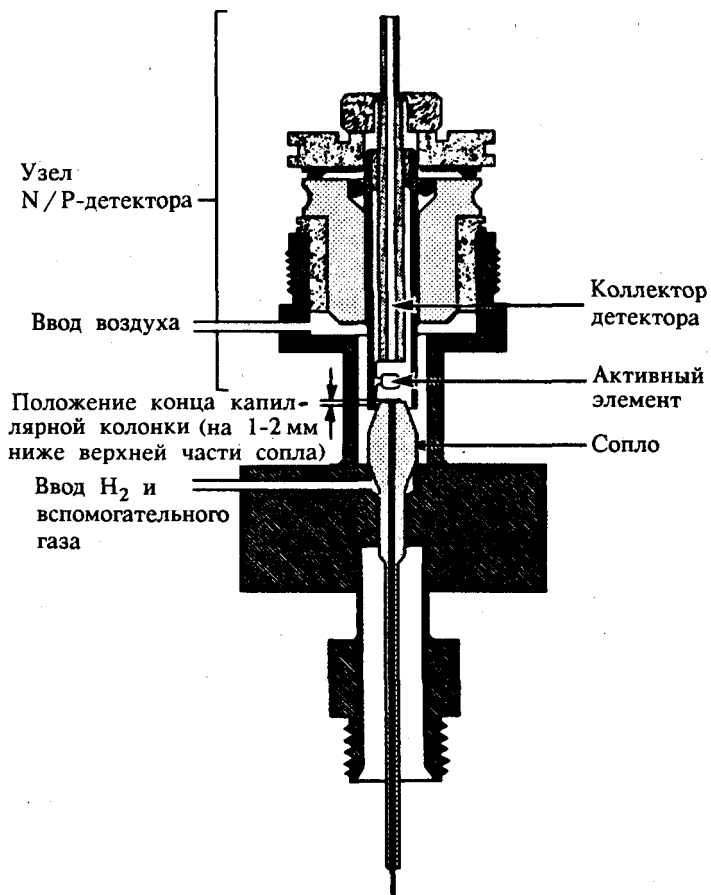


Рис. 4-15. Схема АФД, предназначенного для эксплуатации в капиллярной газовой хроматографии.

Чувствительность детектора

Одной из основных причин неослабевающего интереса к капиллярной газовой хроматографии является высокая чувствительность этого метода. Ниже перечислены основные факторы, способствующие достижению высокой чувствительности в газовой хроматографии с полыми капиллярными колонками.

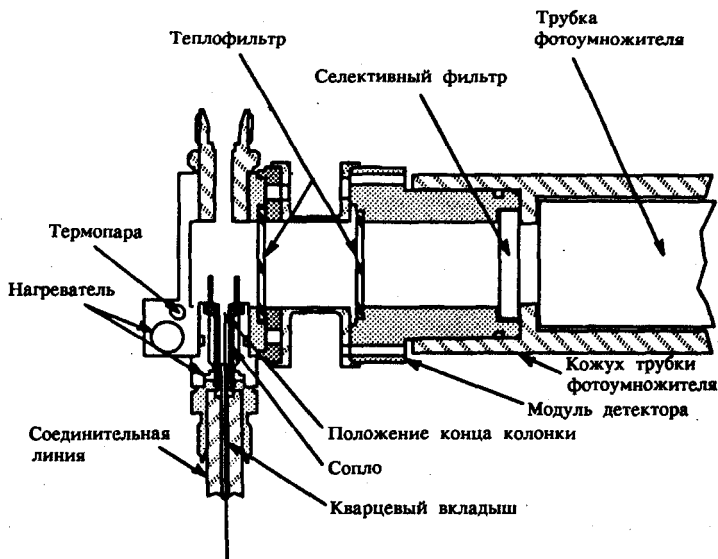


Рис. 4—16. Схема ПФД, предназначенного для использования в капиллярной газовой хроматографии.

- Капиллярные колонки обладают большей эффективностью, чем насадочные, поэтому для первых концентрация вещества в единицу времени выше.
- Капиллярные колонки, особенно кварцевые, значительно более инертны, чем насадочные.
- Чувствительность детектора можно оптимизировать при помощи вспомогательного газа.

Рассмотрим, почему так важно выбрать "правильный" вспомогательный газ и его "правильную" объемную скорость.

1. Оптимальная чувствительность детектора достигается при определенной объемной скорости газа. Существует оптимальное соотношение скоростей газа-носителя и вспомогательного газа, обеспечивающее максимальную чувствительность детектора.
2. Оптимальная чувствительность детектора достигается путем подбора наиболее эффективного для данного типа детектора вспомогательного газа. Например, сигнал ПИД будет наилучшим при использовании в качестве вспомогательного газа азота.

3. Использование вспомогательного газа позволяет оптимизировать сигнал детектора независимо от типа и объемной скорости газа-носителя. Это важно, поскольку дает возможность одновременно использовать водород в качестве газа-носителя и азот в качестве вспомогательного газа. При этом одним ударом убивают двух зайцев: водород в качестве газа-носителя обеспечивает наилучшее разделение, а азот — в качестве вспомогательного газа — самую высокую чувствительность.

Применение вспомогательного газа позволяет независимо оптимизировать хроматографический процесс и сигнал детектора, причем сигнал детектора нечувствителен к изменению объемной скорости газа-носителя. Следовательно, изменение вязкости газа-носителя при варьировании температуры колонки не будет влиять на чувствительность детектора. Обратная картина наблюдается при использовании детектора без вспомогательного газа. В таких детекторах необходимо более строгое регулирование потока, а не давления. В противном случае при варьировании температуры наблюдается изменение сигнала детектора.

¹ Под временной дискретой понимается отрезок времени между последовательными дискретными замерами непрерывного сигнала детектора хроматографа. — *Прим. перев.*

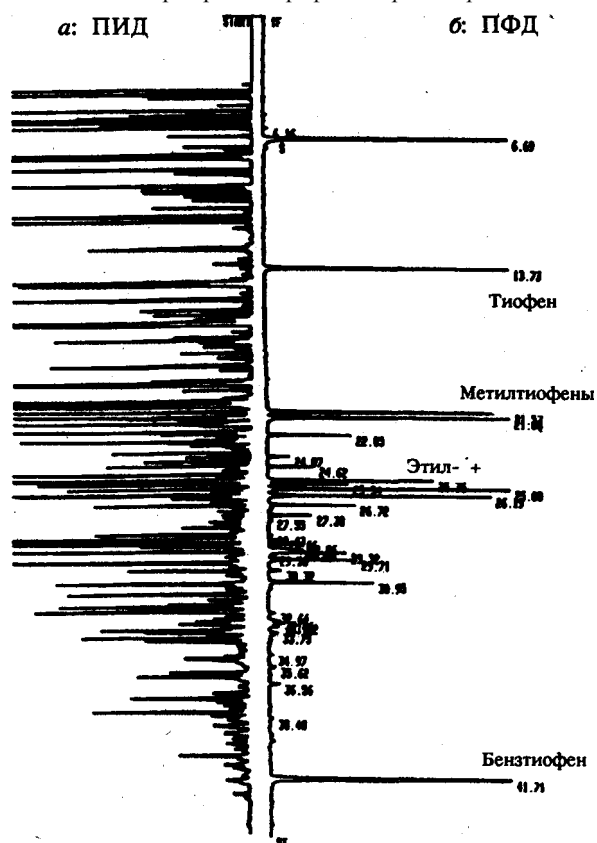


Рис. 4-17. Определение серусодержащих соединений в сложной углеводородной смеси лигроина (из Hewlett Packard Application Brief, November 1986, Publication №: 43-5954-7615).

Литература

1. Goedert M., Guiochon G. 1973. Anal. Chem., 45, 1180-1187.
2. Welsh P. August 1988. HP Technical Paper No. GC-68. Publication No. 43-5952-5769.
3. Rowland F. 1982. Amer. Lab., 14, 110-114.
4. Bente B. May 1979. HP Application Note No. 228-14. Publication No. 43-5953-1441.
5. Green L. E., Matt E. September 1982. HP Technical Paper No. 100. Publication No. 43-5953-1656.
6. Bente H. B., Buffington W. I., Brown R. A., Rhodes R. P., Przybylski T. M. 1984. Amer. Lab., 16, 60-67.
7. Bente B., Welsh P., Kaufman A., Brown R. 1984. Amer. Lab., 16, 50-54.
8. Dandeneau R., Bente P., Rooney T., Hiskes R. 1979. Amer. Lab., 11 (9), 61-69.
9. Messaroe D. W., Law C. E., Kolloff R. H., Gearhart R. C., Freeman R. R. April 1984. 20th International Symposium, Advances in Chromatography, New York.
10. Ff'ror R. L. January 1988. HP Application Note No. 228-60. Publication No. 43-5954-9198.
11. Huber H. L.; de Jong J., Spaans Han, Schipluiden D. April 1982. HP Application Note No. 228-24. Publication No. 12-5953-0071.
12. Smith E. B. January 1988. HP Application Note No. 228-59. Publication No. 43-5954-9195.
13. Smith E. B. March 1988. HP Application Note No. 228-61. Publication No. 43-5954-9208.
14. Ff'ror R. L. January 1988. HP Application Note No. 228-60. Publication No. 43-5954-9198.
15. Rooney T. 1986. Spectra Physics Chromatography Review, 13 (2), 2-7.

Дополнительная литература

1. Buffington R., Wilson M. 1987. Detectors for Gas Chromatography — A Practical Primer. Hewlett-Packard.
2. Borman S. A. 1985. Anal. Chem., 87, 1256A-1271A.

Многомерная газовая хроматография и гибридные методы

У. Дейл Снайдер

Введение

В многомерной газовой хроматографии (МГХ) для проведения разделения, которое невозможно осуществить с помощью одной колонки, используют две или несколько соединенных колонок. Благодаря достижениям в области приборостроения и изготовления колонок МГХ стала широко применяться для проведения сложных анализов. В списке дополнительной литературы представлены работы, позволяющие получить исчерпывающую информацию об этом методе и его применении:

Последнее десятилетие ознаменовывалось широким внедрением в лабораторную практику капиллярных колонок. Исследователи, использующие эти колонки, обнаружили; что анализируемые ими пробы оказываются более сложными по составу, чем предполагалось. Это потребовало -улучшения разрешающей способности колонок. Однако вскоре перед исследователями возникла еще одна проблема: применение длинных высокоэффективных колонок приводило к увеличению продолжительности анализа; кроме того, эти колонки имеют высокую стоимость, недостаточную емкость и не гарантируют заранее требуемого разрешения. Единственным выходом из этого положения стало использование более избирательных колонок, обладающих при этом большей емкостью. Применение МГХ позволяет оптимизировать избирательность *системы* и емкость колонок за счет соединения колонок различных типов. При этом за минимальное время удается достичь максимального разделения компонентов пробы, содержащихся в ней в различных количествах.

Простейшая система для двумерной ГХ функционирует следующим образом. Пробу вводят в предколонку, где происходит первое разделение. Поток, выходящий из колонки, обычно направляется в первый детектор для контроля, а часть его или несколько частей, называемые основной фракцией, могут быть направлены в аналитическую колонку, где происходит второе разделение. Выходящий из этой колонки поток поступает в аналитический детектор. Переключение потока из предколонки осуществляется с помощью механического вентиля пневматического переключателя. Такие переключатели потоков были предложены Д.Р. Динсом в 1968 г., и часто их называют переключателями Динса [1]. Проведение холодного улавливания на входе в аналитическую колонку позволяет концентрировать анализируемые фракции и затем повторно вводить их в аналитическую колонку. Иногда в системах для МГХ используется обратная продувка предколонки. В зависимости от проводимого разделения применяются различные детекторы.

Решение вопроса об использовании МГХ зависит от состава анализируемой пробы, типов детекторов, а также необходимости определения следовых (менее нанограммовых) количеств веществ. МГХ применяют для анализа сложных смесей (объектов окружающей среды, пищевых продуктов и приправ) или тех объектов, для разделения которых требуются колонки различной селективности и емкости (природный газ). Чаще всего в качестве детекторов для МГХ используются масс- и ИК-спектрометры, что позволяет проводить идентификацию соединений по атласу спектров. Для осуществления бесспорной идентификации необходимо хорошее разрешение пиков компонентов. Если необходимо идентифицировать микрокомпоненты, содержание которых ниже порога чувствительности детектора, МГХ дает возможность по результатам разделения в предколонке и аналитической колонке определять индексы удерживания.

Определение термина "многомерная хроматография"

В литературе есть некоторая неясность в определении того, что такое "многомерная хроматография". Часто к многомерной хроматографии относят гибридные методы, такие, как ГХ-МС, ГХ-ИК и т. д., даже если разделение проводится с использованием одной колонки. В этих методах используется многомерное детектирование, однако **их** не следует считать многомерными с точки зрения хроматографирования. Гибридные методы многомерны с точки зрения *информации*, получаемой о пробе, но, как правило, само разделение проводится на одной колонке, т. е. является одномерным.

В обзоре по МГХ [2] Бертч дал следующее определение метода: "Двумерная хроматография — это метод, в основе которого заложено один из перечисленных ниже принципов:

- При хроматографировании используются две колонки с различной избирательностью в сочетании с системой (интегрирование, МС-идентификация), позволяющей проводить идентификацию по индексам удерживания.
- При хроматографировании используются две колонки с различной селективностью и устройство (коллектор в препаративной хроматографии, вентиль и т. д.) для переноса части потока в другую колонку".

Ниже представлено более общее определение многомерной хроматографии:

Многомерная хроматография — это процесс, в котором проба проходит последовательно несколько стадий разделения, на каждой из которых

- происходит разделение всей пробы или ее части, поступившей с предыдущей стадии, и
- используемые колонки различаются по селективности и/или емкости.

В этом определении особо подчеркивается хроматографическая "многомерность". Например, если используются параллельно две колонки и детектирование проводится при помощи двух детекторов, то это два параллельных одномерных разделения, а не двумерное хроматографирование. Приведенное выше определение относится ко всем вариантам хроматографии — высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ), гель-проникающей (ГПХ), сверхкритической флюидной (СФХ), тонкослойной (ТСХ) и т. д. Сюда же относятся и многократные разделения, в которых изменяется только емкость колонок.

При определении МГХ необходимо провести четкую грань между разделением и детектированием. Хроматографирование — это процесс разделения, совершенно не зависящий от способа детектирования. Одни исследователи подразумевают под гибридными методами многократное детектирование (МС-МС, ИК-МС и т. д.), другие включают в них методы разделения (ГХ-МС, ЖХ-ИК и т. д.). Неясно также, как определить такие комбинированные методы, как, например, ЖХ-ГХ, ТСХ-ЖХ и т. д. В любом случае важно прояснить смысл термина "многомерный". Так, например, двумерная газовая хроматография с использованием ИК-МС-детектирования будет обозначаться как ГХ-ГХ-ИК-МС. По-видимому, этот подход к определению многомерного метода наилучшим образом прояснит ситуацию.

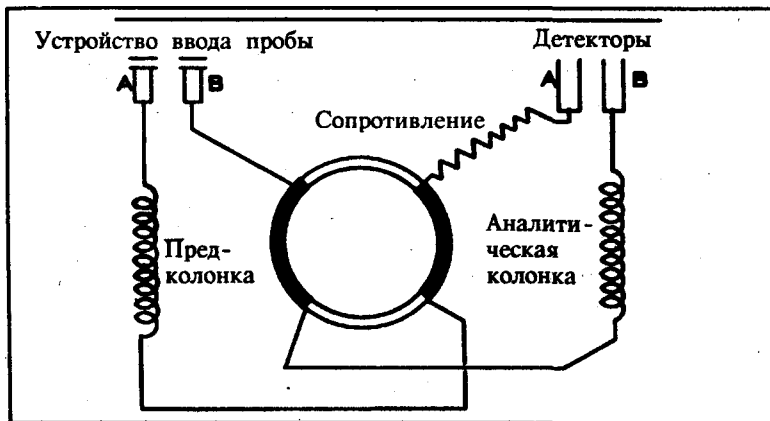


Рис. 5-1. Схематическое изображение направления потоков через четырехходовой кран фирмы Valco. При одном положении крана поток 1 проходит через устройство ввода А, предколонку, кран и затем через сопротивление в детектор А, а поток 2 — через устройство ввода В, кран, аналитическую колонку и детектор В. В другом положении крана поток 1 проходит через устройство ввода А, предколонку, кран и детектор В, а поток 2 — через устройство ввода В, кран и затем через сопротивление в детектор А. (С разрешения из работы В. М. Gordon, С. E. Rix, М. F. Borgerging, 3. Chromatogr. Sd., 23 (1985), 1-10.)

Принцип действия системы для многомерной хроматографии (на примере двумерной хроматографии)

Простейшим случаем многомерной хроматографии является двумерная (рис. 5-1). Проба вводится в капиллярную или насадочную предколонку, где происходит Первое разделение. Определенные порции пробы переносятся в аналитическую (обычно капиллярную) колонку, где происходит второе разделение. Колонки могут быть расположены как в одном, так и в разных термостагах. Для переключения колонок (отсечения нужной части пробы) используются механические (см. рис. 5-1) или пневматические переключатели Динса. Филлипс и др. [3] продемонстрировали преимущества производимой фирмой Hewlett-Packard пневматической системы переключения (установлена в приборе HP 5880A), а также примеры возможного использования двумерной ГХ. Иногда в системах с пневматическими переключателями используется обратная продувка предколонки (рис. 5-2). Преимущества этой простой системы становятся очевидными, если учесть возможности предколонок. Ниже перечислены основные варианты использования последних.

- 1) В качестве предколонки используется высокоэффективная колонка (эффективность превышает 100 000 теор. тарелок). При этом осуществляется разделение сложной смеси на узкие фракции, которые разделяются затем на аналитической колонке.
- 2) Использование колонок большой емкости (более 1 мкг) для отделения растворителя, основных компонентов или дериватирующих агентов от представляющих интерес соединений или микрокомпонентов. Применение таких колонок предотвращает перегрузку аналитических колонок и детектора и предохраняет их от действия вредных реагентов.
- 3) Применение в качестве предколонки препаративной колонки для отделения нежелательных веществ. При этом в аналитическую колонку попадают только представляющие интерес соединения.
- 4) В предколонке осуществляется химическое улавливание соединений определенных классов или дериватизация соединений до того, как они попадают в аналитическую колонку.
- 5) Предколонка может использоваться для концентрирования из разбавленных растворов при многократном вводе пробы [4] или однократном вводе пробы большого объема [5].
- 6) Предколонка может представлять собой колонку без неподвижной фазы с непосредственным вводом пробы в нее. В этом случае предколонка выступает в качестве испарителя с программированием температуры.

Рекомендации по использованию многомерной хроматографии

Без всякого сомнения, многомерная хроматография является замечательным средством совершенствования используемого метода. При подборе колонки для проведения анализа можно одновременно испытывать две колонки и с минимальными затратами времени и усилий определить, достаточно ли одной и какой именно. В конце предыдущего раздела перечислены возможные варианты использования предколонок. Однако этим не исчерпываются возможности двумерной хроматографии. Сформулированы более общие правила, определяющие целесообразность использования этого метода.

Необходимость двумерной хроматографии при проведении того или иного анализа определяется составом пробы, способом детектирования и концентрациями компонентов пробы. Метод многомерной хроматографии рекомендуется применять при анализе

- сложных смесей (нефтепродуктов, продуктов питания и пищевых добавок, объектов окружающей среды);
- смесей, которые не удается полностью разделить на одной колонке (природного и нефтезаводского газов).

Каковы критерии, позволяющие назвать смесь "сложной"? По определению Шомбурга [7], к сложным смесям относятся пробы, которые "могут содержать компоненты

- в широком диапазоне концентраций,
- в широком диапазоне полярностей,
- в широком диапазоне летучестей,
- с различной термической или каталитической стабильностью,
- выходящие на хроматограмме в виде многочисленных перекрывающихся ПИКОВ
- и относящиеся к одной и той же группе изомеров.

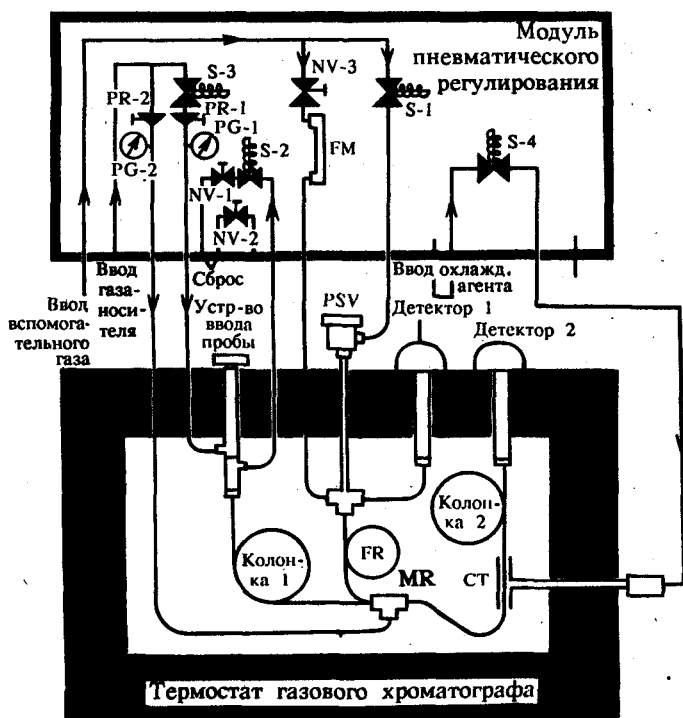


Рис. 5—2. Схема системы пневматического переключения колонок, разработанная фирмой Scientific Glass Engineering (с разрешения фирмы Scientific Glass Engineering).

Соленоидные вентили: S-1 регулирует пневматический запорный вентиль; S-2 регулирует работу делителя потока и устройства обратной продувки; S-3 регулирует подачу газа-носителя в предколонку; S-4 регулирует подачу CO₂ или жидкости в охлаждаемую азотом ловушку. Регуляторы давления: PR-1 устанавливает давление газа-носителя на входе в предколонку, PR-2 устанавливает среднее давление газа-носителя. Манометры: PG-1 — давление в предколонке; PG-2 — среднее давление. Стационарное сопротивление FR — для переноса потока от сопротивления к детектору. Периферийные устройства: FM — ротаметр; MR — сопротивление; CT — холодный улавливание; PSV — регулируемый пневматически запорный вентиль с малым мертвым объемом. Вентили тонкой регулировки: NV-1 регулирует деление потока в устройстве ввода; NV-2 регулирует деление потока при переходе от насадочной к капиллярной колонке; NV-3 регулирует объемную скорость вспомогательного газа.

Не существует простой хроматографической процедуры, позволяющей провести успешный анализ такой смеси.

При многомерной хроматографии удобно применять детекторы, предусматривающие библиотечный поиск (МС- или ИК-спектрометры) или элементный анализ (атомно-эмиссионный детектор). Для надежной идентификации детектор должен давать одиночные, хорошо разрешенные пики. Использование сложных алгоритмов хемометрики позволяет с помощью компьютерной обработки получать данные по неразрешенным пикам, однако этот подход имеет свои ограничения.

Во многих случаях при определении следовых (менее нанограммовых) количеств проба слишком мала для того, чтобы можно было получить достоверные МС- или ИК-спектры. Многомерная ГХ может применяться для получения индексов удерживания на предколонках и аналитических колонках различной полярности, что в ряде случаев является достаточным для идентификации. Практически в любой области, где применяется ГХ, найдутся такие пробы, которые следовало бы анализировать с помощью многомерной ГХ.

Последние достижения в области многомерной газовой хроматографии

Многомерная ГХ отнюдь не является новинкой. Впервые такая система была описана в 1962 г. [7] для определения следовых количеств примесей в винилхлориде. В настоящее время перед исследователями стоит задача разделения чрезвычайно сложных смесей соединений, содержащихся в следовых количествах. Успехи в области хроматографического приборостроения и технологии получения колонок за последние 10-15 лет создали предпосылки для решения этой сложнейшей задачи.

Ниже перечислены некоторые достижения, которые предопределили незаменимость многомерной ГХ для решения сложных задач.

- 1) Внедрение кварцевых капиллярных колонок, которые не только обладают высокой инертностью и эффективностью, но и просты в обращении. В 70-е гг. в большинстве систем для многомерной хроматографии использовались стеклянные колонки. Но они не обладают гибкостью, присущей кварцевым колонкам, и весьма хрупки. Этим объясняются неудобства их использования в системах многомерной ГХ.
- 2) Использование широких кварцевых капиллярных колонок диаметром 530 мкм. Они сочетают в себе высокую емкость насадочных колонок с инертностью, шероховатостью поверхности, простотой в эксплуатации, свойственными капиллярным колонкам. Насадочные стеклянные колонки имеют те же недостатки, что и стеклянные капиллярные колонки, и, кроме того, слишком активны для определения следовых концентраций.
- 3) Использование открытых капиллярных колонок с пористым слоем носителя (PLOT-колонки) и микронасадочных колонок. Для применения этих колонок существует ниша, не занятая традиционными капиллярными колонками WCOT, высокоэффективный анализ газов и уникальные возможности разделения изомеров.
- 4) Появление кранов малого объема и пневматических переключателей. Недавно промышленностью стали выпускаться узлы для переключения колонок, обладающие малым мертвым объемом. Эти системы были разработаны специально для соединения с кварцевыми капиллярными колонками.

Некоторые примеры использования многомерной ГХ

На рис. 5-3 приведена хроматограмма фракции нефти, полученная с использованием предколонки с полярной фазой. На рис. 5-4 приведена хроматограмма этой же смеси, полученная на установленной после предколонки аналитической колонке с неполярной фазой. Рис. 5-5 представляет собой хроматограммы семи отдельных фракций анализируемой смеси. Видно, что на хроматограмме, полученной после прохождения предколонки, наблюдаются неразрешенные пики. После того как смесь была проанализирована на аналитической колонке, многие перекрывающиеся пики удалось разделить, однако возникло перекрывание новых пиков. Поэтому имело смысл проанализировать отдельные фракции на аналитической колонке, а не использовать две последовательно соединенные колонки. Отметим, что, чем уже фракция, выходящая из предколонки, тем больше вероятность полного разрешения на аналитической колонке (ср. фракции 1 и 7 и фракции 4 и 5).

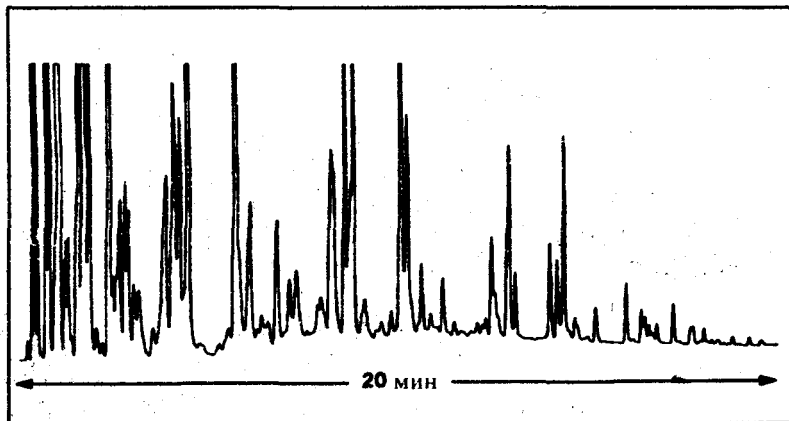


Рис. 5-3. Хроматограмма лигроиновой фракции нефти после прохождения через предколонку. Прибор: газовый хроматограф HP 5880A, пневматическая система переключения колонок фирмы SGE. Предколонка: 12м x 0,2 мм, df НФ (50% фенилметилсиликон) 0,33 мкм. Газ-носитель He (30 см/с). Температура узла ввода пробы 250°C, ПИД — 325°C. Объем пробы 0,2 мкл, коэффициент деления потока 200:1 (автоматический делитель потока с автосэмплером HP73A). Температура термостата: 35°C (5 мин), затем программирование ей скоростью подъема температуры 5 град/мин до 130°C (10 мин).

Некоторые недостатки простой двумерной системы очевидны. Для того чтобы достичь максимального разделения сложной смеси, необходимо анализировать узкие фракции, т. е. такие фракции, в которых пики не перекрываются. Например, проведя один анализ, можно осуществить разделение фракций 1, 3, 5 и 7. Для эффективного разделения сложной смеси требуется проведение многократных разделений. Нельзя априори решить, каким образом проводить разделение на фракции. При анализе очень сложных смесей полезно было бы до двумерной хроматографии провести предварительное фракционирование (с использованием ВЭЖХ, СФХ и ГПХ). Самым сложным случаем для анализа является наличие ограниченного количества сложной смеси и отсутствие разработанной методики анализа методом двумерной хроматографии. Может потребоваться использование неdestructивных детекторов с последующим улавливанием выходящего потока и повторным анализом. Определенные проблемы связаны также с системой обработки данных и представлением результатов. Желательно было бы иметь специальные графические программы, позволяющие объединить информацию, получаемую после предколонки, и результаты анализа после аналитической колонки, поскольку с увеличением количества фракций решение такой задачи становится сложнее.

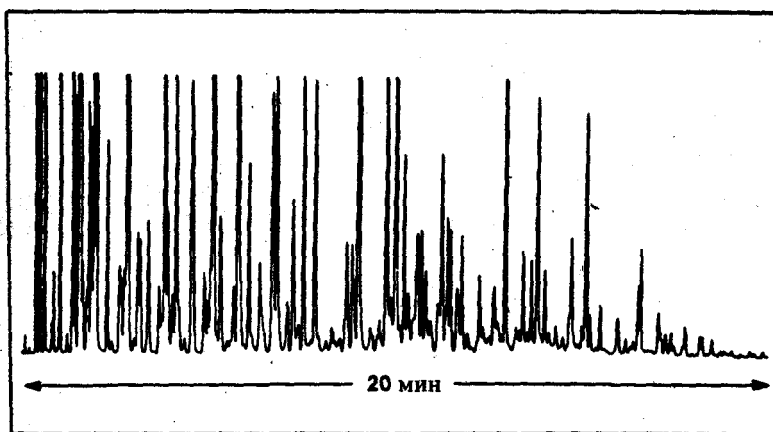


Рис. 5-4. Хроматограмма пробы лигроиновой фракции нефти после прохождения последовательно соединенных пред- и аналитической колонок. Аналитическая колонка: 12м x 0,2 мм, df НФ (мепилсиликон) 0,33 мкм. Условия эксперимента см. подпись к рис. 5.3.

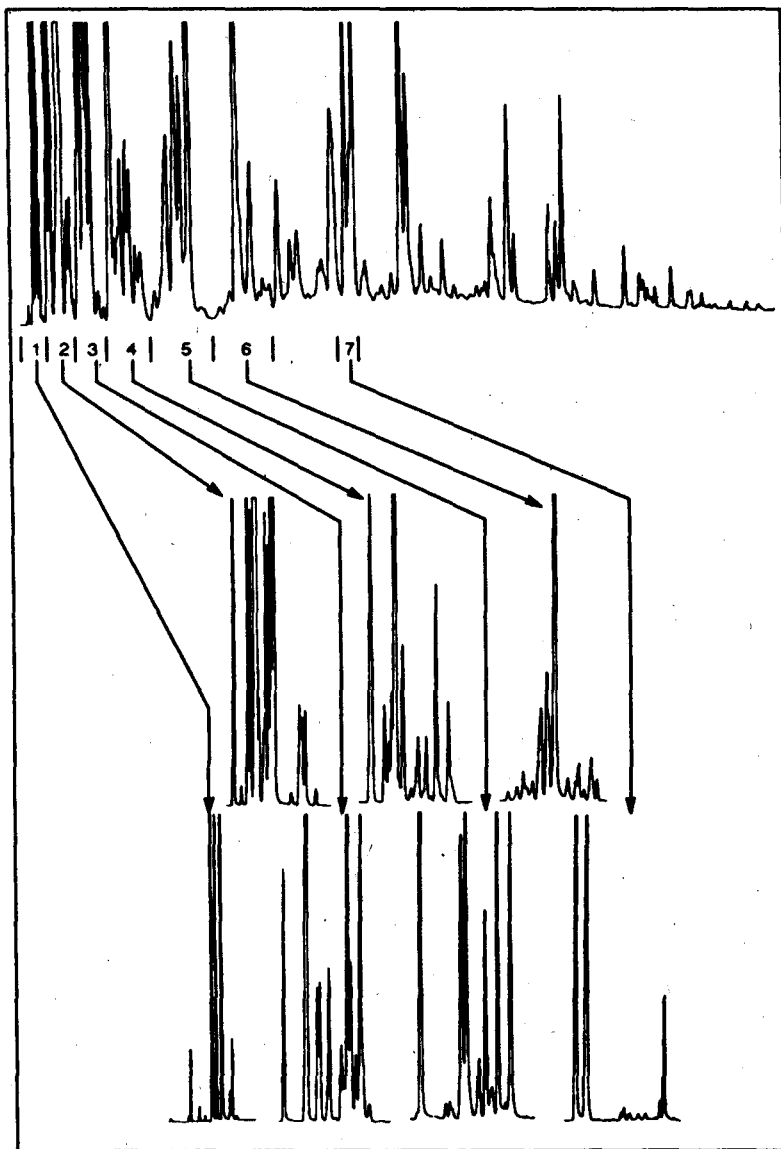


Рис. 5—5. Хроматограммы фракций, отобранных после предколонки и перенесенных без промежуточного холодного улавливания в аналитическую колонку. См. рис. 5-3 и 5-4.

Выводы

Многомерная хроматография — это простой в реализации способ анализа, позволяющий использовать наилучшим образом разделительную способность современного оборудования и колонок. Во многих случаях применение этого метода позволяет упростить процедуру подготовки пробы, сократить продолжительность анализа сложных смесей и повысить его надежность. В гл. 8 приведены некоторые примеры, демонстрирующие применение капиллярных колонок в многомерных разделениях.

И. Гибридные методы

Сочетание капиллярной газовой хроматографии и масс-спектрометрии

П. Гудли

Масс-спектрометры используются в качестве детекторов в газовой хроматографии уже более 30 лет. За это время повысилось качество масс-спектрометров и появилась возможность получать надежные и воспроизводимые аналитические данные. При этом стоимость выпускаемых серийно масс-спектрометров уменьшилась. Современная комбинированная система ГХ-МС (хромато-масс-спектрометрия, ХМС) позволяет проводить анализ сложной смеси из 25 компонентов в течение 30 мин. За короткое время химик-аналитик получает количественную и качественную информацию об анализируемой смеси. ХМС позволяет охарактеризовать полученный в результате анализа газохроматографический пик соответствующим масс-спектром. Затем этот пик может быть сопоставлен с масс-спектром из библиотеки спектров, хранящейся в базе данных [9, 10]. Система обработки данных позволяет сравнить стандартный спектр известного соединения с неизвестным спектром. В качестве дополнительной информации о структуре химик-аналитик получает данные о коэффициенте корреляции между библиотечным спектром и спектром анализируемого соединения. Возможности ХМС обусловлены сочетанием разделительной способности ГХ, идентификации анализируемых соединений по специфичным масс-спектрам и количественной оценки по площадям пиков. Кроме того, очевидна высокая эффективность метода с точки зрения стоимости оборудования.

Популярность масс-спектрометров как детекторов для ГХ в первую очередь вызвана тем, что использование гибридного метода позволяет получать большое количество специфической информации. По сравнению с другими детекторами масс-спектрометр более универсален, а получаемая с его помощью информация характеризуется большей специфичностью. В отличие от других детекторов, чувствительных лишь к определенным классам соединений (так, электрозахватный детектор чувствителен только к галогенсодержащим соединениям, а пламенно-ионизационный — к углеводородам), масс-спектрометр позволяет детектировать любые органические соединения [10-12]. Различие между масс-спектрометром и другими ГХ-детекторами состоит в том, что в последнем детектирование осуществляется в соответствии с массой, т. е. с тем физическим свойством, которое присуще всем органическим соединениям.

Масс-спектр состоит из отдельных полос, высота которых соответствует относительному содержанию определенных ионов анализируемого соединения как функции массы [13, 14]. Эти ионы несут информацию о молекулярной массе и наиболее электронно-стабильных фрагментах исходной молекулы. По таким специфическим фрагментам можно, основываясь на атомной структуре, охарактеризовать молекулу анализируемого соединения. На рис. 5-6 представлен масс-спектр ацетона, полученный при ионизации электронным ударом. В масс-спектре имеются полосы, соответствующие отношениям масса/заряд (m/z) 15 и 43. Эти ионные осколки представляют собой осколки исходной молекулы ацетона (m/z 58). Показано [14-16], что спектры, получаемые посредством электронного удара, воспроизводимы и специфичны для большинства органических соединений.

Помимо качественной информации об анализируемом соединении масс-спектрометрия дает возможность получать и количественную. Это достигается двумя путями. Во-первых, можно определить сумму всех сигналов ионного тока и получить зависимость ионного тока от времени. Во-вторых, можно выделить любой ионный ток для выбранного фрагмента и получить дополнительные зависимости. Эти зависимости называют соответственно общим ионным током и профилем тока выбранного иона. Полученные сигналы могут быть обработаны как ГХ-сигналы, имеющие определенные времена удерживания, факторы отклика и интегральные площади. На рис. 5-7 представлен профиль общего ионного тока для стандартной смеси лекарств (без дериватизации). Приведены также профили ионных токов шести выбранных характеристических ионов. Так же, как и в ГХ, можно количественно охарактеризовать анализируемое соединение с высокой степенью точности и воспроизводимости.

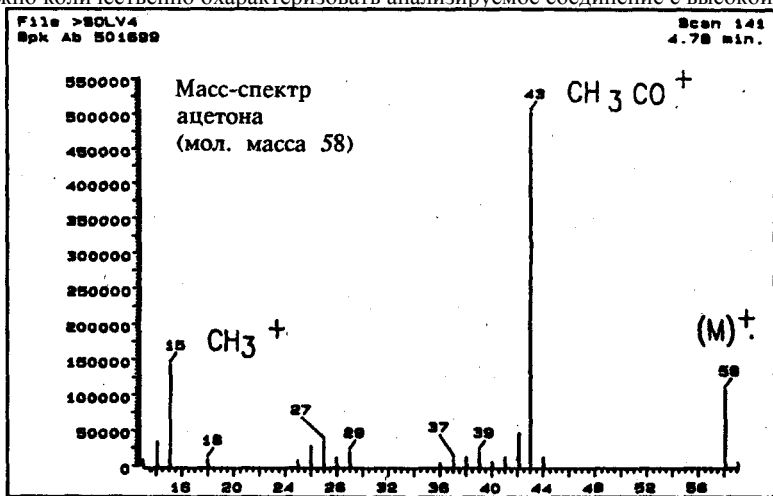


Рис. 5-6. Масс-спектр ацетона, -полученный путем ионизации электронным ударом, с пиком молекулярного иона (m/z 58), основным пиком (m/z 43) и пиком метильной группы (m/z 15).

Другим важным преимуществом МС является возможность получения количественной информации о неразделенных или совместно элюируемых пиках. С этой целью проводят выделение ионного тока фрагмента с требуемой массой и рассматривают этот фрагмент как следовое соединение. Такой подход часто используется, чтобы уменьшить продолжительность ГХ анализа и быстро получить информацию о целевых соединениях в сложных матрицах. Описываемый подход используется в качестве стандартного метода при изучении метаболизма лекарств. Меченные изотопами молекулы элюируются совместно с определяемыми лекарственными соединениями. Затем получают профиль тока выбранного иона и используют полученные данные в качестве внутреннего стандарта для определенных биологических систем [10].

Устройство масс-спектрометра

Масс-спектрометр состоит из 4 основных частей: 1) ионного источника; 2) анализатора масс; 3) детектора и 4) системы управления и обработки данных. На рис. 5-8 представлена блок-схема масс-спектрометра. На рис. 5-9 изображена схема типичного квадрупольного масс-спектрометра, состоящего из ионного источника электронного удара, квадрупольного анализатора масс, электронного умножителя непрерывного диодного типа и системы управления и обработки данных. Эта система аналогична тем, которые используются в масс-селективных детекторах фирмы Hewlett-Packard (модели 5970 и 5971).

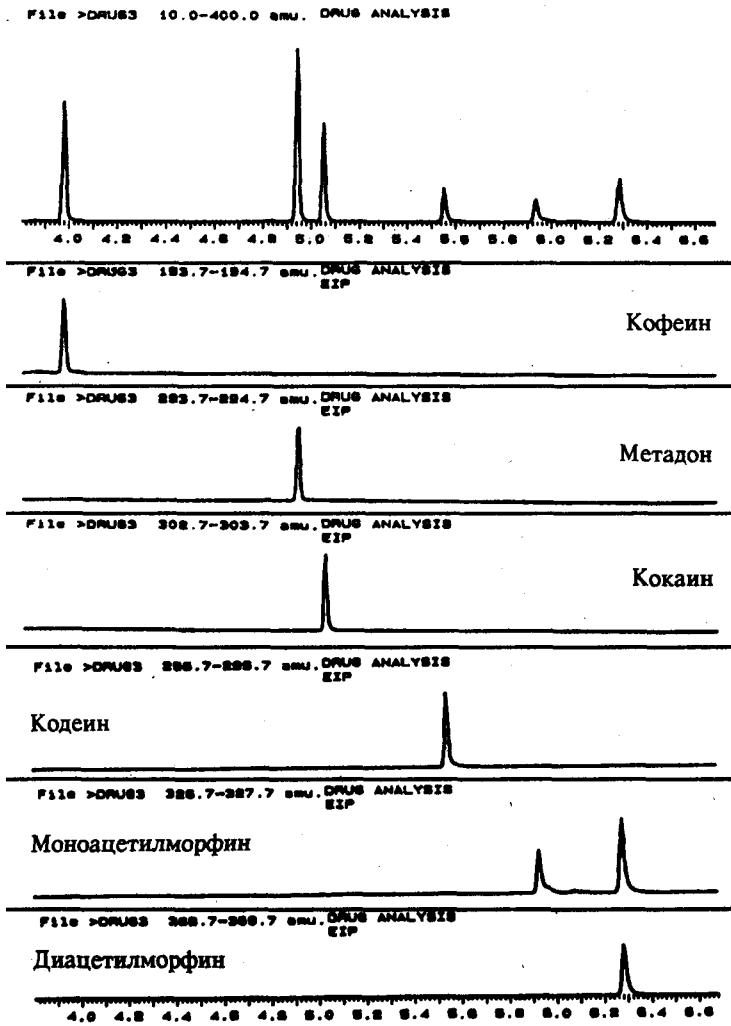


Рис. 5-7. Профиль общего ионного тока для стандартной лекарственной смеси кофеина, метадона, кокаина, кодеина, моноацетилморфина и героина и выделенные ионные профили молекулярных ионов каждого соединения.

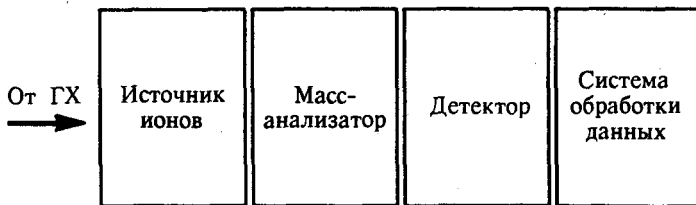


Рис. 5-8. Блок-схема типичного масс-спектрометра.

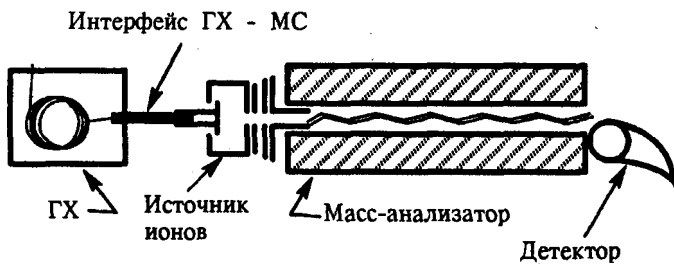
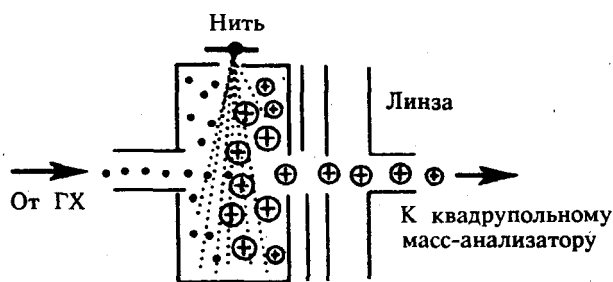


Рис. 5-9. Схема масс-спектрометра с ионным источником электронного удара, квадрупольным анализатором масс, электронным умножителем непрерывного динодного типа. Конец капиллярной колонки помещен непосредственно в ионный источник, как это сделано в МС-детекторах фирмы Hewlett-Packard моделей 5970 и 5971.



Источник ионов электронного удара

Рис. 8—10. Ионный источник электронного удара для генерирования ионов из паробразных молекул, выходящих из газо-хроматографической колонки.

Ионный источник

Для получения ионов в масс-спектрометрах наиболее часто используется ионизация посредством электронного удара или химическая ионизация. До настоящего времени большинство масс-спектров получали с использованием ионизации электронным ударом. На рис. 5-10 представлена схема ионного источника электронного удара. Современные библиотеки масс-спектров содержат более 120 000 спектров, полученных с ионизацией электронным ударом. Самой обширной библиотекой данных является коллекция масс-спектров EPA/NIH, которая используется для сопоставления и идентификации спектров при анализе лекарственных средств и объектов окружающей среды [15].

Анализатор масс

Для разделения ионов, образовавшихся в ионном источнике, используются анализаторы масс пяти основных типов: 1) магнитные, 2) электростатические, 3) времяпролетные, 4) ионно-цикло-тронного резонанса и 5) квадрупольные [10-16]. К последним относятся модификации на основе квадрупольных анализаторов масс. В качестве ионной ловушки используется разновидность квадрупольного анализатора. Наибольшее распространение получили магнитные и квадрупольные анализаторы. С помощью именно этих анализаторов получена большая часть масс-спектров, составляющих библиотеки. Разделение ионов по массам осуществляется в квадрупольном анализаторе масс за счет различного поведения ионов в поле высокочастотного и постоянного тока [10, 12]. Масс-спектр получают при прохождении иона через поле и регистрации тока ионов при попадании в детектор.

Детектор

В масс-спектрометрах используются различные типы детекторов, однако наибольшее распространение получили электронные умно-жители дискретного диодного и непрерывного диодного типов. Оба этих устройства обеспечивают высокие значения усиления (до 10^7), что позволяет детектировать чрезвычайно малые ионные токи (порядка фемтоампер). Возможность детектирования малых токов определяет очень высокую чувствительность масс-спектрометров как детекторов для ГХ. Большинство квадрупольных масс-спектрометрических систем обеспечивает детектирование пиктограммовых количеств летучих веществ при соотношении сигнал/шум, превышающем 10:1.

Интерфейс ГХ-МС

До появления кварцевых капиллярных колонок стыковка газового хроматографа с масс-спектрометром представляла собой сложную задачу из-за различия давлений, которые требовались для успешного функционирования каждого из приборов [11]. Было разработано большое количество устройств, позволяющих переходить от высокого давления на входе из насадочной колонки хроматографа к низкому давлению (вакууму), которое требовалось в масс-спектрометре. Предложенные устройства обеспечивали минимальные потери анализируемого вещества, вызванные наличием температурных градиентов (холодных зон) или плохим разделением молекул. Такие устройства были названы молекулярными сепараторами, поскольку в них с высокой эффективностью удаляется газ-носитель — гелий. Присутствие его нежелательно, так как именно газ-носитель вносит наибольший вклад в создание высокого давления на выходе из колонки.

В качестве ГХ — МС интерфейсов использовали главным образом 1) мембраны из силиконовой резины, 2) диффузионные трубки; и 3) молекулярный струйный сепаратор [11, 12]. В настоящее время чаще всего применяется молекулярный струйный сепаратор (рис. 5-11). Первое такое устройство было выполнено Райхеджем из нержавеющей стали. Впоследствии молекулярные струйные сепараторы стали изготавливать из стекла. Сепараторы из стекла имеют большую химическую инертность, пропускную способность и чувствительность [11-13, 15]. Принцип действия устройства основан на законе сохранения количества движения. В струйном сепараторе молекулы гелия отделяются от более тяжелых молекул анализируемой смеси. Выходное отверстие сопла имеет очень маленький диаметр, поэтому скорость газового потока, выходящего из колонки ГХ, близка к сверхзвуковой. Анализируемое вещество, обладающее большим количеством движения, проходит расстояние между двумя соплами, а более легкие молекулы гелия отклоняются от прямолинейного движения и откачиваются насосом. Струйные сепараторы успешно используются для стыковки насадочных и капиллярных кварцевых колонок большого диаметра (> 0,5 мм) с масс-спектрометром.

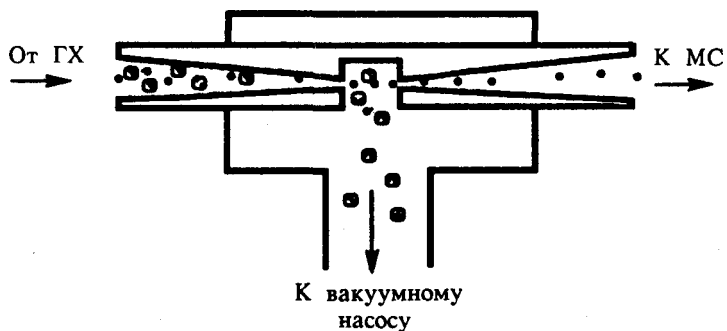


Рис. 5-11. Схема молекулярного струйного сепаратора.

Присоединение капиллярных колонок к масс-спектрометру

Кварцевые капиллярные колонки [17] сочетают высокую эффективность разделения и низкую объемную скорость газового потока, выходящего из колонки, что необходимо для стыковки с масс-спектрометром. В настоящее время кварцевые колонки подсоединяют к масс-спектрометру либо напрямую, либо посредством открытого ввода с делителем потока. При использовании открытого ввода с делителем потока [18-21] в масс-спектрометр попадает определенная часть потока. Вакуум в газохроматографической колонке не создается, и ее разрешающая способность остается неизменной. Это устройство было разработано специально для стеклянных капиллярных колонок с диаметром, не превышающим 0,35 мм. Используя непосредственное подсоединение, можно создать вакуум в узле ввода пробы, однако при этом в масс-спектрометр попадает большое количество воздуха, что снижает чувствительность прибора. Поэтому при использовании кварцевых капиллярных колонок с внутренним диаметром, превышающим 0,32 мм, рекомендуется открытый ввод с делением потока.

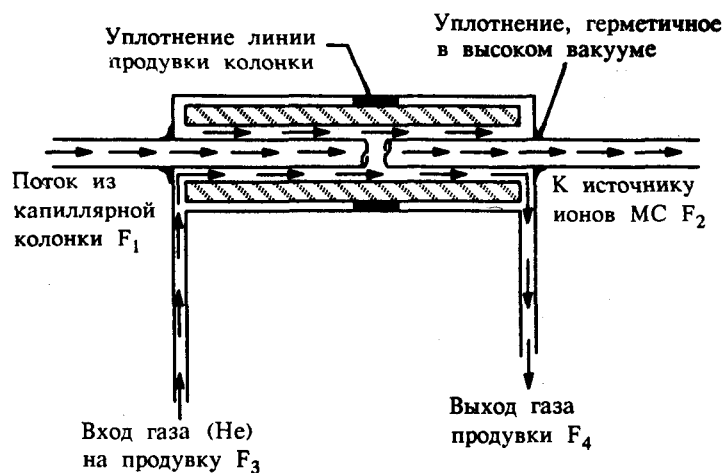
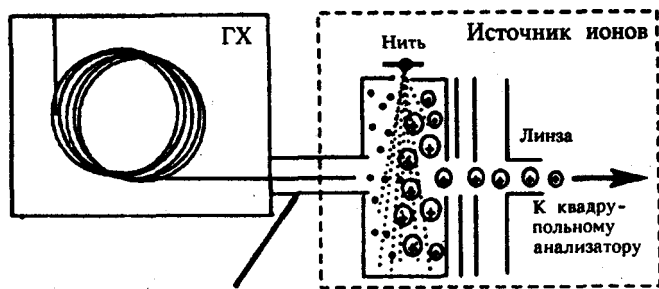


Рис. 5-12. Схема открытого ввода с делителем потока для подсоединения капиллярных колонок большого диаметра к масс-спектрометрам с низкопроизводительной системой создания вакуума.

На рис. 5-12 представлена схема открытого ввода с делением потока [21] и показаны направления газовых потоков. Дополнительный поток газа-носителя проходит коаксиально выходу из колонки и создает гидравлическое соединение. Поток газа на продувку способствует тому, что вспомогательный газ компенсирует любые отклонения в потоке, выходящем из колонки. Отклонения возникают из-за изменения вязкости гелия при программировании температуры термостата.

На рис. 5-13 показана схема непосредственного подсоединения капиллярных колонок к ионному источнику. Это простейший вариант стыковки ГХ — МС, который используется для капиллярных колонок с диаметром, не превышающим 0,2 мм [22].

При соединении масс-спектрометров с низкопроизводительными системами высокого вакуума и коротких колонок с диаметром 0,35 мм возникает ряд трудностей, обусловленных различиями в проводимости колонок [12]. Проводимость маленьких трубок зависит от диаметра в степени 3,5. Небольшое изменение диаметра вызовет существенное варьирование проводимости а следовательно, и потока газа через капилляр. Таким образом, применение колонок с диаметром более 0,2 мм требует высокопроизводительных систем создания вакуума.



Непосредственное соединение

Рис. 5-13. Схема непосредственного подсоединения капиллярных колонок к ионному источнику электронного удара.

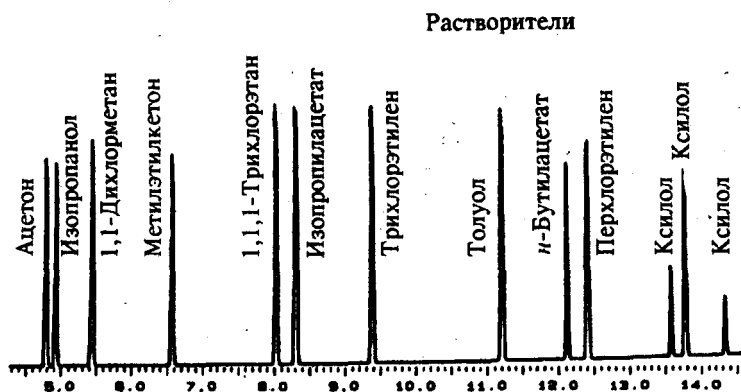


Рис. 5-14. Хроматограмма сложной смеси органических растворителей, полученная методом хромото-масс-спектрометрии с непосредственным введением капиллярной колонки в ионный источник. Хроматографическое разрешение сравнимо с получаемым при использовании пламенно-ионизационного детектора.

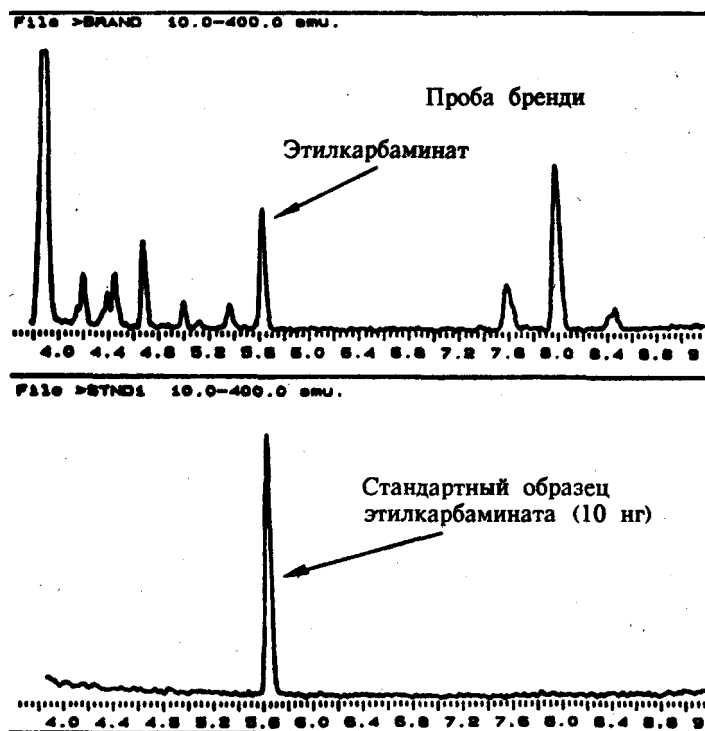


Рис. 5—15. Сравнение профиля общего ионного тока для пробы бренди и стандарта этилкарбамината (10 нг). Было найдено, что минимальный предел обнаружения этилкарбамината существенно ниже 1 нг (высокое соотношение сигнал/шум в стандартном образце этилкарбамината).

Применение хромото-масс-спектрометрии

Возможности применения хромото-масс-спектрометрии для анализа органических веществ практически неограниченны. Этот метод с одинаковым успехом используется как в исследовательских работах, так и при проведении рутинных определений (контроль качества). Рис. 5-14 иллюстрирует использование ХМС для идентификации и охарактеризования компонентов сложной смеси органических растворителей, концентрация каждого из которых не превышала 20 нг.

Метод ХМС используется также для идентификации вредных веществ в сложных матрицах. Например, ХМС-анализу подвергли пробу бренди, причем требовалось определить, содержится ли

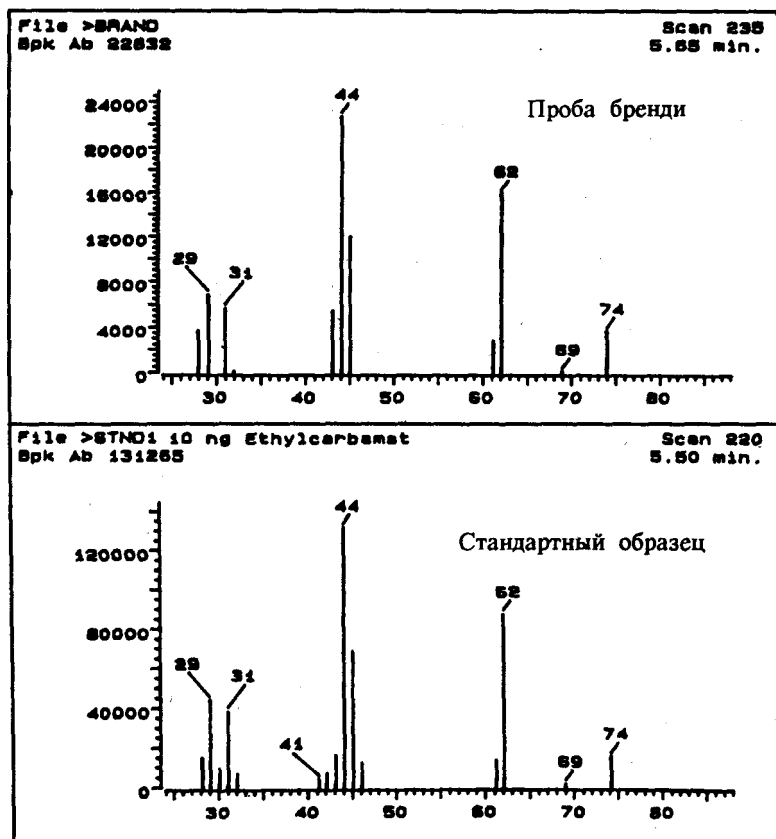


Рис. 5-16. Сравнение двух масс-спектров (рис. 5-15); масс-спектра пика этилкарбамината в образце бренди и этилкарбамината в стандартном образце (10 нг). Полученные данные подтверждают предположение о наличии этилкарбамината в бренди.

в нем этилкарбаминат, и если да, то в каких количествах? Как видно из хроматограмм на рис. 5-15, времена удерживания этилкарбамината в стандартной смеси и неизвестного пика в пробе бренди совпадают. Обычно этого достаточно для идентификации вещества. Однако в данном случае заказчик хотел быть абсолютно уверенным в том, что пик на хроматограмме бренди соответствует этилкарбаминату. Проведенное сравнение масс-спектров неизвестного пика и стандартного пика этилкарбамината (рис. 5-16) показало, что масс-спектры обоих веществ совершенно идентичны. Имея в руках такую надежную информацию о содержании этилкарбамината, фирма-производитель смогла предпринять все необходимые меры для удаления этого вещества перед разливом бренди по бутылкам.

Даже небольшое число примеров показывает, что хромато-масс-спектрометрия является мощным методом, который можно применять для анализа практически любой смеси органических летучих соединений. Продолжительность анализа составляет всего несколько минут, что делает хромато-масс-спектрометрию на сегодняшний день наиболее эффективным, с точки зрения затрат, аналитическим методом.

Сочетание капиллярной газовой хроматографии и ИК-спектроскопии

Р. Лейбранд

Сочетание высокоэффективной газовой хроматографии с ИК-детектированием представляет собой мощное средство для получения специфической информации о молекулах анализируемых веществ. Под действием ИК-излучения возбуждаются деформационные и валентные колебания молекул вещества. Эти колебания являются характеристическими для функциональных групп анализируемой молекулы. Проводя интерпретацию спектров вручную или используя библиотеки спектров, можно идентифицировать хроматографируемые соединения по их ИК-спектрам.

Приборы для ИК-спектроскопии выпускаются промышленностью уже более 40 лет. В первых ИК-спектрографах использовалась светорассеяние. Для разделения ИК-излучения на узкие полосы в них применяли призмы или дифракционные решетки. Затем последовательно облучали анализируемый образец полученными узкими полосами. Такой способ позволял осуществлять сравнительно медленное механическое сканирование. В современных ИК-спектрометрах с преобразованием Фурье вместо призмы или решетки используется интерферометр. В результате практически мгновенно происходит сканирование по всему ИК-диапазону. Такое усовершенствование ИК-спектрометров дало возможность подсоединять их непосредственно к капиллярным газовым хроматографам.

Основы теории детекторов на основе ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье и их устройство

На рис. 5-17 приведена оптическая схема ИК-детектора с преобразованием Фурье. Излучение от ИК-источника проходит через интерферометр. Разделитель лучей пропускает часть пучка к движущемуся зеркалу, отражая другую его часть на закрепленное зеркало. После отражения пучков от движущегося и закрепленного зеркала свет рекомбинируется на разделителе лучей. Зеркала расположены таким образом, что длины путей пучков света различны. Поэтому при объединении лучей они не совпадают по фазе, в результате чего наблюдается интерференция с усилением и ослаблением. Рис. 5-18 иллюстрирует возникновение интерференции с усилением и ослаблением для монохроматического света. Система интерференционных полос с усилением и ослаблением для всех длин волн, достигающих детектора, называется интерферограммой (интерференционной картиной) (рис. 5-19).

Для получения спектра ИК-поглощения из интерферограммы используется математическая операция, называемая преобразованием Фурье. Получаемая хроматограмма состоит из ИК-частот, которые были зафиксированы при хроматографировании. Такую хроматограмму называют хроматограммой общего отклика. Ее можно сравнить с хроматограммой

общего ионного тока в хромато-масс-спектрометрии. Методика, используемая для преобразования интерферограмм в хроматограммы общего отклика, называется восстановлением Грам-Шмидта. Во время хроматографирования производится математическое сравнение стандартных интерферограмм и интерферограмм пиков компонентов, находящихся в световом потоке. Зависимость сигналов на получаемой хроматограмме Грам-Шмидта от концентрации анализируемого вещества является линейной [23].

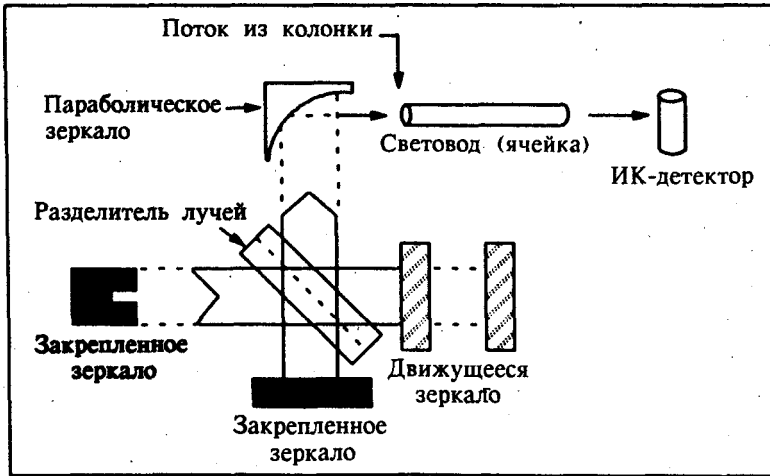


Рис. 5-17. Оптическая схема ИК-детектора с преобразованием Фурье.

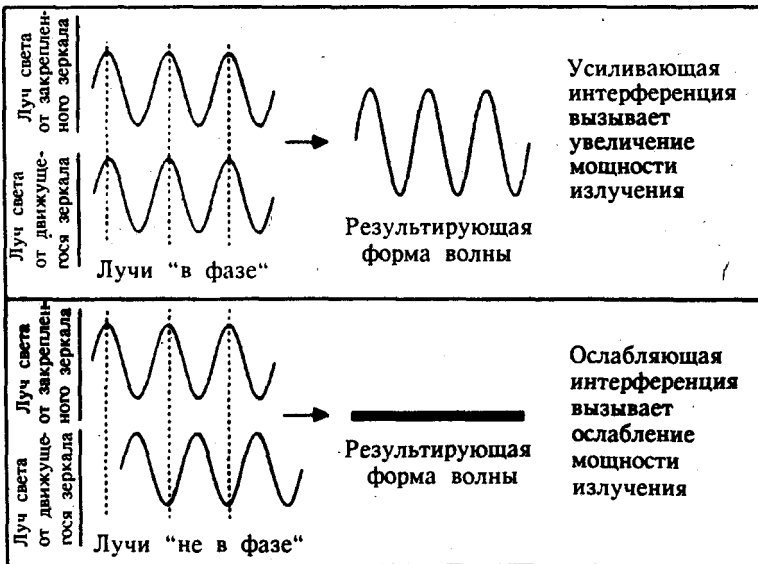


Рис. 5-18. Диаграмма, иллюстрирующая интерференцию монохроматического света с усилением и ослаблением.



Рис. 8-19. Интерферограмма во всем диапазоне ИК длин волн.

Таким образом, использование интерферометра вместо устройства для светорассеяния позволяет проводить быстрый сбор спектральных данных и обеспечивает ряд преимуществ:

1. *Оптическая пропускающая способность* (Jacquinot) интерферометра позволяет практически мгновенно проходить весь ИК-диапазон длин волн. Чем выше энергия излучения детектора, тем больше чувствительность (за счет увеличения соотношения сигнал/шум) [24].
2. *Одновременный сбор* спектральных данных (Fellgett) с помощью интерферометра позволяет провести сканирование во всем ИК-диапазоне длин волн ($4000 - 400 \text{ см}^{-1}$) в 450 раз быстрее, чем при использовании призм или решеток. Такая скорость сбора данных способствует усреднению сигнала, что способствует улучшению соотношения сигнал/шум. Скорость сбора данных при использовании интерферометра такова, что пик, продолжительность элюирования которого составляет всего несколько секунд, можно сканировать несколько раз.
3. При использовании интерферометра достигается высокая *фотометрическая точность* (Connes). Точность в установлении частот при использовании дисперсионных устройств ограничена механизмом сканирования при прохождении ИК-диапазона. В интерферометре для очень точного установления длин волн используется высокочастотный лазер. В результате достигается чрезвычайно точное задание частот.

Применение системы капиллярная газовая хроматография — ИК-спектроскопия

ИК-спектроскоп совершенно незаменим при идентификации соединений, имеющих сходное строение. ИК-спектроскопия и масс-спектрометрия позволяют получить об анализируемом соединении дополняющие друг друга сведения. Сочетание этих методов дает возможность провести качественный анализ неизвестного соединения с высокой степенью надежности. Это можно продемонстрировать на примере определения амфетамина и метамфетамина (рис. 5-20). Масс-спектры этих веществ практически одинаковы, однако ИК-спектры сильно отличаются [25].

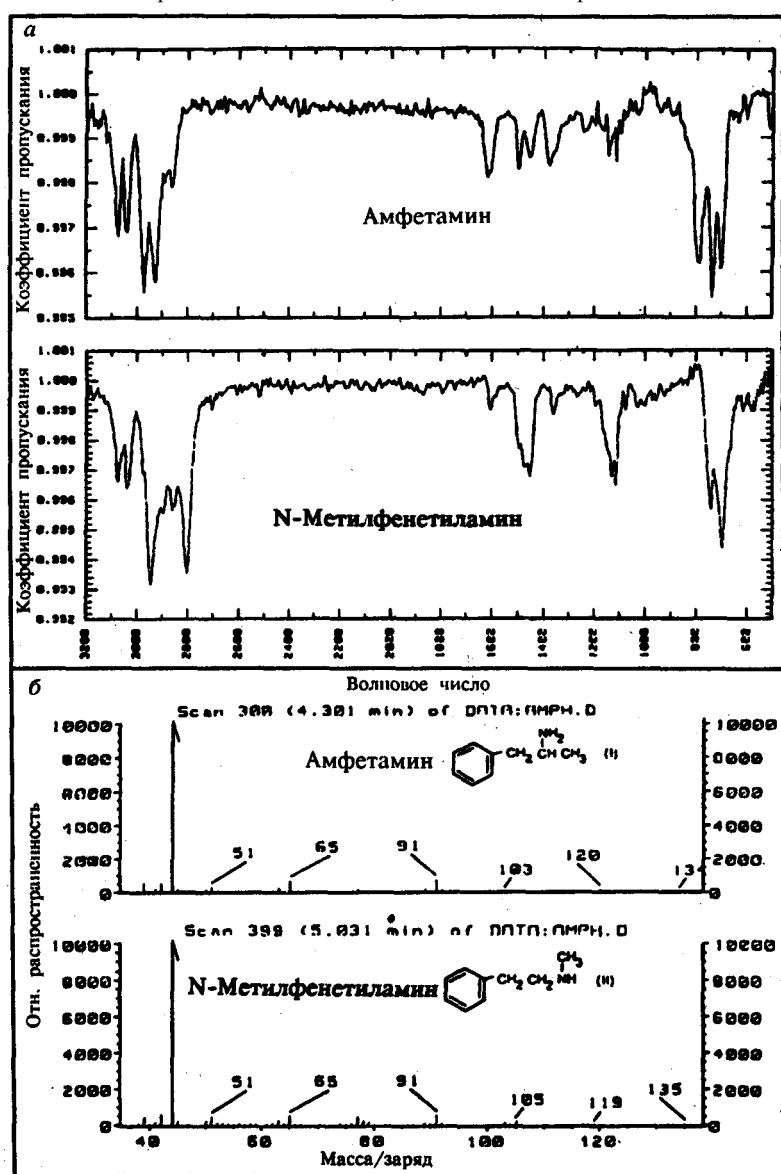


Рис. 5-20. ГХ-ИК и ГХ-МС анализ смеси амфетамина и N-метил-фенетиламина. а — ИК-спектр; б — масс-спектр.

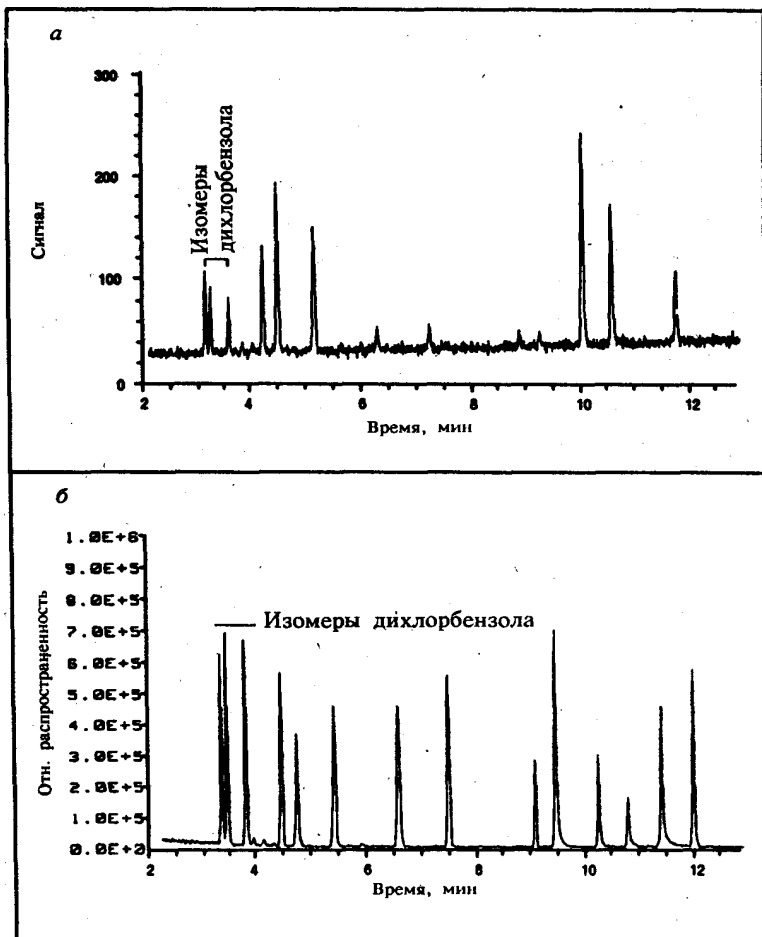


Рис. 5—21. Сочетание ГХ, ИК-спектроскопии и МС-спектрометрии при анализе экстракта смеси хлорбензолов (по 20 нг каждого компонента), а — хроматограмма общего сигнала; б — хроматограмма по общему ионному току.

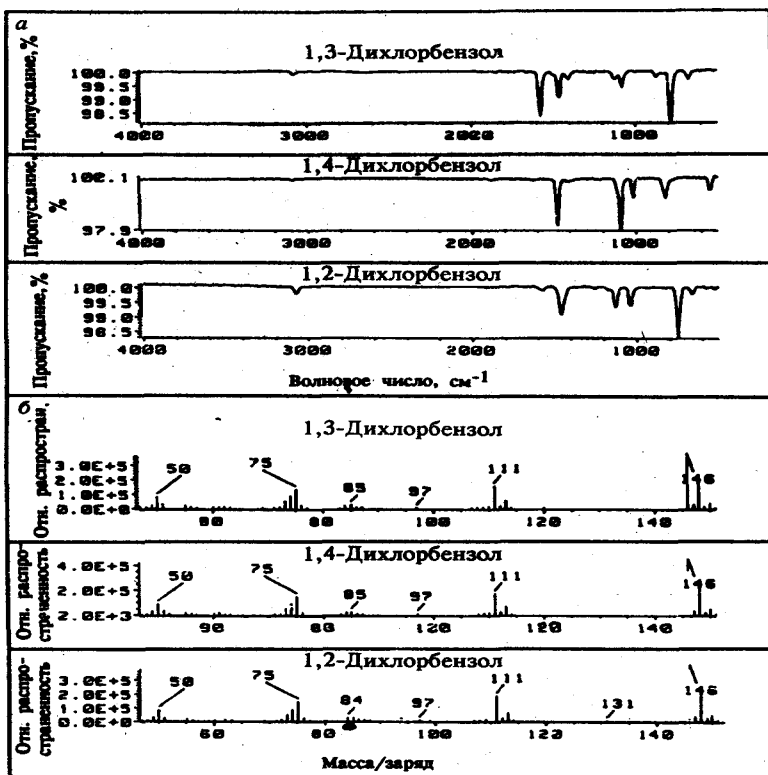


Рис. 5-22. Сочетание ГХ, ИК-спектроскопии и МС-спектрометрии при анализе экстракта изомеров дихлорбензола. а — ИК-спектр изомеров дихлорбензола; б — масс-спектр изомеров дихлорбензола.

Совместное использование ИК- и МС-детектирования в сочетании с капиллярной газовой хроматографией выявляет и усиливает уникальные преимущества обоих спектральных методов. В такой системе можно, проведя однократный ввод пробы, осуществить разделение смеси в капиллярной колонке и получить ИК-и МС-данные о каждом пике, элюируемом из колонки. Сочетание гибридных методов обеспечивает более достоверную идентификацию анализируемого вещества, а также облегчает проведение библиотечного поиска. В качестве примера использования такого метода можно привести определение основных и нейтральных компонентов в объектах окружающей среды (рис. 5-21 и 5-22) [26]. Следует отметить сходство хроматограммы общего сигнала, полученной при ИК-детектировании, и хроматограммы общего ионного тока (МС-детектирование) (рис. 5-21). На рис. 5-22 приведены для сравнения совершенно идентичные масс-спектры изомеров дихлорбензола и ИК-спектры соответствующих соединений. Более подробные сведения о ГХ-ИКС с преобразованием Фурье, сочетании этого метода с масс-спектрометрией, а также примеры использования этого гибридного метода приведены в работах, перечисленных в списке дополнительной литературы к этой главе.

Литература

1. Deans D. R. 1968. *Chromatographia*, 1, 19-22.
2. Bertsch W. 1978. *HRC & CC*, 1, 85-90.
3. Phillips R. J., Knauss K. A., Freeman R. R. 1982. *HRC & CC*, 5, 546-552.
4. Schomburg G., Husmann H., Weeke F. 1975. *J. Chromatogr.*, 112, 205-217.
5. Tuinstra L. G. M. Th., Traag W. A., van Munsteren A. J., van Hese V. 1987. *J. Chromatogr.*, **395**, 307-315.
6. Schomburg G., Dietmann R., Husmann H., Weeke F. 1976. *J. Chromatogr.*, 122, 55-72.
7. Mikkelsen L., Spencer S. F. 1963. *Lectures in Gas Chromatography*. 1962. Plenum Press.
8. Voder R., Sacks R. 1987. *J. Chromatogr. Sci.*, 25, 21-28.
9. Chapman J. R. 1978. *Computers in Mass Spectrometry*. London: Academic Press.
10. Watson J. T. 1984. *Introduction to Mass Spectrometry: Biomedical, Environmental, and Forensic Applications*. Second Edition. New York: Raven Press.
11. Etre L. S., McFadden W. H. 1969. *Ancillary Techniques of Gas Chromatography*. New York: Wiley Interscience.
12. McFadden W. H. 1973. *Techniques in Combined Gas Chromatography/Mass Spectrometry: Applications in Organic Analysis*. New York: Wiley Interscience.
13. McLafferty F. W. 1966. *Interpretation of Mass Spectra*. New York: W. A. Benjamin.
14. Merritt C., McEwen C. N. 1979. *Mass Spectrometry*. New York: Marcel Dekker Inc.
15. Budde W. L., Eichelberger J. W. 1979. *Organics Analysis Using Gas Chromatography Mass Spectrometry*. Ann Arbor, Michigan: Ann Arbor Science.
16. Gross M. L. 1978. *High Performance Mass Spectrometry: Chemical Applications*. Washington, DC: American Chemical Society.
17. Dandeneau R., Zerenner E. H. 1979. *HRC & CC*, 2, 351-356.
18. Henneberg D., Henrichs V., Schomburg G. 1975. *Chromatographia*, 8, 449-451.
19. Henneberg D.; Henrichs V., Husmann H.; Schomburg G. 1978. *J. Chromatogr.*, 167, 139-147.
20. Kaller W. D., Tresselt G. 1980. *HRC & CC*, 3, 359-360.
21. Kenyan C., Goodley P. C. 1981. *Hewlett-Packard Technical Paper No. MS-14*.
22. Leclercq P. A., Scherpemeel G. J., Vermeer E. A. A., Cramers C. A. 1982. *J. Chromatogr.*, 241, 61-71.
23. Duncan W. September 1987. HP Application Note No. IRDN87-1. Publication No. 23-5954-8185.
24. Duncan W. December 1986. HP IRD Note No. IRDN86-1.
25. Duncan W., Soine W. May 1986. HP Application Note No. IRD86-2. Publication No. 23-5954-0656.
26. Duncan W. May 1986. HP Application Note No. IRD86-1. Publication No. 23-5954-0655.

Дополнительная литература

I. Многомерная газовая хроматография

- Bertsch W.* 1978. *HRC & CC*, 1, 85-90.
Bertsch W. 1978. *HRC & CC*, 1, 187-194.
Bertsch W. 1978. *HRC & CC*, 1, 289-299.
"Special Issue: Practical Aspects of Multidimensional Gas Chromatography". 1986. *J. Chromatogr. Sd.*, 24.
Schomburg G. 1985. *Sample Introduction in Capillary Gas Chromatography*. Vol. I, pp. 235-260. New York: Huethig.
Schomburg G. 1987. *LC-GC*, 5, 304-317.

II. Гибридные методы

- Griffiths P., de Haseth J.* 1986. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. Second Edition. New York: Wiley.
Griffiths P. R., Pentoney S. L., Jr., Giorgetti, Shafer K. H. 1986. *Anal., Chem.*, 58, 1349A-1366A.
WOkens C. L. 1987. *Anal. Chem.*, 69, 571A-581A. *Gwrka D., Titus R.* 1986. *Anal. Chem.*, 88, 2189-2194. *Demirgian J. C.* 1987. *Trends in Anal. Chem.*, 6, 58-64. *Hamngton H. W., Leibrand R. J., Hart M. A., Duncan W. P.* 1988. *Research & Development (September)*, 82-88.

Глава 6

Качественный и количественный анализ

Р. Дж. Филипс

Качественный анализ

Качественный анализ предполагает сбор всей необходимой информации о пробе для идентификации ее компонентов. Газовая хроматография является особенно ценным методом качественного анализа, поскольку она позволяет получать одновременно разнообразную информацию об анализируемой смеси. По общему виду хроматограммы можно сразу сделать вывод о сложности анализируемой смеси. Времена удерживания компонентов смеси позволяют провести их классификацию в соответствии с летучестью. Специфические детекторы, в первую очередь масс-спектрометр, дают информацию об элементном составе и структуре компонентов анализируемой пробы. Качество этих данных определяется эффективностью разделения, поэтому внедрение в лабораторную практику капиллярных колонок существенно повысило ценность газовой хроматографии как метода качественного анализа.

Стабильность времен удерживания

Современная высокоэффективная газовая хроматография характеризуется чрезвычайно высокой воспроизводимостью определения времен удерживания. Это обусловлено прежде всего природой самих колонок. В насадочных колонках со временем насадка уплотняется, а следовательно, изменяется газопроницаемость колонки. Этому недостатка лишены открытые капиллярные колонки. Кварцевые капиллярные колонки имеют низкую термическую массу, поэтому они быстро нагреваются и охлаждаются. Как правило, неподвижные фазы в кварцевых колонках иммобилизованы, что препятствует перераспределению фазы и снижает ее унос из колонки. Таким образом, улучшенные характеристики капиллярных колонок стали для производителей хроматографического оборудования стимулом к улучшению качества сами хроматографов в первую очередь в узлах термического и пневматического управления. Результатом стало появление более совершенных газохроматографических систем.

В табл. 6-1 приведены данные о воспроизводимости времен удерживания, полученные с использованием таких совершенных хроматографов. Экспресс-анализ растворителя лака проводили на колонках длиной 10 м и внутренним диаметром 0,1 мм [1]. Объем пробы составлял 0,2 мкл, коэффициент деления потока 1200:1. Проводили программирование температуры термостата от 40 до 80° С со скоростью подъема температуры 30 град/мин. В этих условиях стандартное отклонение времен удерживания составило примерно 30 мс.

Таблица 6—1. Воспроизводимость времен удерживания некоторых компонентов растворителя лака (n = 5)

| Время удерживания, мин | | | | | Стандартное отклонение |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 0,281 | 0,281 | 0,281 | 0,281 | 0,282 | 0,0004 |
| 0,551 | 0,550 | 0,550 | 0,550 | 0,551 | 0,0005 |
| 0,765 | 0,764 | 0,764 | 0,764 | 0,764 | 0,0005 |
| 1,007 | 1,006 | 1,006 | 1,006 | 1,007 | 0,0005 |
| 1,342 | 1,342 | 1,341 | 1,342 | 1,342 | 0,0004 |

Система индексов удерживания

Высокая воспроизводимость времен удерживания в современной газовой хроматографии вновь пробудила интерес исследователей к использованию индексов удерживания для идентификаций пиков. По определению Ковача [2], индекс удерживания — это мера относительного удерживания веществ, причем в качестве стандартного вещества сравнения используется нормальный углеводород. Каждому нормальному углеводороду присвоен индекс удерживания, равный числу атомов углерода в его молекуле, умноженному на 100. Так, индексы удерживания м-пентана и м-декана составляют соответственно 500 и 1000. Индексы удерживания для других соединений получают путем логарифмической интерполяции исправленных времен удерживания (уравнение 1):

$$I_a = 100N + 100n \left(\frac{\lg t'_{R_a} - \lg t'_{R_N}}{\lg t'_{R_{(N+n)}} - \lg t'_{R_N}} \right), \quad (1)$$

где N — число атомов углерода в молекуле m -алкана с меньшей молекулярной массой; n — разность чисел атомов углерода у двух m -алканов, между которыми расположено определяемое соединение.

Для того чтобы провести такую интерполяцию, необходимо знать времена удерживания стандартных соединений, которые часто определяют путем анализа смеси, содержащей только нормальные углеводороды (рис. 6-1). Проведение логарифмической, а не линейной интерполяции объясняется тем, что в условиях изотермической газовой хроматографии исправленные времена удерживания возрастают экспоненциально с ростом числа атомов углерода в молекуле.

По этой причине при анализе смесей, содержащих компоненты с широким диапазоном температур кипения, используют программирование температуры. При линейном программировании температуры времена удерживания компонентов гомологического ряда увеличиваются линейно с ростом числа атомов углерода (рис. 6-2). Идея использования индексов удерживания в газовой хроматографии с программированием температуры была предложена Ван ден Дулом и Кратцем [3]. Расчет индексов удерживания упрощен, так как проводится линейная интерполяция, и можно использовать неисправленные времена удерживания (уравнение 2).

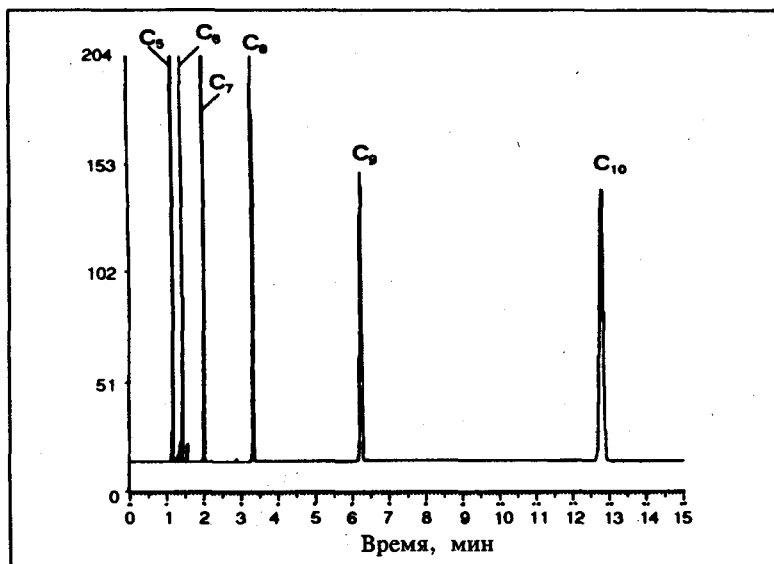


Рис. 6-1. Хроматограмма стандартной смеси нормальных углеводородов (изотермическая газовая хроматография).

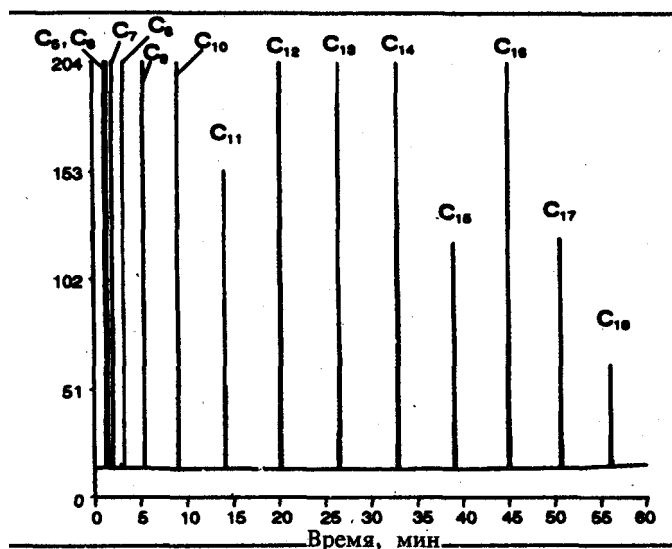


Рис. 6-2. Хроматограмма стандартной смеси нормальных углеводородов (газовая хроматография с программированием температуры).

$$I_a = 100N + 100n \left(\frac{t_{R_n} - t_{R_N}}{t_{R_{(N+n)}} - t_{R_N}} \right), \quad 2)$$

где t_{Ra} , t_{RN} и $t_{R(N+n)}$ — температуры удерживания определяемого компонента и двух n -алканов, между которыми находится определяемый компонент.

Система индексов удерживания Ковача (в изотермических условиях) имеет следующее преимущество: индексы удерживания зависят от типа неподвижной фазы и температуры. Это облегчает сопоставление величин удерживания, найденных в различных лабораториях. Напротив, сопоставление индексов удерживания, определенных в условиях программирования температуры, требует обязательного точного соблюдения параметров эксперимента: размеров колонки, типа газа-носителя, его объемной скорости и профиля программирования температуры.

Уже известные индексы удерживания могут помочь идентификации соединений. Составлены специальные библиотеки табличных данных по индексам удерживания. Дженнингс и Шибамото [4] составили справочник индексов удерживания для более 1000 летучих ароматических добавок и *отдушек*. Данные по индексам удерживания были получены с использованием как полярной (карбовакс 20 м), так и неполярной (метилсиликон) неподвижных фаз. Создана коммерческая база данных индексов удерживания 2000 соединений, полученных с использованием четырех неподвижных фаз [5]. Эта база данных специально предназначена для работы с пакетами программ, осуществляющих расчеты и автоматический поиск в базе данных.

Использование двухканальных систем [6] позволяет одновременно проводить определение индексов удерживания на колонках с неподвижными фазами разной полярности. Кроме того, двухканальные системы увеличивают надежность идентификации, поскольку те соединения, которые элюируются совместно на одной из колонок, могут быть успешно разделены на другой колонке. Одновременный сбор данных о двухканальной системе производится с помощью рабочих станций на базе микрокомпьютеров, что ускоряет анализ данных [7].

Аналогичный принцип лежит в основе использования гибридных методов - ГХ-МС и ГК-ИК. Данные, получаемые при сочетании нескольких методов, более надежны, чем те, которые основаны на применении одного метода. Таким образом, появление на рынке систем, сочетающих ГХ, МС-спектрометрию и ИК-спектроскопию, дает существенный импульс развитию качественного анализа органических соединений [8].

Количественный анализ

В исследовании, проведенном недавно Американским обществом по испытанию материалов (American Society for Testing and Materials) [9], сделан вывод о том, что количественные результаты, полученные с использованием капиллярных колонок, сравнимы с результатами, достигнутыми с применением насадочных колонок. Аналогичный вывод был сделан исследователями из Управления по контролю за качеством пищевых и фармацевтических продуктов США (United States Food and Drug Administration), которые пришли также к заключению о том, что в некоторых случаях большая разрешающая способность и более высокая чувствительность, достигаемая с капиллярными колонками, обеспечивают заметные преимущества. Эти выводы подтвердили точку зрения, высказываемую сторонниками использования капиллярных колонок в течение ряда лет: применение капиллярных колонок позволяет уменьшить продолжительность анализа и улучшить разделение, не ухудшая при этом количественных результатов определения.

Однако результаты анализа зависят от выбранного метода ввода пробы, который в свою очередь определяется типом анализируемой пробы и имеющимся в наличии оборудованием. Прямой ввод пробы используется для колонок, внутренний диаметр которых составляет не менее 0,5 мм. Применение колонок меньшего диаметра обуславливает использование более совершенных систем ввода пробы. Ввод пробы без деления потока используется при определении следовых количеств; при определении макрокомпонентов применяют ввод пробы с делением потока. Непосредственный ввод пробы в колонку универсален и особенно удобен при определении соединений низкой летучести.

Оптимальное проведение анализа при введении пробы с делением потока характеризуется понятием "линейности". Линейность — это линейная зависимость сигнала системы от концентрации или количества введенного вещества (в данном диапазоне концентраций или количеств веществ). Желательно, чтобы такое соотношение выполнялось при проведении количественного анализа. По определению Эттре [11], критерий линейности предполагает следующее:

1. Относительный размер пика, полученный при вводе пробы с делением потока, должен быть идентичен размеру пика, полученному без деления потока или рассчитанному.
2. Площадь пика компонента смеси должна быть пропорциональна концентрации последнего.
3. Площадь пика должна быть пропорциональна объему введенной пробы.
4. Площадь пика должна быть обратно пропорциональна коэффициенту деления потока.

Отметим, что истинный коэффициент деления потока не обязательно равен рассчитанному. Перепад давления, возникающий при введении пробы, вызывает временное увеличение объемной скорости потока через колонку и соответственное уменьшение коэффициента деления потока.

В табл. 6-2 приведены результаты, полученные при использовании линейного делителя потока [12]. Видно, что отношение площадей пиков нонана и гексадекана меняется мало, т. е. не наблюдается искажения в достаточно широком интервале температур кипения. Среднее отношение C_9/C_{10} составляет 1,013, что хорошо согласуется с данными, полученными при анализе этой же смеси нанасадочной колонке ($C_9/C_{16} = 1,020 \pm 0,0062$). Относительное стандартное отклонение абсолютных площадей пиков составляет 2-3%. Такие значения характерны для введения пробы вручную.

На практике не всегда возможно достичь линейности. Тем не менее можно дать несколько рекомендаций, которые помогут улучшить проведение анализа. При выборе вкладыша необходимо учитывать природу анализируемой пробы. Например, при анализе смеси углеводов следует использовать вкладыши, плотно набитые стекловатой [13]. Вкладыши других типов рекомендуется применять при анализе неустойчивых соединений [14]. Искажения за счет дискриминации пробы в игле шприца можно снизить путем быстрого ввода пробы [13] и отказа от использования летучих растворителей [16].

Определение следовых количеств методом высокоэффективной газовой хроматографии основано на вводе пробы без деления потока или непосредственном вводе в колонку [17, 18]. При вводе пробы без деления потока испарение ее должно произойти практически мгновенно. При этом данные могут искажаться за счет различий в молекулярной массе определяемых веществ. Как следует из данных табл. 6-3 [19], ввод пробы непосредственно в колонку, осуществляемый при относительно низких температурах, позволяет получать более правильные и воспроизводимые данные. Кроме того, в этом случае можно определять термически неустойчивые соединения, которые разлагаются в нагреваемом узле ввода пробы. Ввод пробы без деления потока обладает одним преимуществом по сравнению с непосредственным вводом: в первом случае тяжелые, не испарившиеся компоненты пробы остаются в легко очищаемом узле ввода, во втором — накапливаются в колонке.

Необходимо также внимательно отнестись к выбору детектора. В большинстве случаев продолжают отдавать предпочтение пламенно-ионизационному детектору, поскольку он характеризуется высокой чувствительностью и линейностью сигнала в широком интервале концентраций. В некоторых случаях достойной альтернативой ПИД является детектор по теплопроводности малого объема с одной нитью в канале. Использование этого детектора в сочетании с колонками большого диаметра ($> 0,5$ мм)

обеспечивает широкий динамический интервал [20] и высокую воспроизводимость определения [21].

Таблица 6—2. Воспроизводимость результатов определения площадей пиков при вводе пробы с делением потока

| № опыта | Площадь пика C_9 | Площадь пика C_{16} | Отношение площадей пиков C_9/C_{16} |
|----------|--------------------|-----------------------|---------------------------------------|
| 1 | 39280 | 39540 | 0,993 |
| 2 | 40150 | 39680 | 1,012 |
| 3 | 38270 | 37200 | 1,029 |
| 4 | 38230 | 37710 | 1,014 |
| 5 | 40280 | 39270 | 1,026 |
| 6 | 39300 | 39200 | 1,003 |
| Среднее | 39252 ± 880 | 38767 ± 1043 | $1,013 \pm 0,0136$ |
| $Sr, \%$ | 2,24 | 2,69 | 1,34 |

Таблица 6—3. Сравнение воспроизводимости определения полициклических ароматических углеводородов (содержание каждого компонента 10 нг) при непосредственном вводе пробы в колонку и вводе пробы без деления потока

| Вещество | Непосредственный ввод пробы | | Ввод без деления потока | |
|-------------------------|-----------------------------|------------|-------------------------|------------|
| | Относительный сигнал | s, % (n=6) | Относительный сигнал | s, % (n=6) |
| Нафталин | $0,867 \pm 0,003$ | 0,35 | $0,897 \pm 0,003$ | 0,33 |
| Бифенил | $0,879 \pm 0,004$ | 0,46 | $0,884 \pm 0,001$ | 0,08 |
| Флуорен | $0,823 \pm 0,002$ | 0,24 | $0,729 \pm 0,003$ | 0,14 |
| Ст | 1,00 | | 1,00 | |
| Фенантрен | $0,914 \pm 0,002$ | 0,22 | $0,791 \pm 0,014$ | 1,77 |
| Антрацен | $0,830 \pm 0,002$ | 0,24 | $0,696 \pm 0,014$ | 2,01 |
| 1-Метил-антрацен | $0,875 \pm 0,003$ | 0,34 | $0,706 \pm 0,019$ | 2,69 |
| Флуорантен | $0,903 \pm 0,005$ | 0,55 | $0,697 \pm 0,025$ | 3,59 |
| Пирен | $0,891 \pm 0,005$ | 0,56 | $0,677 \pm 0,024$ | 3,55 |
| 2,3-Бенз-флуорен | $0,905 \pm 0,009$ | 0,99 | $0,582 \pm 0,021$ | 3,61 |
| Трифенилен | $0,926 \pm 0,009$ | 0,97 | $0,636 \pm 0,024$ | 3,77 |
| Бенз(ε)пирен | $0,885 \pm 0,007$ | 0,79 | $0,583 \pm 0,025$ | 4,29 |
| Бенз(а)пирен | $0,885 \pm 0,005$ | 0,56 | $0,531 \pm 0,021$ | 3,95 |
| Пиперилен | $0,813 \pm 0,004$ | 0,49 | $0,498 \pm 0,021$ | 4,22 |
| 1,2,5,6-Ди-бензантрацен | $0,894 \pm 0,005$ | 0,56 | $0,421 \pm 0,018$ | 4,28 |
| Коронен | $0,886 \pm 0,003$ | 0,34 | $0,375 \pm 0,014$ | 3,73 |
| Среднее | $0,879 \pm 0,033$ | 3,75 | $0,647 \pm 1,52$ | 23,5 |

При определении следовых количеств желательно использовать селективные детекторы — электрозахватный и пламенно-фотометрический. При тщательной оптимизации условий анализа эти детекторы обеспечивают чрезвычайно высокую чувствительность определения. Однако при использовании этих детекторов, как правило, имеет место нелинейность сигнала, поэтому для получения точных результатов необходимо проводить многоуровневую градуировку (рис. 6-3) [22].

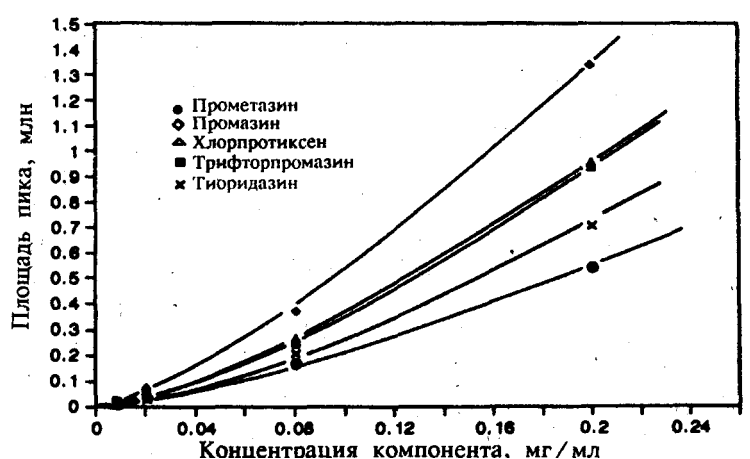


Рис. в-3. Кривая многоуровневой градуировки при пламенно-фотометрическом детектировании антипсихотических средств.

Литература

1. *PhiUips R. J., Snyder W. D.; Hyver K. J.* 1987. *J. Chromatogr. ScL*, 25, 402-404.
2. *Kovats E; Giddings J. C., KeUer R. A.* 1965. *Advances in Chromatography*, Volume 1, Chapter 7. New York: Marcel Dekker.
3. *Van den Dool H., Kratz P. D.* 1963. *J. Chromatogr.*, 11, 463-71.

4. *Jennings W., Shibamoto T.* 1980. Qualitative Analysis of Flavor and Fragrance Volatiles by Gas Chromatography. New York: Academic Press.
5. *Sprouse J. F., Varano A.* 1984. Amer. Lab., 16, 54-68.
6. *Phittips R. J.* Capillary Chromatography in Essential Oil Analysis. In: P. Sandra and C. Bicchi, Eds. 1987. Chapter 9. Heidelberg: Huethig.
7. *Hyver K. J.* July 1987.- Hewlett-Packard Application Note №228-256. HP Publication №43-5954-9172.
8. *Barman S.* 1987. Anal. Chem., 59, 769A-774A.
9. *McMahon D. H.* 1985. J. Chromatogr. Sd., 23, 137-143.
10. *Fehringer N. V., Walters S. M.* 1986. J. Assoc. Off Anal. Chem., 69, 90-93.
11. *Ettre L., Averill W.* 1961. Anal. Chem., 33, 680-684.
12. *Smith D. H., Bente P. F., freeman R. R., Cutack J. E.* September 1978. Hewlett-Packard Technical Paper №74. HP Publication №43-5953-1401.
13. *Schombwg G., Behlau H; Dielmann R., Weeke F., Huemann H.* 1977. J. Chromatogr., 142, 87-102.
14. *Jennings W. G.* 1975. J. Chromatogr. Sd., 13, 185-187.
15. *Snyder W. D.* June 1985. Hewlett-Packard Technical Paper №108. HP Publication №43-5953-1843.
16. *Profke M. G., Bender M., Schomburg G., Hubinger E.* 1982. J. Chromatogr., 240, 95-106.
17. *Grob K., Grob G.* 1969. J. Chromatogr. Sci., 7, 584-586.
18. *Grob K., Grab K., Jr.* 1978. J. Chromatogr., 151, 311-320.
19. *Turner M. P., freeman R. R.* November 1982. Hewlett-Packard Application Note AN 228-28. HP Publication №43-5953-1679.
20. *PhilUps R. J; Gratzfeld-Huegen A.* April 1984. Hewlett-Packard Application Note 228-38. HP Publication №43-5953-1770.
21. *Kottoff R. H., Toney C., Butler J.* August 1985. Hewlett-Packard Technical Paper №110. HP Publication №43-5953-1878.
22. *Hyver K. J.* November 1986. Hewlett-Packard Application Note 228-51. HP Publication №43-5954-7614.

Глава 7

Оценка работы газохроматографической системы и устранение неисправностей

Р. Гирхарт

Введение

Перед началом эксплуатации газохроматографической системы в повседневной работе важно оценить функционирование всех ее узлов. В этой главе изложены основные рекомендации по оценке работы системы во времени, позволяющие выявлять ее неисправности. Более подробную информацию по устранению неполадок в конкретной хроматографической системе можно найти в описании, прилагаемом производителем к выпускаемому оборудованию.

В качестве меры оценки работы хроматографической системы и/или "указателя" на неисправность в том или ином узле хроматографической системы (устройстве ввода пробы, колонке, детекторе, блоке обработки сигнала) можно использовать многие параметры. Информация, получаемая при использовании каждого из этих параметров, либо дублируется, либо перекрывается и служит подтверждением существования неисправности. Поэтому для более точного выявления неисправности рекомендуется проводить оценку как можно большего числа параметров, характеризующих работу хроматографической системы.

Нулевая линия системы

Поведение нулевой линии является чрезвычайно важной характеристикой любой хроматографической системы, однако именно на эту характеристику часто не обращают должного внимания. В конечном счете поведение нулевой линии определяет предел чувствительности системы (отношение сигнал/шум, S/N) и влияет на воспроизводимость получаемых результатов (т. е. на интегрирование сигнала). Качество нулевой линии особенно важно, если при проведении анализа предъявляются высокие требования к специфичности и воспроизводимости определения.

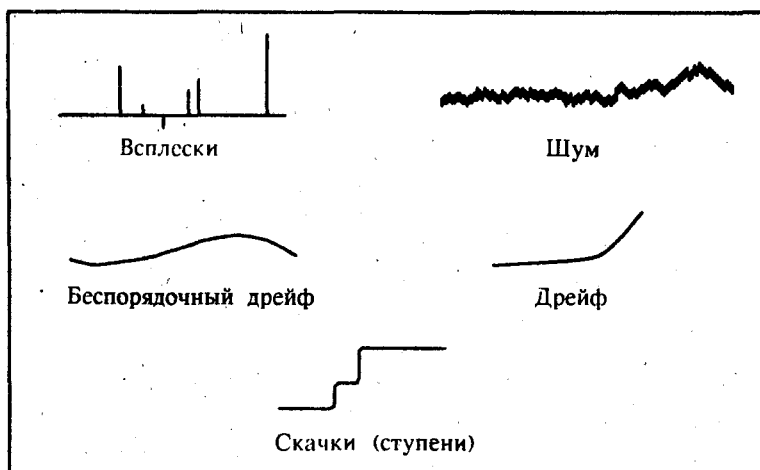


Рис. 7-1. Основные типы искажений нулевой линии.

Искажение хроматографической нулевой линии складывается из искажений нулевых линий отдельных узлов хроматографической системы, а именно:

1. Шумов систем обработки сигнала детектора, механических и электрических компонентов.
2. Шумов самого детектора (в отсутствие пробы).

3. Шумов от определяемых компонентов, выходящих из аналитической колонки. При проведении хроматографического анализа пики разделяемых компонентов выходят на хроматограмме на фоне этой суммарной нулевой линии.

Искажения нулевой линии можно разделить на пять основных групп: всплески (как положительные, так и отрицательные); большой посторонний шум; беспорядочный дрейф нулевой линии; сильный дрейф и/или внезапные скачки (ступени). Всплески, шумы и беспорядочный дрейф могут носить как периодический характер, т. е. постоянно появляться на нулевой линии, так и возникать внезапно. Различные типы искажения нулевой линии показаны на рис. 7-1. Описанные искажения нулевой линии и их комбинации могут наблюдаться для нулевой линии на каждой из описанных стадий хроматографического процесса. Поэтому важно оценить отдельно вклад каждого компонента. Ниже приведены рекомендации по оценке источников искажения нулевой линии. При выявлении неисправностей необходимо придерживаться описанной здесь последовательности оценки; в противном случае можно просто запутаться в определении источника искажений и не выявить их истинную причину.

Электромеханическая нулевая линия

Для того чтобы оценить вклад электрических и механических искажений, следует, если возможно, провести регистрацию выходного сигнала детектора. Для этого включают детекторов электрическую цепь прибора, не приводя его при этом в рабочее состояние. Например, в случае ПИД или ПФД не проводят поджиг пламени;

для АФД не подают питание к активному элементу, а в ДТП — к нити накала. К сожалению, не все детекторы могут работать в таком "холостом" режиме.

Обычно для адекватной оценки получаемого сигнала необходимо, чтобы электронная схема обработки сигнала работала в режиме максимальной чувствительности, компенсируя при необходимости любые смещения. Продолжительность такой проверки составляет не менее 5 мин, а при необходимости — сколь угодно долго.

В описанном режиме любые искажения нулевой линии будут обусловлены функционированием самого прибора и/или его компонентов, поскольку детектирование как такового не происходит. Таким образом удается отделить шумы нулевой линии, обусловленные колонкой или узлом ввода, от тех, которые вызваны работой электрической части детектора и системы обработки сигнала. Возможные причины искажения нулевой линии за счет электромеханической системы перечислены в табл. 7-1.

Функциональная нулевая линия

Функциональную нулевую линию регистрируют в рабочем состоянии электрической схемы детектора, но без ввода пробы, т. е. устанавливают соответствующие объемные скорости газа-носителя и других газов, нагревают детектор до необходимой температуры и поджигают пламя в случае ПИД или ПФД, включают питание активного элемента или нити в ДТП.

Если в детекторе предусмотрен подвод вспомогательного газа (детекторы, предназначенные для капиллярной хроматографии), устанавливают заглушку в месте подсоединения колонки к детектору внутри термостата и устанавливают такую объемную скорость вспомогательного газа, чтобы она соответствовала общему потоку газов (газа-носителя и вспомогательного газа).

В случае детекторов, которые предназначены для насадочных колонок, можно установить колонку, характеризующуюся низким уносом фазы. Нагрев испарителя и термостата не осуществляется. Можно вместо колонки установить кусок чистой трубки (ее температуру также не следует изменять).

Как указывалось выше, для адекватной оценки сигнала необходимо, чтобы электронная схема обработки сигнала работала в режиме максимальной чувствительности, компенсируя при необходимости любые смещения. Регистрацию нулевой линии следует проводить не менее 5 -мин.

Таким образом, при проверке в данном режиме через детектор по существу ничего не проходит, и любые искажения нулевой линии могут быть обусловлены только шумами самого детектора и систем, поддерживающих его работу (газовые потоки и т. д.). Удастся отделить искажения нулевой, обусловленные детектором, от тех, которые вызваны несовершенством узла ввода или колонки. Основные искажения функциональной нулевой линии и причины, их вызывающие, перечислены в табл. 7-2.

Таблица 7—1. Выявление искажений нулевой линии, обусловленных электромеханической схемой хроматографической системы

| | |
|----------------------------|---|
| Всплески | Обычно всплески на нулевой линии обусловлены помехами в электрической сети или плохой электроизоляцией кабелей. Если всплески носят периодический характер, следует обратить внимание на то, какие еще другие приборы подключены к электрической сети во время появления всплесков. Непериодические всплески могут быть связаны с теми же электрическими помехами, что и периодически повторяющиеся. Их причиной является включение приборов, не работающих постоянно одновременно с хроматографом. Всплески на нулевой линии могут являться следствием неисправностей в системах обработки сигнала детектора, а именно плохого электрического контакта, загрязнения контактов или их коррозии в местах соединения тракта сигнала детектора, платы сигнала, кабелей и т.д. За счет термического расщепления, сжатия или вибрации в местах плохого соединения возникают механические перемещения контактов, вызывающие всплески. |
| Шум | Высокий уровень шума обычно является следствием неисправной работы электрометра или излучением от работающего в непосредственной близости от хроматографа электронного оборудования. В последнем случае рекомендуется выключить это оборудование и отметить, изменился ли уровень шума. |
| Беспорядочный дрейф | Беспорядочный дрейф нулевой линии обычно вызван изменением внешних условий, т.е. резкими циклическими изменениями температуры или λ -пряжения в сети. В случае ДТП беспорядочный дрейф может возникать из-за повреждений в схеме контроля температуры. |
| Скачки (ступени) | Как правило, образование ступеней является следствием плохого контакта в тракте сигнала (загрязнение, коррозия). Часто для установления этой неисправности, достаточно слегка подергать контакты в местах соединения. |

Хроматографическая нулевая линия

Хроматографическая нулевая линия регистрируется при проведении холостого опыта. Устанавливают в термостате аналитическую колонку, подают газы с той же объемной скоростью, которую предполагается использовать при проведении анализа, выводят систему на выбранный температурный режим, но пробу не вводят. При этом на состояние нулевой линии будут влиять в основном загрязнения из колонки и/или из уплотняющих прокладок узла ввода.

Для регистрации адекватного сигнала необходимо, чтобы электронная схема работала на уровне максимальной чувствительности (компенсируя смещения). При этом прибор настраивается так, чтобы весь сигнал был в пределах шкалы. Регистрация сигнала продолжается в течение всего времени, необходимого для проведения предполагаемого анализа.

При проведении такой проверки можно определить возможные искажения нулевой линии. В табл. 7-3 перечислены основные причины этих искажений.

Заключение

В заключение следует отметить, что суммарная нулевая линия должна по возможности не иметь дрейфа и всплесков, т. е. должна быть практически горизонтальной во время проведения анализа. В этом случае пики будут иметь четкие начальные и конечные точки, а сам пик — симметричную форму. Это позволит максимально точно провести количественную оценку (определить площадь пика).

При проведении следового анализа также важно, чтобы уровень шумов был наименьшим. В противном случае появляется вероятность потери информации в результате маскировки пиков шумами.

Таблица 7—2. Выявление искажений нулевой линии, обусловленных помехами от детектора

| | |
|---------------------|---|
| Всплески | <p>Появление непериодических всплесков часто обусловлено попаданием частиц вещества в активную часть детектора. В этом случае требуется очистка детектора. Частицы вещества могут быть внесены газами, проходящими через детектор. Периодические всплески наблюдаются редко. Они могут появляться в тех системах, где используются механические пневматические краны-переключатели, например в некоторых конструкциях ДТП. Переключение происходит с постоянной частотой. Если механическая часть крана имеет дефект, нарушается переключение потоков, причем это нарушение носит периодический характер. В этом случае временной интервал между всплесками будет, как правило, связан с периодичностью переключения потоков. Другой причиной периодических всплесков может быть дефект в прокладках (уплотнительных кольцах), герметизирующих систему подачи вспомогательного газа. При возрастании давления до некоторого уровня газ может практически мгновенно проходить через прокладку. В результате наблюдается снижение давления. Циклы подъема и снижения давления носят периодический характер. При этом изменяется объемная скорость потока, поступающего в детектор, и это часто сопровождается появлением всплесков на хроматограмме. Если причиной появления всплесков является изменение давления, периодичность их появления будет зависеть от давления, и это может служить для выявления причины всплесков.</p> |
| Шум | <p>Причины появления высокого уровня шума различны для детекторов разных типов. В случае ДТП или ЭЗД шумы могут быть обусловлены утечкой воздуха, а в случае ПИД или АФД — неправильным соотношением воздух/водород. Причиной высокого уровня шума в случае ПИД, АФД или ПФД может быть механический дефект форсунки. Кроме того, увеличение уровня шума часто бывает связано с прохождением потока воздуха над выходным отверстием детектора.</p> |
| Смещение | <p>Наблюдаемая нулевая линия — это по существу запись смещения сигнала детектора во времени, поэтому абсолютный уровень смещения сам по себе представляет определенный интерес. Даже если смещение сигнала имеет постоянный характер, избыточное смещение нулевой линии может сузить динамический диапазон детектора. Избыточное смещение сигнала детектора вызвано различными причинами: для ДТП или ЭЗД — это неправильный выбор газовых смесей и/или их объемных скоростей, примеси в газах, утечка воздуха; для АФД — избыточный ток, подводимый к активному элементу детектора; для ПФД — чрезмерно высокое напряжение фотоумножителя и т.д.</p> |
| Беспорядочный дрейф | <p>Для всех типов детекторов беспорядочный дрейф нулевой линии обычно обусловлен плохим контролем объемных скоростей газов (например, в случае ПИД неполадками в работе компрессора, подающего воздух). Другие причины специфичны для данного типа детектора: это низкая термостабильность в ДТП, плохое регулирование тока активного элемента в АФД, недостаточный контроль напряжения на трубке фотоумножителя в ПФД и т.д.</p> |
| Дрейф | <p>Постепенный нисходящий дрейф нулевой линии обычно вызван "выгоранием" химических загрязнений внутри детектора и/или выдуванием загрязнений из уплотнения на линии подачи вспомогательного газа. Восходящий дрейф нулевой линии встречается редко и может быть обусловлен колебаниями объемных скоростей газов или специфическими причинами, например медленным изменением тока активного элемента в АФД.</p> |

В некоторых хроматографических системах имеется система электронной компенсации колонки, что позволяет учесть дрейф нулевой линии и всплески. Профиль нулевой линии самой системы хранится в памяти и вычитается из результатов хроматографического анализа, тем самым выравнивается нулевая линия. При использовании системы электронной компенсации следует иметь в виду, что шумы компенсированной нулевой линии увеличиваются. Поскольку шумы носят случайный характер, дисперсия хранимого в памяти профиля нулевой линии суммируется с дисперсией нулевой линии при хроматографическом анализе. Следовательно, при проведении следового анализа не рекомендуется использовать систему электронной компенсации.

Таблица 7-3. Выявление причин искажения хроматографической нулевой линии

| | |
|---------------------|--|
| Смещение | Наблюдаемая нулевая линия — это по существу запись смещения сигнала детектора во времени, поэтому представляет интерес определение абсолютного смещения. Даже если этот уровень смещения постоянен, в случае его избыточной величины сужается динамический интервал детектора. Чрезмерное смещение нулевой линии обусловлено элюированием вещества из системы ввода (загрязнение) и/или аналитической колонки (загрязнение или унос неподвижной фазы). Обычно смещение нулевой линии зависит от температуры: чем выше температура, тем больше смещение. Поэтому можно выяснить, какой узел хроматографической системы — система ввода или колонка — является причиной смещения. Для этого изменяют независимо температуру этих узлов и определяют, какой из них оказывает большее воздействие на смещение нулевой линии. |
| Беспорядочный дрейф | При проведении анализа в изотермическом режиме беспорядочный дрейф нулевой линии обычно вызван наличием примесей в газе-носителе или плохим контролем его объемной скорости. Кроме того, при программировании температуры количество вещества, элюируемого из колонки, не всегда возрастает пропорционально повышению температуры. |
| Дрейф | Постепенный восходящий дрейф нулевой линии обычно наблюдается в режиме программирования температуры, поскольку с повышением температуры увеличивается унос неподвижной фазы из колонки. В изотермическом режиме дрейфа нулевой линии не должно быть. Если он имеет место, это скорее всего объясняется дрейфом хроматографической нулевой линии (см. выше). |
| Ложные пики | Появление пиков на хроматограмме в отсутствие пробы обусловлено загрязнениями в системе ввода пробы или колонке (например, остатки пробы от предыдущего анализа). Чаще всего такие пики появляются при переходе от одного анализа к другому, причем для последнего необходима более высокая температура узла ввода или колонки. Происходит элюирование вещества, оставшегося после проведения анализа при менее высокой температуре. Другой типичный источник ложных пиков — унос компонентов, входящих в состав мембраны узла ввода, или попадание кусочков мембраны в узел ввода и/или вкладыш. Необходимо очистить узел ввода и заменить вкладыш или мембрану. Входной конец колонки может быть загрязнен продуктами термического разложения и/или трудноиспаряемыми компонентами пробы. Иногда в кварцевую капиллярную колонку могут попадать частички полиимидного защитного покрытия. Рекомендуется внимательно осмотреть концы колонки и отрезать, если это возможно, поврежденный участок. Некоторые капиллярные колонки, в соответствии с рекомендациями фирмы-производителя, рекомендуется после удаления загрязненных участков промыть и затем кондиционировать при температуре, превышающей температуру анализа, но не превосходящей максимальную рабочую температуру, указанную в паспорте колонки. |

Искажение формы хроматографического пика

В идеальном случае хроматографический пик должен быть симметричен и иметь форму гауссова пика с ясно выраженными точками начала и конца и вершиной. Если форма пика не отвечает этим требованиям, то интерпретация его параметров (площади, высоты и времени удерживания) становится затруднительной (как при электронной, так и при ручной обработке) и, следовательно, возрастает вероятность ошибки.

При рассмотрении причин искажения формы пика предполагается, что нулевая линия имеет идеальную форму (горизонтальная линия, свободная от шумов). В этом разделе будут рассмотрены наиболее часто встречающиеся искажения формы пика и причины, их вызывающие. На рис. 7-2 приведены различные варианты искажения формы пика.

При проведении анализа могут наблюдаться одновременно различные искажения формы пика. Ниже будут даны рекомендации по выяснению источников искажения формы пика и путей их устранения.

Отсутствие пика или его малая величина

В этом подразделе будут рассмотрены два варианта искажения сигнала. Первый вариант — при проведении анализа на хроматограмме отсутствуют пики. Нет сигнала растворителя и/или других компонентов пробы, присутствующих в пробе в наивысшей концентрации. Второй вариант — отсутствие детектируемого сигнала как от компонентов, содержащихся в максимальной концентрации, так и от компонентов, присутствующих в меньшей концентрации.

При выявлении неполадок хорошо иметь под рукой специальную пробу, используемую для независимой проверки работы системы. В идеальном случае эта проба должна содержать компоненты, входящие в состав анализируемой пробы, причем концентрация их должна быть известной и достаточно высокой для надежного детектирования. Если при проведении анализа используется градуировочная смесь для идентификации пиков, то эту смесь можно использовать и в качестве проверочной.

В табл. 7-4 перечислены возможные причины, вызывающие подобное исчезновение пика или его изменение, начиная со стадии ввода пробы до обработки сигнала.

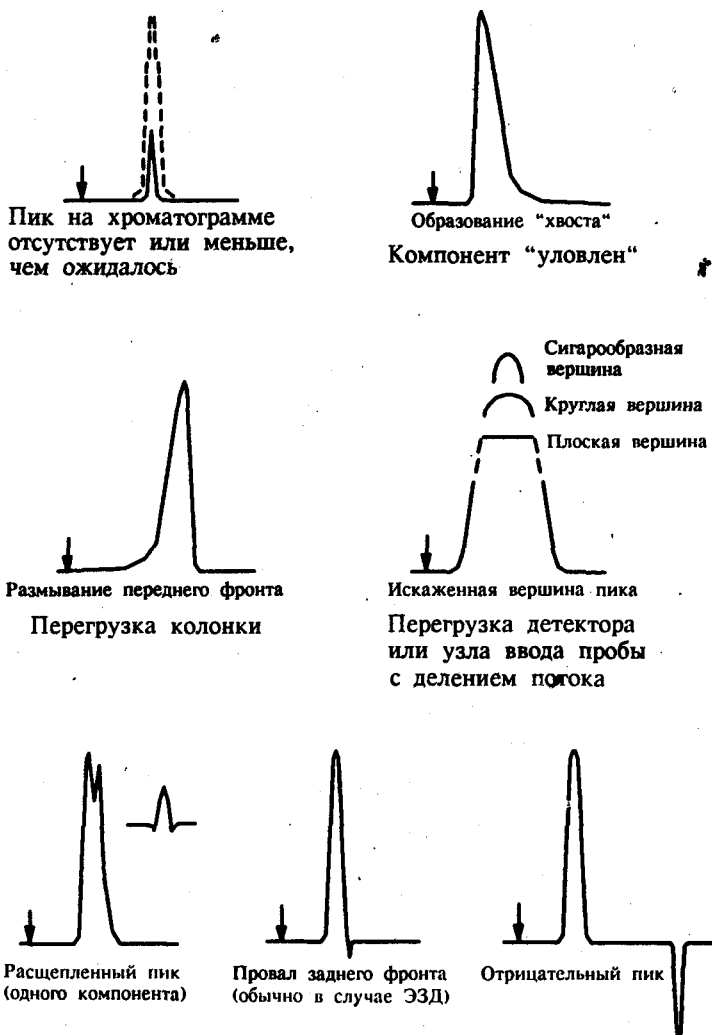


Рис. 7—2. Характерные искажения формы пика.

"Улавливание" компонентов (появление "хвостов")

Улавливание некоторых химических веществ может происходить в соответствии с одним или несколькими из следующих механизмов:

- 1) Механическое улавливание. Вещество задерживается в областях, плохо продуваемых газом-носителем;
- 2) Холодное улавливание. Вещество конденсируется в плохо нагреваемых областях;
- 3) Химическое улавливание. Вещество задерживается в областях, проявляющих химическое сродство к нему.

Механизмы улавливания различны, однако все они вызывают размывание заднего фронта пика (появление "хвоста") и/или снижение сигнала (уменьшение высоты и площади пика). Часто этот эффект не зависит от объема вводимой пробы и носит избирательный характер, т. е. проявляется для одних компонентов в большей степени, чем для других. Это объясняется прежде всего различной реакционной способностью компонентов пробы, их температурами кипения и т. д. В табл. 7-5 перечислены возможные причины, вызывающие, это явление, начиная со стадии ввода пробы до стадии детектирования.

В заключение следует отметить, что минимизировать размывание заднего фронта пика помогают прежде всего правильный выбор неподвижной фазы колонки, поддержание чистоты в системе, соблюдение рекомендаций производителя по установке колонки и других частей системы. Необходимо также по возможности не проводить никаких действий, которые могут повлиять на термическое поведение системы, внутренние объемы узлов, пути прохождения газов, и тщательно выбирать рабочие режимы температуры.

Перегруженные пики

Перегруженные пики появляются на хроматограмме при высокой концентрации определяемого вещества в пробе. Возникает перегрузка в узле ввода, колонке, детекторе и/или системе электронной обработки сигнала. Влияние перегрузки на форму пика зависит от того, в каком узле хроматографической системы она наблюдается.

В табл. 7-6 приведены возможные причины появления перегруженных пиков, начиная со стадии ввода пробы до стадии обработки сигнала.

В заключение следует отметить, что следует избегать ситуаций, вызывающих появление перегруженных пиков. Перегрузка приводит к искажению информации о пике (времени удерживания, площади и/или высоте). Перегрузка детектора и систем обработки сигнала особенно неблагоприятна, поскольку это приводит к необратимой потере информации.

Избежать появления перегруженного пика растворителя невозможно, поскольку проба содержит его в больших количествах. Поэтому при проведении количественных расчетов не рекомендуется использовать площадь и высоту пика растворителя. Это замечание тем более важно, что перегруженный пик растворителя плохо воспроизводится.

Таблица 7—4. Выявление причин уменьшения пика компонента на хроматограмме или его отсутствия

| | |
|---------------------------|--|
| Узел ввода пробы | <p>Возможен ряд проблем, связанных с неисправностью иглы шприца или самого шприца, например засорением иглы и/или течью между поршнем и цилиндром шприца.</p> <p>В системах автоматического ввода пробы искажения могут быть связаны с повреждением иглы. В системах автоматического ввода пробы необходимо проверить исправность механизма, с помощью которого поршень и шприц вводятся в сосуд с пробой или же в узел ввода. Следует проверить уровень жидкости в сосуде с пробой (игла шприца при отборе пробы должна быть погружена в жидкость). Если есть подозрение в неисправности автоматической системы ввода, следует для проверки ввести пробу вручную.</p> |
| Отверстие ввода пробы | <p>Наиболее вероятной причиной искажения является большая утечка пробы (неисправная "дырявая" прокладка или некачественное уплотнение колонки) или недостаточный поток газа-носителя. При вводе пробы с делением потока Причиной искажения может быть слишком высокий коэффициент деления потока; при вводе пробы без деления потока искажение сигнала может быть обусловлено излишне высокой скоростью продувки. При практически мгновенном испарении пробы отсутствие пика может быть вызвано недостаточно высокой температурой узла ввода пробы. При непосредственном вводе пробы в колонку причиной искажения может являться неправильная установка колонки (проба не попадает в колонку).</p> |
| Колонка | <p>Колонка должна быть установлена в соответствии с инструкцией по эксплуатации. Необходимо проверить, не забита ли колонка; для этого контролируют поток газа-носителя в детекторе. Следует также проверить герметичность подсоединения обоих концов колонки. Необходимо проверить, нет ли трещин на стеклянных или кварцевых колонках.</p> |
| Детектор | <p>Необходимо убедиться, что детектор находится в рабочем состоянии (например, наличие пламени в ПИД) и его электронная схема подключена. Для системы с несколькими детекторами следует проверить, правильно ли выход детектора подключен к системе обработки сигнала. Рекомендуется также проверить установку нуля электрометра, обеспечивающую небольшое положительное напряжение к системе электронной обработки сигнала.</p> |
| Система обработки сигнала | <p>Следует проверить правильность подсоединения кабеля и убедиться в том, что установленное деформирование сигнала согласуется с уровнем концентрации компонентов анализируемой смеси.</p> |

Таблица 7—6. Выявление неисправностей, приводящих к размыванию заднего фронта пика

| | |
|------------|--|
| Ввод пробы | <p>Во избежание химического улавливания следует следить за тем, чтобы все узлы, через которые проходит анализируемая смесь, были хроматографически чистыми. Для того, чтобы свести к минимуму проблемы, связанные с наличием необдуваемых газом-носителем зон, необходимо следовать рекомендациям фирм-производителей по установке колонок и замене различных частей и приспособлений. Не следует модифицировать узел ввода или его составные части. В тех узлах ввода, где предусмотрено мгновенное испарение пробы, холодное улавливание компонентов пробы может происходить из-за недостаточно высокой рабочей температуры или других проблем технического характера: плохой термоизоляции, удаления теплоизолирующих покрытий. Холодное улавливание возможно также в том случае, если узел ввода частично находится в термостате, а температура последнего существенно ниже, чем узла ввода.</p> |
| Колонка | <p>Во избежание химического улавливания при выборе неподвижной фазы необходимо учитывать химический состав анализируемой смеси. При неправильном выборе неподвижной фазы компоненты пробы могут практически постоянно адсорбироваться материалом неподвижной фазы.</p> |
| Детектор | <p>Так же, как и узел ввода пробы, детектор должен быть хроматографически чистым. Установка колонки, замена различных частей должна осуществляться в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя. Кроме того, температура детектора должна быть достаточно высокой.</p> |

Расщепленные пики

Как указывалось ранее, расщепленный пик, состоящий как бы из двух перекрывающихся пиков, может появиться на хроматограмме в том случае, когда вещество содержится в пробе в очень высокой концентрации как результат перегрузки детектора. Расщепление пика может быть также вызвано неправильным вводом пробы.

В идеальном случае проба вводится в колонку в виде одной зоны, размеры которой (ширина) минимальны. Для этого необходимо, чтобы ввод пробы шприцем носил однородный характер независимо от того, как вводится проба — автоматически или вручную. Если достичь плавного ввода пробы не удастся, то проба попадает в колонку в виде как минимум двух дискретных зон, что и приводит к расщеплению пика.

Расщепление происходит для всех компонентов пробы независимо от их относительного содержания в пробе. Однако оно более выражено для пиков с большими временами удерживания и проявляется для любой вводимой пробы. Этот факт вновь подтверждает необходимость иметь известную стандартную смесь, применение которой позволит выявить неисправность.

Наличие расщепленных пиков приводит к искажению результатов анализа, поскольку ширина пиков и/или их площадь не соответствуют истинным значениям. Часто расщепление пика при вводе пробы обусловлено неисправностью поршня шприца (или ротора вентиля в системе ввода с вентилем). Происходит неравномерное выталкивание пробы. В автоматических системах ввода пробы следует обратить внимание на механизм ввода. При вводе пробы вручную следует всегда использовать правильную методику.

Таблица 7-6. Выявление причин, приводящих к появлению перегруженных пиков

| | |
|-------------------|---|
| Узел ввода | Перегрузка в узле ввода приводит к чрезмерному размыванию заднего фронта пика. Избыточное количество пробы возвращается в плохо продуваемые области узла пробы. Вещество медленно элюируется из этих зон, вызывая наличие "хвостов" у перегруженных пиков. При устранении перегрузки в узле ввода следует иметь в виду, что этот эффект проявляется только для компонентов, концентрация которых очень высока. Степень размытости заднего фронта такого пика зависит от объема вводимой пробы, поэтому, если возможно, следует уменьшить объем пробы. |
| Колонка | В случае перегрузки колонки наблюдается размывание переднего фронта пика (передняя часть пика более пологая, чем задняя). Перегрузка колонки зависит от объема вводимой пробы, поэтому по возможности следует уменьшить ее объем. В качестве альтернативы, если разрешение пиков не является лимитирующим фактором, следует использовать колонки большей емкости (с более толстым слоем неподвижной фазы). |
| Детектор | Перегрузка детектора проявляется на хроматограмме наличием больших пиков с закругленной вершиной или расщепленных пиков. Пики с закругленной вершиной появляются из-за того, что сигнал детектора слишком сильно отклоняется от линейности. Расщепленные пики возникают из-за того, что детектор как бы "захлебывается" большим количеством проходящей пробы (например, происходит временная карбонизация активного элемента АФД). Все эти проблемы тем острее, чем меньше динамический диапазон детектора. Рекомендуется по возможности уменьшать объем вводимой пробы или использовать более разбавленные растворы. |
| Обработка сигнала | Если выходной сигнал детектора превышает входную емкость системы обработки сигнала, то на хроматограмме появляются обрезанные пики, т.е. пики с плоскими вершинами. Рекомендуется по возможности подстроить выходной сигнал детектора так, чтобы даже самые большие пики давали сигналы, соизмеримые с диапазоном электронной схемы обработки сигнала. |

Инвертированные (отрицательные) пики

Наличие отрицательных пиков обычно вызвано обратной полярностью системы обработки сигнала. Это может произойти из-за нарушения полярности при подключении детектора по теплопроводности или кабеля системы обработки сигнала.

Существуют также причины хроматографического характера, которые вызывают появление отрицательных пиков на хроматограмме:

- 1) Компоненты пробы имеют более высокую теплопроводность, чем газ-носитель.
- 2) Неправильная компенсация нулевой линии колонки.
- 3). Кратковременная перегрузка детектора.
- 4) Неверная установка нуля выходного сигнала электрометра или электронной части системы обработки сигнала.
- 5) Наличие химически активного центра (или центров) в детекторе по теплопроводности.

Наличие отрицательных пиков часто приводит к искажению аналитических данных, поскольку при этом нарушается нулевая линия и даже уменьшается площадь истинных пиков с тем же временем удерживания. Даже если этого не происходит, наличие отрицательных пиков на хроматограмме приводит к ухудшению воспроизводимости анализа. В табл. 7-7 перечислены основные причины, вызывающие появление отрицательных пиков.

Заключение

Для получения достоверных результатов хроматографического анализа, особенно при высоких требованиях к правильности и воспроизводимости количественного определения (определение площади и высоты пика), важно, чтобы форма пика была как можно ближе к идеальной. Это достигается при правильном выборе и установке колонки, герметичности системы, правильном подборе объема вводимой пробы и учете концентрации компонентов в ней, подходящем температурном режиме и т.д.

Устройства, применяемые для соединения колонок

Для соединения двух колонок могут применяться специальные механические устройства. Цепи, преследуемые при соединении колонок, могут быть различны:

- Соединение колонок осуществляется для того, чтобы использовать сломанную дорогостоящую аналитическую колонку.
- С целью "настройки" полярности неподвижной фазы соединяют части колонки с различными неподвижными фазами.
- Иногда соединяют колонки с различным внешним диаметром (присоединение аналитической колонки к соединительной линии или предколонке).

Целостность колонки в месте соединения нарушена, поэтому следует иметь в виду, что устройство, применяемое для сочленения колонок, должно оказывать минимальное воздействие на качество хроматографического анализа." При выборе устройства для соединения колонок следует учитывать критерии, перечисленные в табл. 7-8.

Независимо от того, какой тип устройства выбран для соединения колонок, необходимо соблюдать рекомендации фирмы-изготовителя по установке колонок и выбору деталей (таких, как уплотнительные муфты — феррулы). Неправильное подсоединение концов колонки практически всегда приводит к отрицательным последствиям (отсутствие герметичности, сильное размывание заднего фронта пика, отсутствие сигналов для некоторых компонентов пробы и т.д.).

Перед подсоединением колонки важно соответствующим образом обработать ее концы. Они должны быть ровно отрезаны и тщательно очищены от заусениц и крошек материала колонки. Фирмы-изготовители колонок представляют рекомендации по соответствующей обработке концов колонок непосредственно перед установкой.

Таблица 7-7. Выявление неисправностей в хроматографической системе, приводящих к появлению отрицательных пиков

| | |
|-----------------------|--|
| Компенсация колонки | При проведении компенсации колонки) даже в случае соответствия колонки и детекторов или электронной системы, на хроматограмме могут появиться отрицательные (и положительные) пики, если нулевые линии для стандарта и анализируемой пробы не соответствуют друг другу. Чтобы убедиться в этом, следует провести холостой . опыт (без введения пробы) с компенсацией колонки. В идеальном случае нулевая линия должна быть ровной. Если нулевая линия искажена (наблюдаются пики, беспорядочный дрейф нулевой и/или обычный дрейф), необходима: принять соответствующие меры. 1 |
| Перегрузка детектора | При использовании селективных детекторов, таких, как ЭЗД, АФД, ПФД и т.д., наличие положительных и отрицательных пиков, искажающих нулевую линию, может быть вызвано присутствием^ в пробе большого количества вещества (например, растворителя), не специфичного для данного детектора. Детектор полностью "насыщается" этим веществом. Поскольку этой ситуации, как правило, не удастся избежать, следует подбирать растворитель или другие компоненты пробы с высокой концентрацией таким образом, чтобы их времена удерживания существенно отличались от времен удерживания представляющих интерес соединений. |
| Установка нуля | Установку нуля выходного сигнала детектора или системы обработки сигнала следует проводить тогда, когда вещества не элюируются из колонки, а следовательно, сигнал соответствует хроматографической нулевой линии. Если установка нуля проводится во время элюирования компонентов предыдущей анализируемой пробы, то при проведении текущего анализа на нулевой линии может наблюдаться дрейф в отрицательном направлении или отрицательные пики. При необходимости следует периодически проводить кондиционирование хроматографической системы при повышенной температуре с тем, чтобы "выжечь" накопившиеся в ней сильно удерживаемые компоненты. |
| Химическая активность | При использовании ДТН отрицательные пики могут появиться в результате взаимодействия компонентов пробы с химически активными центрами внутри детектора. Изменение теплопроводности, вызванное этими взаимодействиями, приводит к появлению на хроматограмме отрицательных пиков. Если есть подозрение, что отрицательные пики вызваны именно этой причиной, можно дезактивировать активные центры путем многократного введения вещества (в высокой концентрации), которое по своей химической природе сходно с компонентом, вызывающим появление отрицательных пиков. |

Таблица 7—8. Проблемы, возникающие при соединении колонок

| | |
|--|---|
| Наличие плохо продуваемых объемов | При плохом соединении концов колонок с помощью устройства для соединения могут образовываться плохо продуваемые зоны. В этих зонах могут улавливаться компоненты пробы, что приводит к появлению на хроматограмме пиков с размытым задним фронтом ("хвост"). |
| Взаимодействие компонентов пробы с уплотнительной муфтой | Взаимодействие пробы с уплотнительной муфтой должно быть минимальным, поскольку материал, из которого сделана муфта, часто обладает химической активностью, особенно при повышенных температурах. При контакте с муфтой может произойти химическое изменение компонентов пробы или адсорбция. |
| Термическая масса устройства для соединения колонок | Термическая масса устройства для соединения капиллярных колонок может быть значительно больше, чем термическая масса самих колонок. Поэтому при 'быстром подъеме температуры термостата в случае программирования температуры или быстром охлаждении (подготовка в проведении следующего анализа) температура устройства для соединения колонок может запаздывать, что приводит к образованию горячих или холодных зон. |

Литература

1. *Hewlett-Packard*. 1970. Logical Troubleshooting in Gas Chromatography. Publication No. 43-5950-8211.
2. *Hyver K. J., Dillard R. L., Gearhart R. C., Ryder B. L.* October 1985. HP Technical Paper No. 112. Publication No. 43-5953-1896.
3. *Dillard R. L., Gearhart R. C.* April 1986. HP Application Note 228-46. Publication No. 43-5954-7577.
4. *Hinshaw J.* 1987. LC-GC, 5, 790-794.
5. *Hinshaw J.* 1987. LC-GC, 5, 954-960.
6. *Hinshaw J.* 1988. LC-GC, 6, 24-29.
7. *Ibid.*, 228-231.
8. *Ibid.*, 794-798.

Применение капиллярной газовой хроматографии

У. Дж. Сандерс

Последнее десятилетие ознаменовалось большими успехами в области технологии хроматографического оборудования и колонок. В результате этого высокоэффективная ГХ стала широко применяться на практике. В настоящее время ГХ используется практически во всех отраслях промышленности. Ограничениями для применения капиллярной хроматографии являются только молекулярная масса и термическая стабильность компонентов пробы. Используя разные методы ввода пробы, можно анализировать широкий спектр химических проб.

В этой главе будут рассмотрены примеры приложения высокоэффективной газовой хроматографии для основных областей промышленности и в различных исследовательских работах. Будут приведены примеры использования капиллярной газовой хроматографии в нефтехимической, химической, фармацевтической, пищевой промышленности, отраслях производства товаров народного потребления, а также медицине, биохимии и анализе объектов окружающей среды.

Применение капиллярной газовой хроматографии в химической и нефтехимической промышленности

Нефтехимическая промышленность может быть подразделена на три основные отрасли — нефтехимия сырых (исходных) веществ, процессы переработки нефти и получение химических продуктов из нефти (рис. 8-1). Ниже приведены примеры, иллюстрирующие наиболее частое применение кварцевых капиллярных колонок в нефтехимии.

Имитированная дистилляция

Имитированная дистилляция — метод газохроматографического анализа, широко используемый для распределения фракций нефти по температурам кипения [1, 2]. Имитированная дистилляция имеет несколько решающих преимуществ по сравнению с перегонкой под вакуумом (стандарт Д-1160 Американского общества по испытанию материалов) и определением истинных температур кипения (в соответствии со стандартом Д-2892 Американского общества по испытанию материалов). Метод имитированной дистилляции с помощью газовой хроматографии (стандарт Д-2887 Американского общества по испытанию материалов) позволяет проводить анализ нефтяных продуктов не только быстрее и с большей степенью точности, но и требует для осуществления меньшего количества анализируемых веществ.

Традиционный метод имитированной дистилляции (стандарт Д-2887) предполагает использование насадочных колонок. Однако экономические требования, предъявляемые в настоящее время к тяжелым сырым нефтям, по существу привели к тому, что возможности этого метода оказались практически исчерпанными. Кроме того, большинство специалистов-нефтяников хотели бы использовать один и тот же метод для охарактеризования легких и тяжелых фракций нефти (от C_1 до C_{120}) и проводить анализ на одном приборе. Достичь этого с помощью насадочных колонок не представляется возможным.

В работе [3] продемонстрированы практические преимущества использования капиллярных колонок для проведения имитированной дистилляции.

Для охарактеризования тяжелых фракций нефти (рис. 8-2) использовали газовый хроматограф с высокотемпературным термостатом. Осуществляли непосредственный ввод пробы в широкую кварцевую капиллярную колонку со сшитой метилсиликоновой НФ. Условия проведения анализа приведены в табл. 8-1. Предложенная схема газохроматографического анализа имеет два решающих преимущества по сравнению с традиционным методом анализа. Во-первых, введение пробы непосредственно в колонку исключает разложение термически лабильных компонентов и искажение результатов за счет дискриминации пробы в узле ввода. Во-вторых, можно подобрать такую колонку, которая подходила бы для проведения имитированной дистилляции (табл. 8-2). Используя один метод анализа, можно успешно проводить анализ как летучих, так и тяжелых фракций нефти, температура кипения которых превышает 750°C (рис. 8-3).

Используя кварцевую капиллярную колонку длиной 5 м и внутренним диаметром 0,53 мм с тонким слоем НФ, имеющую высокотемпературное покрытие из полиимида или алюминия, можно провести анализ тяжелых фракций нефти — тяжелых сырых нефтей, мазутов, асфальтенов. Идеальной градуировочной смесью является Поливокс 655 с добавкой n-парафинов C_{12} — C_{18} (рис. 8-3). На рис. 8-4 представлена градуировочная кривая, полученная при проведении имитированной дистилляции Поливокса 655. Времена удерживания на этой кривой соответствуют температуре кипения углеводов C_{14} — C_{108} .

Таблица 8-1. Условия проведения высокотемпературной имитированной дистилляции методом капиллярной газовой хроматографии (колонка 5м x 0,53 мм; НФ поперечносшитый метилсиликов, 0,1мкм)

| Типичный температурный режим | | Градуировка системы | |
|-----------------------------------|------------|---------------------------|--------------------------|
| Исходная температура | 40-С | Стандарт „» | поливокс 655 |
| Выдержка при исходной температуре | 0 мин | Диапазон градуировки | ~ C_{14} — C_{100} |
| Скорость подъема температуры | 6 град/мин | Растворитель | CS_2 или толуол |
| Конечная температура | 430°С | Концентрация стандарта | 8 г/л |
| Выдержка при конечной Температуре | 5 мин | Периодичность градуировки | •1-2 раза в сутки |
| Время приведения системы в | 8 мин | | |

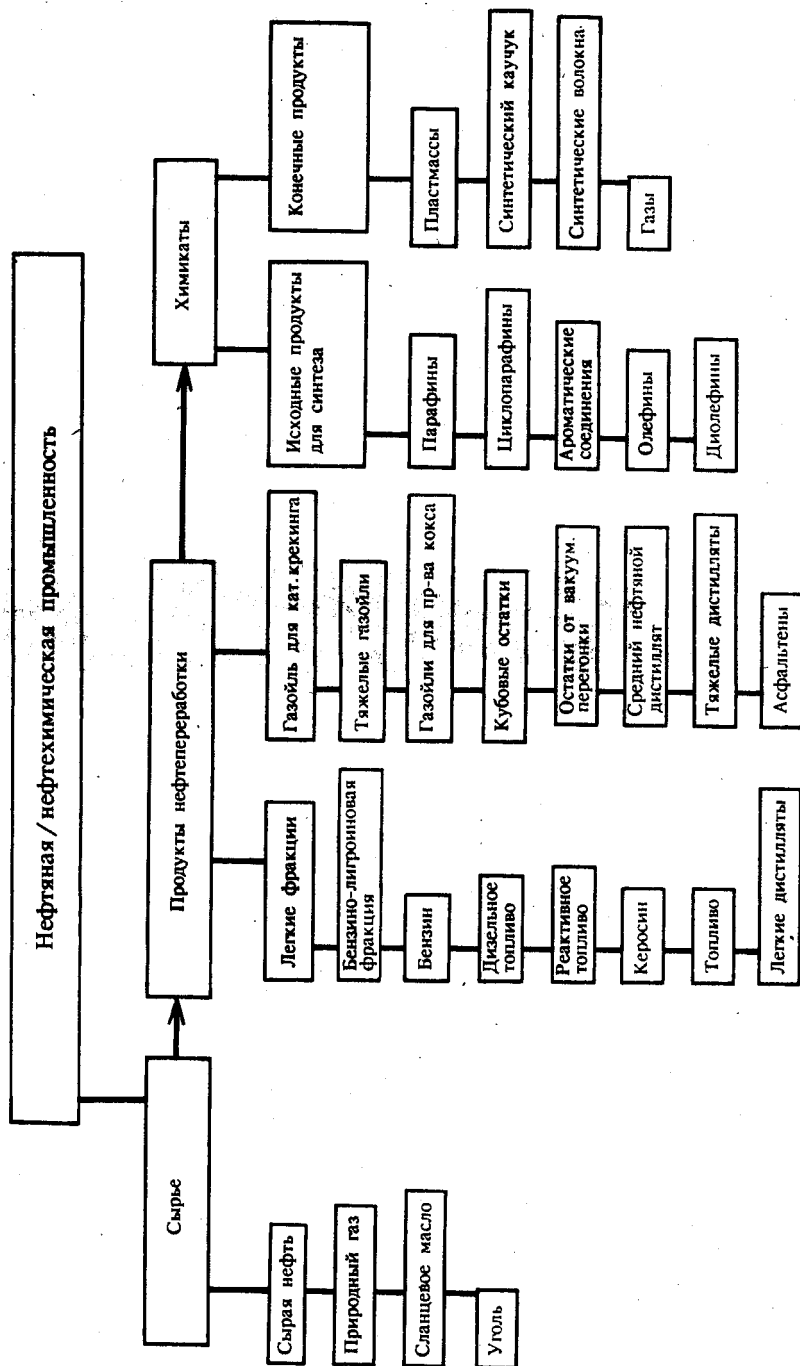


Рис. 8-1. Сырье и продукты нефтяной и нефтехимической промышленности.

Таблице 8-2. Капиллярные колонки, используемые при проведении имитированной дистилляции

| Размеры; толщина слоя НФ | Метод | Основа пробы |
|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 5м x 0,53 мм; 0,25 мкм | D-2887/Ext D-2887 | Сырая нефть |
| 15м x 0,53 мм; 0,88 мкм | Легкие фракции + Ext D-2887 | Легкие фракции/ сырая нефть |
| 30м ж 0,53 мм; 5,0 мкм | D-3710 | Бензин |
| 5м x 0,53 мм; 0,1 мкм | Высокотемпературный анализ | Тяжелая сырая нефть |

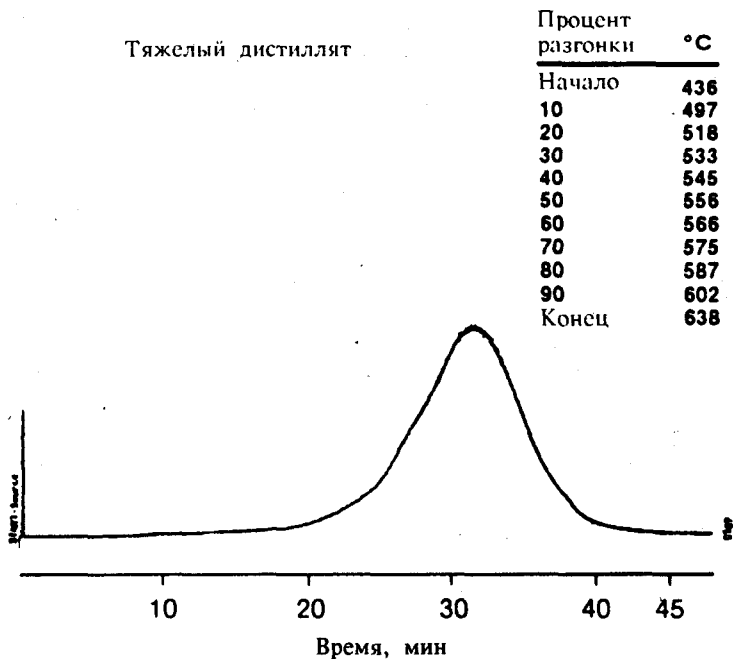


Рис. 8—2. Результаты проведения имитированной дистилляции тяжелого дистиллята. Программирование температуры от 35 до 400°C (10 мин) со скоростью подъема температуры 10 град/мин; колонка 5м x 0,53 мм, НФ НР, d_f 0,88 мкм.

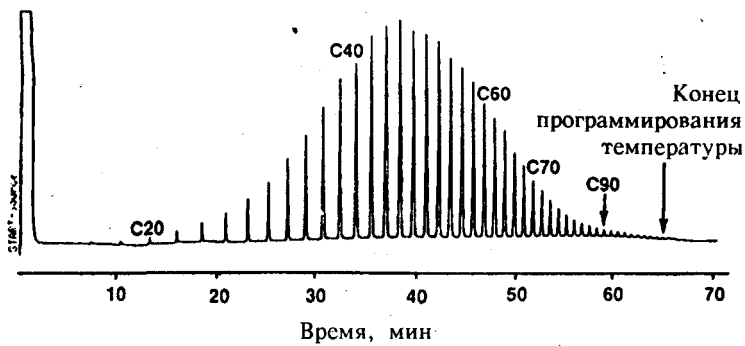


Рис. 8-3. Высокотемпературная имитированная дистилляция градуировочного стандарта Поливокс 655. Условия проведения анализа см. табл.8-1.

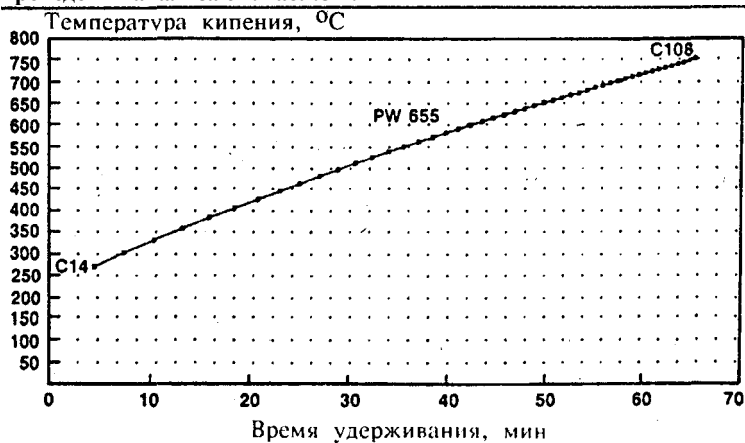


Рис. 8-4. Градуировочный график для Поливокс 655. Колонка 5м x 0,53 мм, ЙФ сшитый метилсиликон, d_f 0,1 мкм.

Таблица 8-3. Воспроизводимость определения парафиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов

| Определяемый компонент | Легкий лигроин | | Тяжелый лигроин | | Нафта | | Продукт риформинга | |
|--|----------------|----------|-----------------|----------|-------------|----------|--------------------|----------|
| | М(6), об. % | σ, Об. % | М(5), об. % | σ, об. % | М(6), об. % | σ, об. % | М(5), об. % | σ, об. % |
| щее содержание парафиновых углеводородов | 70,24 | 0,12 | 60,98 | 0,20 | 57,93 | 0,12 | 12,14 | 0,13 |
| Общее содержание нафтеновых углеводородов | 15,72 | 0,05 | 10,51 | 0,23 | 25,61 | 0,14 | 12,15 | 0,03 |
| Общее содержание ароматических углеводородов | 14,04 | 0,11 | 28,51 | 0,17 | 16,46 | 0,03 | 75,72 | 0,11 |
| Парафиновые углеводороды: | | | | | | | | |
| Сз-С» | 2,22 | 0,04 | 0,00 | 0,00 | 0,92'' | 0,009 | 0,00 | 0,00 |
| Св - | 17,26 | 0,20 | 0,07 | 0,004 | 2,45 | 0,008 | 0,68 | 0,03 |
| С7 | 13,63 | 0,09 | 0,21 | 0,007 | 6,39 | 0,013 | 3,28 | 0,07 |
| С8 | 16,19 | 0,14 | 0,55 | 0,01 | 13,66 | 0,12 | 2,93 | 0,02 |
| С9 | 20,94 | 0,41 | 60,15 | 0,20 | 34,56 | 0,08 | 5,24 | 0,15 |
| Нафтеновые углеводороды: | | | | | | | | |
| Се | 0,50 | 0,008 | 0,00 | 0,00 | 0,06 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Св | 2,85 | 0,03 | 0,00 | 0,00 | 1,89 | 0,008 | 0,03 | 0,004 |
| От | 4,06 | 0,02 | 0,13 | 0,004 | 7,99 | 0,02 | 1,64 | 0,05 |
| Св | 3,88 | 0,04 | 0,26 | 0,017 | 8,40 | 0,03 | 0,02 | 0,015 |
| С9 | 4,42 | 0,04 | 10,12 | 0,25 | 7,28 | 0,15 | 10,44 | 0,08 |
| Ароматические углеводороды: | | | | | | | | |
| Св | 0,90 | 0,03 | 0,07 | 0,004 | 0,60 | 0,005 | 0,86 | 0,03 |
| Ст | 2,96 | 0,06 | 0,53 | 0,017 | 3,92 | 0,02 | 17,71 | 0,17 |
| Св | 4,14 | 0,03 | 2,47 | 0,14 | 5,88 | 0,02 | 31,13 | 0,11 |
| С9 | 6,04 | 0,15 | 25,44 | 0,18 | 6,05 | 0,04 | 26,00 | 0,16 |

Структурно-групповой анализ углеводородов¹

При проведении переработки нефти важно определить классы углеводородов, содержащихся в легких дистиллятах и бензиновой фракции. В качестве стандартного метода анализа уже более 25 лет используется метод, основанный на поглощении флуоресценции, — метод ASTM D1319 [4]. Применение этого метода не обеспечивает определения содержания циклопарафинов и не позволяет проводить идентификацию отдельных компонентов. Кроме того, при проведении анализа могут быть получены искаженные результаты. Более совершенный анализ, включающий определение нафтенов, осуществляется с помощью масс-спектрометрии (стандартный метод ASTM D2789 [5]). Однако высокая стоимость секторных магнитных масс-спектрометров делает нецелесообразным использование этого метода в рутинном анализе.

В настоящее время при проведении структурно-группового анализа углеводородов методом ВЭГХ используются два подхода. Разработаны методы, предусматривающие осуществление анализа с помощью одной капиллярной колонки или многомерной хроматографии. В этом разделе будут рассмотрены оба подхода, оценены их достоинства и недостатки, а также проведено сравнение со стандартным масс-спектрометрическим определением. Применение этих методов рассмотрено также в работе [6].

Анализ парафиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов был проведен Сэдлером [7] с использованием одной капиллярной SCOT-колонки с НФ DC-550. Использовали пакет программ, выполненных по специальному заказу. Разработан метод анализа с использованием высокоэффективной WCOT-колонки с толстым слоем НФ. Разделение изомеров может быть осуществлено на колонке длиной 50 м и диаметром 0,2 мм, на стенки которой нанесена пленка иммобилизованной метилсиликонбвой НФ толщиной 0,5 мкм. Используя стандартные смеси, содержащие 103 или 215 насыщенных и ароматических углеводородов, можно провести градуировку ГХ системы.

Условия анализа оптимизируют таким образом, чтобы провести наиболее эффективное разделение компонентов C₃ — C₁₁.

На рис. 8-5 приведена типичная хроматограмма образца лигроиновой фракции нефти. В табл. 8-3 сведены данные о воспроизводимости результатов анализа четырех различных образцов.

Различают три типа структурно-группового анализа : 1) анализ парафиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов — PNA; 2) анализ парафиновых, нафтеновых, олефиновых и ароматических углеводородов — PONA и 3) анализ парафиновых, изопарафиновых, олефиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов — PIONA.

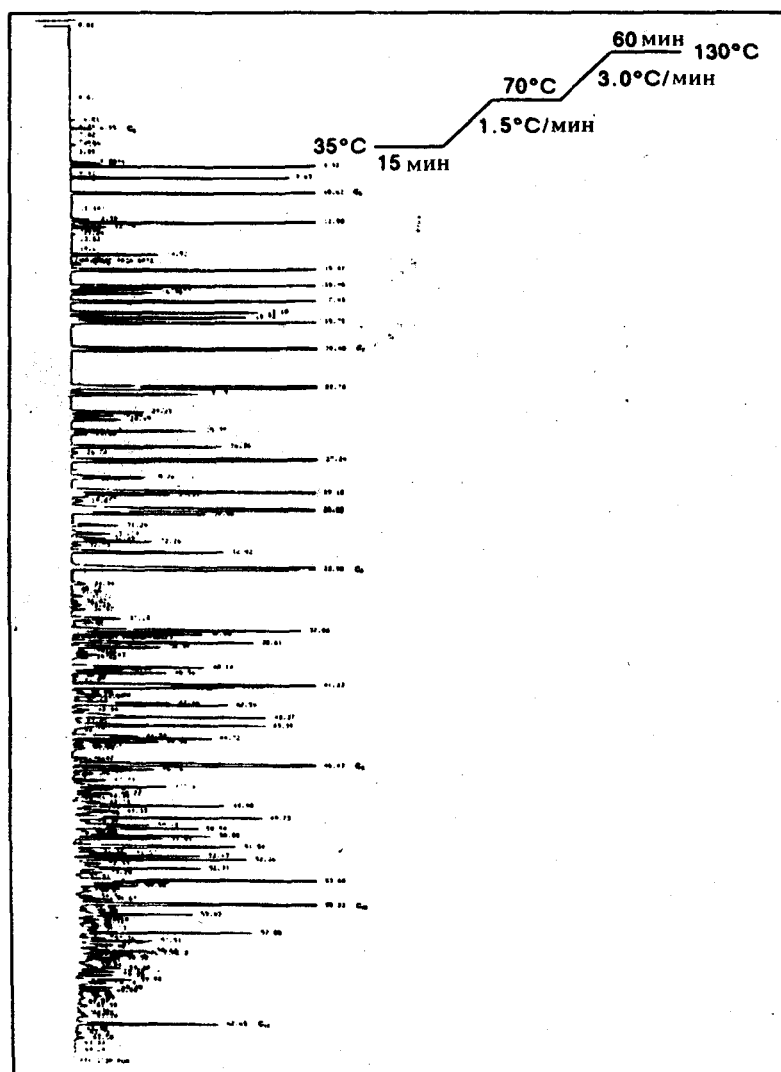


Рис. 8—5. Характерная хроматограмма лигроиновой фракции нефти. Условия анализа: кварцевая капиллярная колонка 50м ж 0,2 мм, НФ иммобилизованная метилсиликоновая фаза, df 0,5 мкм, газ-носитель ^4He (20 см/с), объем пробы 1 мкл, коэффициент деления потока 400:1, температура узла ввода 250°C, температура детектора 300°C. Программирование температуры: 35°C (15 мин), подъем температуры до 70°C со скоростью 1,5 град/мин, далее повышение температуры до 130°C со скоростью 3 град/мин.

Таблица 8-4. Сравнение результатов (об.%) структурно-группового анализа парафиновых, нафтеновых и ароматических углеводородов газохроматографическим и стандартным масс-спектрометрическим методами

| Определяемый компонент | Лигроиновая фракция 1 | | Лигроиновая фракция 2 | |
|--|-----------------------|-------|-----------------------|------|
| | ГХ | МС* | ГХ | МС* |
| Общее содержание парафиновых углеводородов | 52,20 | 53,62 | 54,60 | 53,6 |
| Общее содержание нафтеновых углеводородов | 32,46 | 31,34 | 34,68 | 35,5 |
| Общее содержание ароматических углеводородов | 15,35 | 14,54 | 10,71 | 10,9 |

* Стандартный масс-спектрометрический анализ (ASTM D2789) образцов 1 и 2 проводился различными лабораториями.

Сопоставление результатов ГХ и стандартного масс-спектрометрического методов представлено в табл. 8-4.

Фирма Analytical Controls (Дельфт, Нидерланды) разработала универсальную автоматическую ГХ-систему, позволяющую проводить все три указанных выше типа структурно-группового анализа. Это сложная многоколоночная система с кранами-переключателями потоков, причем переключатели потоков вмонтированы в термостат хроматографа. Сообщалось, что система характеризуется высокой воспроизводимостью. В работе [9] предложен новый подход к проведению структурно-группового анализа лигроиновой фракции. Применяются специальные PLOT-КОЛОНКИ и единственный кран-переключатель, что позволяет

проводить экспресс-анализ. На рис. 8-6 представлена схема этой системы.

В качестве соединительных линий использовали трубки из нержавеющей стали внешним диаметром 1,6 мм и внутренним диаметром 0,38 мм. Предколонка помещена в специальный обогреваемый кожух, нагрев которого регулируется дополнительным нагреванием при 430°C. Дополнительный нагреватель помещен в термостат хроматографа. В качестве аналитической колонки используется PLOT-колонка с молекулярными ситами 13X, модифицированными гидроксидом калия. Предколонка с молекулярными ситами 13X, обработанными марганцем, имеет длину 1,6 м. Кондиционирование колонок проводили при программировании температуры до 450°C.

Для того чтобы обеспечить элюирование компонентов пробы из обладающих высокой адсорбционной способностью PLOT-колонок, проводили модифицирование газового хроматографа. В результате проводили анализ при температуре выше 450°C. Пробу объемом 1 мкл автоматически вводили с использованием стандартного делителя потока (коэффициент деления потока 75:1) в предколонку. Для снижения давления в качестве газа-носителя использовали водород или гелий. Насыщенные углеводороды быстро элюируются из предколонки и поступают в аналитическую колонку. Непосредственно перед элюированием бензола из предколонки переключатель переводится в состояние "включено", и в результате обратной продувки ароматические соединения одним пиком попадают в пламенно-ионизационный детектор; при этом продолжается разделение насыщенных соединений в аналитической колонке.

Типичная хроматограмма лигроиновой фракции представлена на рис. 8-7. Нафтены и парафины хорошо разделяются, причем разрешение изомерных и нормальных парафинов удовлетворительно для всех углеводородов до C₁₂. Продолжительность анализа составляет всего 15 мин. В табл. 8-5 представлены данные, позволяющие провести сравнение результатов анализа методом фирмы Analytical Controls и описанным методом с использованием одной WCOT-колонки.

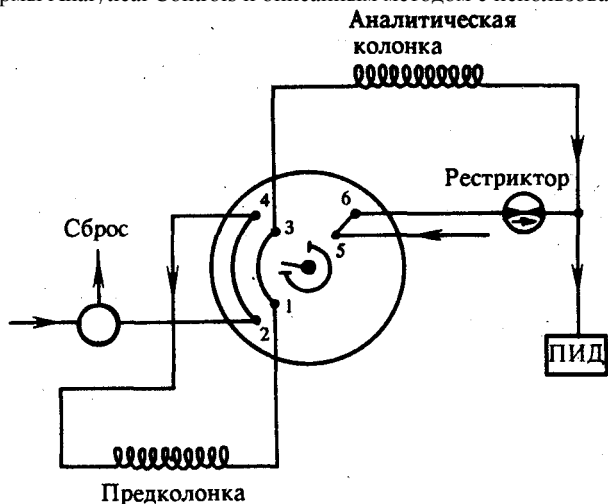


Рис. 8-6. Система многомерной ГХ для анализа лигроиновой фракции нефти.

Таблица 8-5. Сравнение результатов структурно-группового анализа фракций нефти различными методами

| Определяемый компонент | Сырье риформинга, масс. % | | | Фракция после риформинга, масс. % | | |
|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------------|
| | ГХ с WCOT-КОЛОНКАМИ | Система фирмы Analytical Controls | ГХ с PLOT-КОЛОНКАМИ | ГХ с WCOT-КОЛОНКАМИ | Система фирмы Analytical Controls | ГХ с PLOT-КОЛОНКАМИ |
| Общее содержание нафтен и парафинов | 26,71 | 23,84 | 26,69 | 15,02 | 13,44 | 15,26 |
| Общее содержание изопарафинов | 30,50 | 31,34 | 29,47 | 33,31 | 32,78 | 31,84 |
| Общее содержание нафтен | 25,57 | 29,77 | 28,12 | 5,57 | 3,89 | 3,68 |
| Общее содержание ароматических | 17,26 | 15,06 | 15,75 | 46,13 | 49,87 | 49,25 |
| Нафтены C ₅ | 0,10 | 0,10 | 0,12 | — | 0,10 | 0,12 |
| Парафины C ₅ | 0,16 | 0,05 | 0,14 | 2,01 | 1,56 | 1,75 |
| Нафтены C ₆ | 4,40 | 3,78 | 4,12 | 1,51 | 1,40 | 1,42 |
| Изопарафины C ₆ | 5,43 | 4,46 | 4,40 | 8,38 | 7,37 | 7,53 |
| н-Парафины C ₆ | 6,60 | 5,11 | 6,32 | 5,28 | 4,28 | 5,45 |
| Нафтены C ₇ | 6,97 | 6,44 | 7,12 | 1,12 | 1,15 | 1,18 |
| Изопарафины C ₇ | 6,90 | 6,09 | 6,56 | 10,67 | 9,90 | 10,08 |
| м-Парафины C ₇ | 6,48 | "-5,59 | 6,81 | 3,95 | 3,56 | 4,54 |
| Нафтены C ₈ | 6,69 | 7,03 | 7,51 | 1,17 | 0,72 | 0,67 |

| | | | | | | |
|-----------------------------|------|-------|------|------|------|------|
| Изопарафины C ₈ | 7,29 | 7,02 | 7,21 | 6,58 | 7,95 | 8,18 |
| н-Парафины C ₈ | 5,68 | 5,18 | 5,82 | 2,02 | 1,97 | 2,33 |
| Нафтены C ₉ | 7,41 | 12,45 | 9,25 | 1,77 | 0,52 | 0,29 |
| Изопарафины C ₉ | 6,59 | 6,38 | 6,10 | 3,90 | 4,90 | 4,47 |
| н-Парафины C ₉ | 4,42 | 4,26 | 4,70 | 0,87 | 0,90 | 0,96 |
| Изопарафины C ₁₀ | 4,29 | 7,34 | 5,20 | 3,51 | 2,66 | 1,58 |
| н-Парафины C ₁₀ | 3,37 | 3,65 | 2,91 | 0,89 | 1,20 | 0,23 |

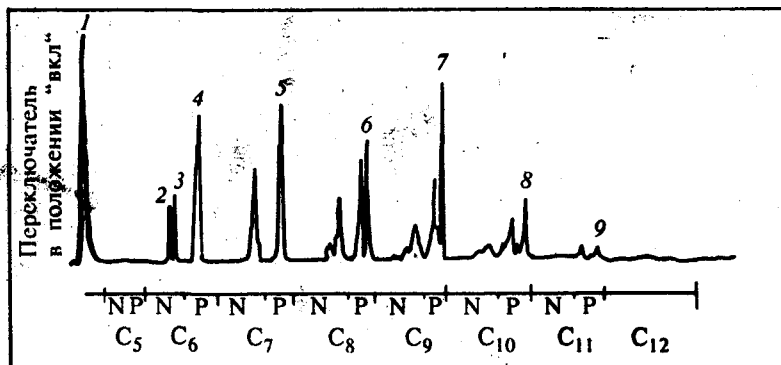


Рис. 8-7. Хроматограмма лигроиновой фракции нефти. Температура предколонки 430°C; аналитическая PLOT-колонка с молекулярными ситами 13X; программирование температуры с 160 до 250°C со скоростью 20 град/мин; газ-носитель гелий (4,5 мл/мин). Объем пробы 0,15 мл, коэффициент деления потока 20:1.

I — суммарный пик ароматических углеводородов; S — циклогексан;
3 — метилциклопентан; 4 — м-гексан; 5 — п-гептан; S — н-октан; 7 — н-нонан; 8 — н-декан; 9 — н-ундекан; P — парафиновые углеводороды, N — нафтеновые углеводороды

Определение серусодержащих компонентов в лигроиновой фракции нефти

Обнаружение и последующее удаление серусодержащих компонентов из нефтяного сырья играет большую роль в процессах нефтепереработки. Это вызвано тем, что серусодержащие компоненты отравляют катализаторы, используемые в процессах нефтепереработки. Поэтому обнаружение и количественное определение соединений серы чрезвычайно важно. Селективное детектирование следовых количеств соединений серы в сложных углеводородных смесях, какой является бензино-лигроиновая фракция нефти, может быть достигнуто путем использования ГХ с пламенно-фотометрическим детектированием. Разделение может быть оптимизировано, если использовать высокоэффективные капиллярные колонки, разработанные специально для анализа бензино-лигроиновой фракции (см. предыдущий раздел). В табл. 8-6 приведены условия определения серусодержащих соединений в нефтяных фракциях.

Таблица 8-6. Условия определения серы в нефтяных фракциях

| №зоны | Нагреваемые зоны | Температура, °С |
|--|--|--|
| 1 | Входное отверстие зоны предварительного фракционирования | 340 |
| 2 | Соединительная линия | 200 |
| 3 | Капиллярный ввод | 340 |
| 4 | Вентиль | 290 |
| 5 | пид | 350 |
| 6 | ПФД | 280 |
| Аналитическая колонка | | 50м x 0,2 мм, df 0,5 мкм |
| НФ | | Поперечно-сшитый диметилсиликон |
| Колонки зоны предварительного функционирования | | 60 см x 3 мм, 5% OV-101 30см x 3 мм, молекулярные сита |
| Газ-носитель | | Гелий, 20 см/с |
| Коэффициент деления потока | | 400:1 |
| Объем вводимой пробы | | 1 мкл или 2 мкл (ввод вручную) |
| Температурный профиль термостата: | | |
| Начальная температура | | 50°C |
| Выдержка при начальной температуре | | 0,5 мин |
| Режим программирования 1: | | 18 град/мин до 170°C |
| Режим программирования 2: | | 3 град/мин до 300°C |
| Выдержка при конечной температуре | | 2 мин |
| Детекторы: | | |
| ПФД | | |

| | |
|---------------------|------------------|
| Фильтр | сера, 393 нм |
| Расход воздуха | 100 мл/мин |
| Расход водорода | 75 мл/мин |
| ПИД | |
| Расход воздуха | 400 мл/мин |
| Расход водорода | 30 мл/мин |
| Вспомогательный газ | Азот (30 мл/мин) |

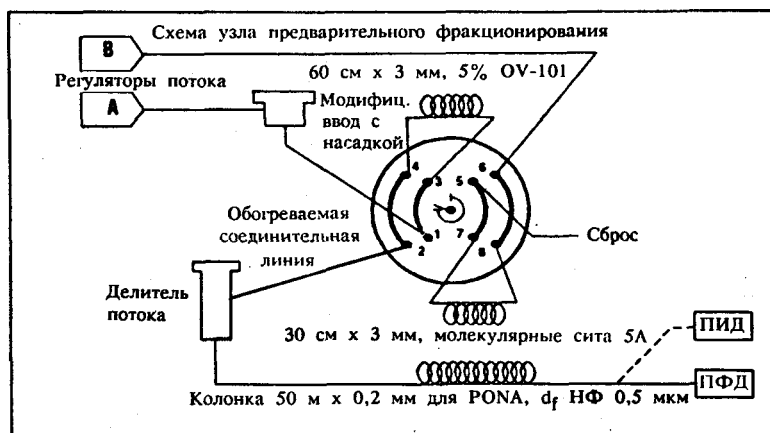


Рис. 8—8. Система с предварительным фракционированием для определения серы в нефтяных фракциях.

Для определения тиофена в тяжелых фракциях нефти и сырых нефтях может быть использована специальным образом модифицированная ГХ-система с узлом предварительного фракционирования, подсоединенным к стандартному устройству ввода с делением потока [10]. На рис. 8-8 приведена схема крана-переключателя, используемого в этом анализе. Проба вводится через устройство ввода узла предварительного фракционирования в короткую предколонку с НФ OV-101. На этой предколонке происходит разделение компонентов в соответствии с их температурами кипения. Во избежание попадания тяжелых фракций нефти (Сао) в капиллярную колонку кран-переключатель устроен таким образом, чтобы обеспечить продувку и сброс тяжелых фракций. Легкие фракции нефти попадают в аналитическую колонку, где происходит дальнейшее разделение и идентификация смеси. На рис. 8-9 приведена типичная хроматограмма сырья, поступающего на гидроочистку. Анализируемая фракция содержит 1,5 масс.% серы. Использование высокоэффективных капиллярных колонок сводит к минимуму совместное элюирование углеводородов, содержащихся в большом количестве, и серосодержащих соединений. В результате такого совместного элюирования может наблюдаться гашение сигнала ПФД. По сравнению с ПИД ПФД обладает превосходной чувствительностью к серосодержащим соединениям и селективен к ним (рис. 8-10). Вследствие нелинейности сигнала ПФД к сере количественное определение серы проводится с помощью многоуровневой градуировки. Градуировочные кривые для некоторых тиофенов представлены на рис. 8-11.

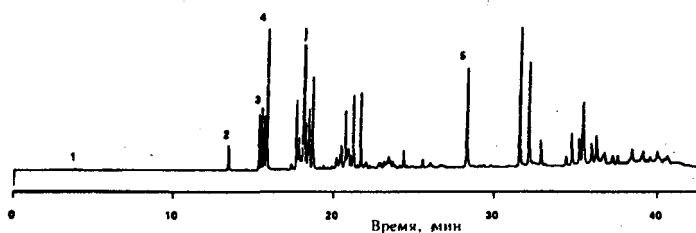


Рис. 8—9. Хроматограмма фракции газойля, поступающего на гидроочистку (общее содержание серы 1,5 масс.%). Детектор ПФД; объем вводимой пробы 1 мкл, чувствительность 2. I — метилмеркаптан, S — бензтиофен, 3 — метилзамещенные бензтиофены, 4 — метилбенз[в]тиофен, 5 — дибензтиофен.

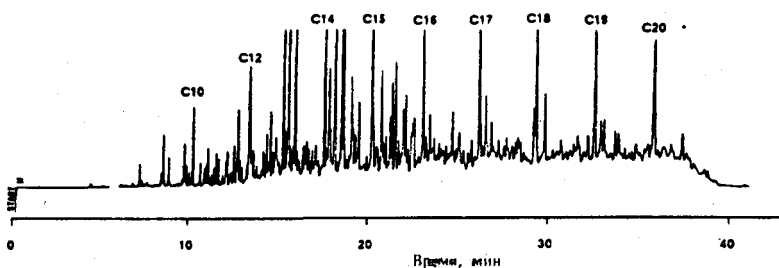


Рис. 8—10. Хроматограмма нефтяной фракции, поступающей на гидроочистку. Детектор ПИД; объем вводимой пробы 2 мкл, чувствительность 2⁶. Идентифицированы нормальные углеводороды.

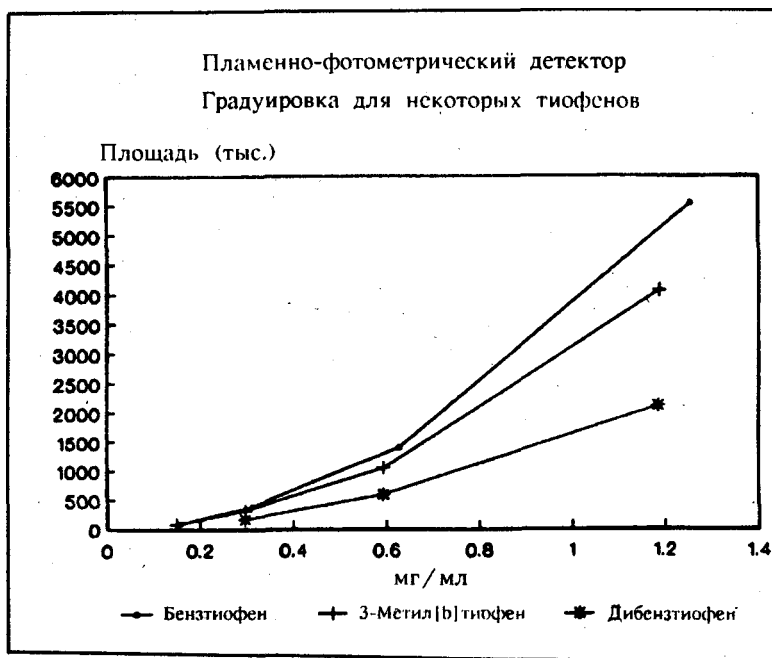


Рис. 8-11. Многоуровневая калибровка ПФД для некоторых тиофенов.

Определение кислородсодержащих соединений в бензинах

В настоящее время во всем мире наметилась тенденция отказа от введения органических соединений свинца в бензин. Введение органических соединений свинца повышало октановое число бензинов. Для улучшения качества бензина и повышения его октанового числа можно использовать низшие спирты — C_1 — C_{14} и метил-третра-бутиловый эфир (МТБЭ). Поэтому возникает необходимость в простом и быстром методе определения этих кислородсодержащих соединений в бензинах. В работе [11] описан многомерный ГХ-метод, используемый для анализа бензиново-спиртовых смесей. В нем используется кварцевая WCOT-колонка большого диаметра.

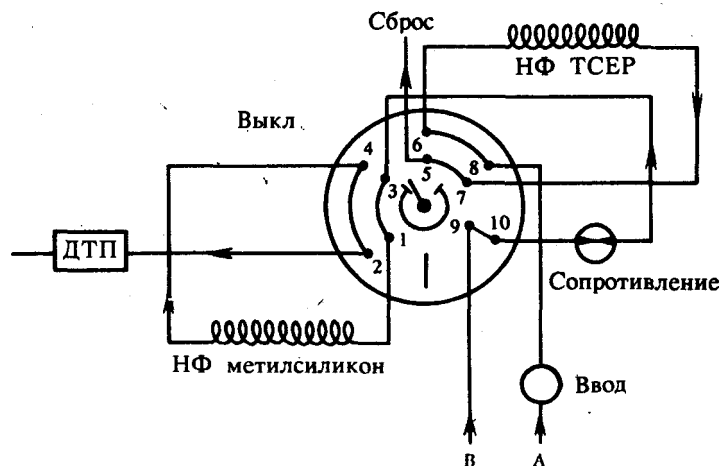


Рис. 8-12. Схема переключения потоков в двухколоночной ГХ-системе, применяемой для определения кислородсодержащих соединений в бензине.

Схема переключения потоков в двухколоночной ГХ-системе показана на рис. 8-12. В широких капиллярных колонках имеется толстый слой НФ, эти колонки обладают меньшей эффективностью, чем традиционные. Поэтому они наилучшим образом подходят для разделения низкомолекулярных спиртов. В предложенной схеме используются 2 колонки: WCOT-колонка большого диаметра (30м x 0,53) мм с иммобилизованной метилсиликоновой НФ и микронасадочная предколонка, заполненная сорбентом 20% ТСЕР на хромсорбе PAW 80/100 меш. Аналитическая колонка помещена в термостат и соединена с краном-переключателем посредством соединителей с нулевым мертвым объемом и соединительных линий из нержавеющей стали. Для того чтобы объемная скорость смеси, поступающей в детектор по теплопроводности, была одинакова в обоих положениях крана-переключателя, используется вентиль тонкой регулировки малого объема.

Проба вводится в предколонку (рис. 8-12). Легкие углеводороды ($< C_6$) выходят из предколонки. Перед тем как из предколонки должен элюироваться МТБЭ, кран-переключатель переводится в положение "ON" ("включено"). Оставшиеся компоненты пробы в результате обратной продувки попадают в аналитическую колонку. В аналитической колонке происходит разделение низших спиртов C_1 — C_4 , МТБЭ и бензола. После выхода пика бензола кран-переключатель переводится в положение "OFF" ("выключено") и поток в капиллярной колонке перемещается в обратном направлении: более тяжелые углеводороды поступают в виде одного пика в ДТП.

На рис. 8-13 приведены типичные хроматограммы бензина до и после введения в него смеси кислородсодержащих соединений. Как видно из приведенных хроматограмм, продолжительность анализа при наличии в смеси спиртов C_1 — C_4 и МТБЭ не превышает 15 мин. Бензиновая фракция не влияет на определение кислородсодержащих компонентов, как это наблюдается при анализе пробы бензина без обратной продувки (рис. 8-14). При проведении количественного анализа применяют метод внутреннего стандарта. В качестве внутреннего стандарта используется третичный амиловый спирт (пик 10, рис. 8-13). В табл. 8-7 при-

ведены результаты многократного определения кислородсодержащих соединений в бензине. Точность и воспроизводимость определения вполне удовлетворительны.

При проведении рутинных анализов метод абсолютной градуировки будет, видимо, предпочтительнее, чем метод внутреннего стандарта, поскольку не требуется проводить взвешивания пробы. В табл. 8-8 приведены для сравнения результаты определения кислородсодержащих соединений в 5 образцах бензина, полученные при использовании методов внутренней стандартизации и абсолютной градуировки.

Таблица 8—7. Анализ смеси кислородсодержащих соединений

| | Данные серии 1 ^а , об. % | | | | | | | | Данные серии 2 ^б , об. % | |
|----------------|-------------------------------------|------|------|------|------|------|---------|----------|-------------------------------------|------|
| | Смесь | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Среднее | <i>a</i> | 1 | 2 |
| Метанол | 2,28 | 2,35 | 2,30 | 2,34 | 2,35 | 2,30 | 2,33 | 0,026 | 2,38 | 2,37 |
| Этанол | 2,34 | 2,41 | 2,36 | 2,41 | 2,40 | 2,37 | 2,39 | 0,023 | 2,41 | 2,40 |
| Изопропанол | 1,42 | 1,51 | 1,48 | 1,52 | 1,51 | 1,49 | 1,50 | 0,016 | 1,50 | 1,52 |
| м-Пропанол | 2,61 | 2,78 | 2,75 | 2,79 | 2,77 | 2,76 | 2,77 | 0,016 | 2,69 | 2,71 |
| МТБЭ | 2,74 | 2,76 | 2,74 | 2,77 | 2,76 | 2,76 | 2,76 | 0,012 | 2,78 | 2,81 |
| тарегп-Бутанол | 1,37 | 1,43 | 1,41 | 1,43 | 1,42 | 1,41 | 1,42 | 0,010 | 1,40 | 1,41 |
| втор-Бутанол | 2,41 | 2,47 | 2,46 | 2,47 | 2,46 | 2,46 | 2,46 | 0,005 | 2,41 | 2,41 |
| Изобутанол | 1,73 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 1,75 | 0 | 1,73 | 1,73 |
| н-Бутанол | 4,62 | 4,80 | 4,83 | 4,80 | 4,81 | 4,82 | 4,81 | 0,013 | 4,81 | 4,81 |

^аИспользован метод внутреннего стандарта, объем пробы 0,16 мкл.

^бАнализ проводили через 4 месяца.

Таблица 8—8. Сравнение результатов определения кислородсодержащих соединений в пяти образцах бензина при градуировке методом абсолютного (А) и внутреннего (Б) стандарта

| | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | 5 | |
|--------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | А | Б | А | Б | А | Б | А | Б | А | Б |
| Метанол | 3,20 | 3,50 | — | — | — | — | 1,53 | 1,62 | — | — |
| Этанол | — | — | 7,51 | 7,58 | 0,16 | 0,18 | 0,08 | 0,08 | 0,89 | 0,89 |
| Изопропанол | 2,94 | 2,91 | — | — | 5,67 | 5,70 | — | — | 0,29 | 0,29 |
| м-Пропанол | — | — | 0,11 | 0,12 | 0,95 | 0,96 | — | — | 1,95 | 1,95 |
| МТБЭ | 3,66 | 3,75 | — | — | 0,18 | 0,18 | 1,91 | 1,88 | — | — |
| трет-Бутанол | 0,26 | 0,22 | 1,91 | 1,95 | — | — | 3,90 | 3,89 | — | — |
| втор-Бутанол | — | — | 0,99 | 1,02 | — | — | 0,13 | 0,15 | 0,48 | 0,50 |
| Изобутанол | 2,03 | 2,05 | — | — | 0,30 | 0,29 | — | — | 5,82 | 6,00 |
| н-Бутанол | 0,23 | 0,19 | 2,01 | 2,00 | — | — | 4,30 | 4,23 | — | — |

Анализ природного газа

Стоимость природного газа увеличивается, вследствие чего возрастает интерес к газохроматографическим методам, позволяющим получать большую информацию о составе фракции С_е. На рис. 8-15 приведена схема разработанной недавно системы для анализа природного газа [12]. Система состоит из двух кранов-переключателей и ДТП с одной нагреваемой нитью. В качестве предколоники используется микронасадочная колонка (длина 1 м, внутренний диаметр 0,78 мм, внешний диаметр 1,6 мм), заполненная сорбентом 10% OV-100 на хромосорбе Н (80-100 меш). Для проведения анализа используют 3 аналитические колонки:

WCOT-колонку (30 м x 0,53 мм) с иммобилизованной метилсиликоновой НФ, микронасадочную колонку (МРС-3) длиной 0,8 м, заполненную порпаком N (80-100 меш), и микронасадочную колонку (МРС-4) длиной 1 м, заполненную молекулярными ситами 13X (60-80 меш). WCOT-колонка помещена в термостат, а две другие аналитические колонки подсоединены непосредственно к кранам-переключателям в их термостате.

Проба газа вводится в предколонику в положении крана 1 "включено" ("ON"). Легкие углеводороды (< С₃) выходят изфорколоники и попадают последовательно в колонки МРС-3 (с порпаком N) и МРС-4 (с молекулярными ситами 13X). Перед тем как СО₂ должен элюироваться на колонки МРС-3, кран-переключатель 2 переводится в положение "включено" ("ON"), в результате чего происходит отсоединение колонки МРС-4. В результате газы О₂, N₂ и СН₄ улавливаются в колонке МРС-4, а СО₂ и С₂Н₆ выходят из колонки МРС-3 и попадают в детектор по теплопроводности. После детектирования С₂Н₆ кран 2 переводится в положение "выключено" ("OFF") и происходит разделение и регистрация О₂, N₂ и СН₄. Одновременно с этим более тяжелая фракция природного газа (> С₂) из предколоники переносится в результате обратной продувки в WCOT-колонку, где происходит разделение углеводородов С₃— С₈. На рис. 8-16 представлена Хроматограмма пробы природного газа, полученная с использованием описанной схемы. Разделение всех постоянных газов и углеводородов С₁— С₈ происходит за 10 мин. Вследствие того что применяемые колонки обладают более высокой емкостью и ввод пробы осуществляется без деления потока, предел обнаружения более тяжелых углеводородов при использовании микродетектора по теплопроводности может составить 5*10⁻³%.

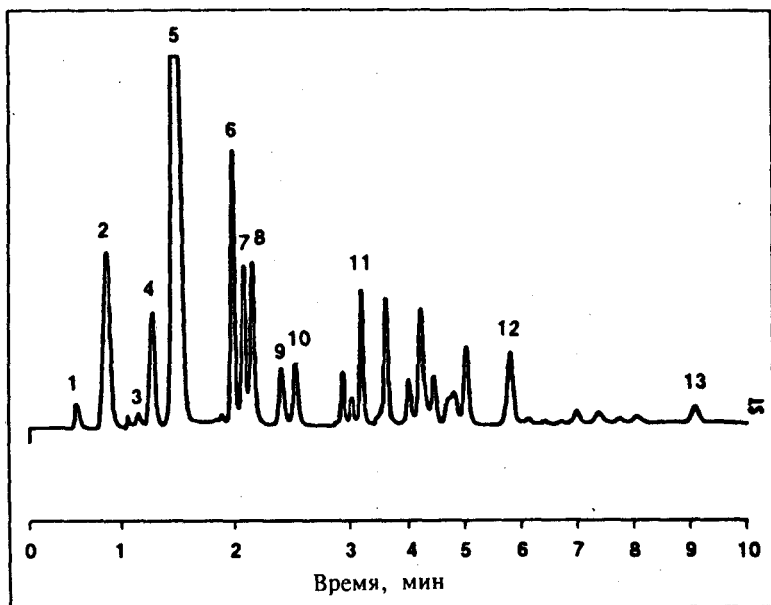


Рис. 8-16. Хроматограмма образца природного газа. Условия анализа: температура колонки и кранов-переключателей 70 °С; газ-носитель Нг (4,3 мл/мин); объем пробы 20 мкл.

1— CO₂; 2— этан; 3— O₂; 4— N₂; 5— метан; 6— пропан; 7— изобутан; 8— н-бутан; 9— изопентан; 10— н-пентан; 11— н-гексан; 12— н-гептан; 13— н-октан.

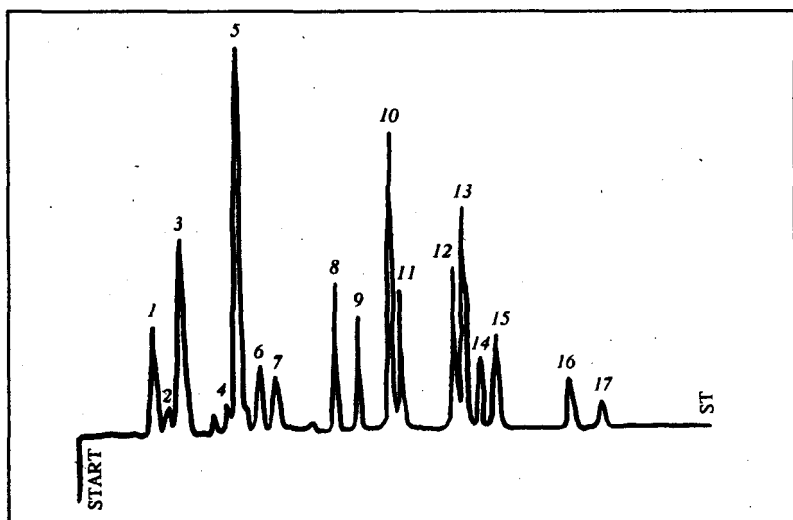


Рис. 8-17. Хроматограмма образца нефтезаводского газа. Условия анализа: температура предколонки 76 °С, PLOT-колонки с Al₂O₃ 120 °С; газ-носитель водород (4,3 мл/мин); объем пробы 4 мкл.

1— CO₂; 2— этилен; 3— этан; 4— O₂, S— N₂; 6— метан; 7— CO; 8— пропан; 9— пропилен; 10— изобутан; 11— н-бутан; 12— транс-бутен-2; 13— бутен-1; 14— изобутен; 15— цис-бутен-2; 16— изопентан; 17— н-пентан.

Анализ нефтезаводского газа

Если в описанной выше схеме для анализа природного газа (рис. 8-15) заменить WCOT-колонку на PLOT-колонку с Al₂O₃ (длиной 50 м), то анализ всех углеводородов, включая н-С₅ (кроме На), может быть проведен всего за 4 мин. На рис. 8-17 представлена типичная хроматограмма образца нефтезаводского газа.

Для определения водорода можно ввести в систему второй детектор по теплопроводности. Тогда, введя дополнительно пробу и используя в качестве газа-носителя азот, можно проводить детектирование водорода. Емкость используемой PLOT-колонки существенно ниже, чем применяемой при проведении анализа природного газа WCOT-колонки. Поэтому объем вводимой в PLOT-колонку пробы составляет ~ 5 мкл. Можно перед введением пробы в PLOT-колонку осуществлять деление потока, однако лучшей альтернативой является все же использование PLOT-КОЛОНОК большего диаметра с более высокой емкостью.

Применение капиллярной газовой хроматографии в биологии и медицине

ГХ широко используется для анализа различных химических веществ в биологии и медицине. Несмотря на то что роль высокоэффективной жидкостной хроматографии в этих отраслях неуклонно растет, капиллярная ГХ занимает прочное место при проведении ряда определений, например когда уровень обнаружения химических веществ в плазме и крови ниже пороговых значений для УФ- и флуоресцентных детекторов.

При использовании ГХ в клинических испытаниях необходимо обратить особое внимание на состав анализируемой пробы и методы ее ввода. Нормальные разделительные характеристики колонки могут изменяться при многократной обработке колонок водой и в результате отложений в колонке нелетучих компонентов пробы. Поэтому при возможности следует избегать ввода жидкой пробы в колонку. Так, например, при определении алкоголя в крови пробу вводят в виде равновесного пара.

Для того чтобы при анализе биологических образцов свести к минимуму влияние основного компонента пробы, следует использовать селективные детекторы. В большинстве случаев чувствительность этих детекторов к специфическим элементам выше, чем у детектора по теплопроводности или пламенно-ионизационного детектора, а следовательно, *они* идеально подходят для определения следовых количеств веществ в сложных смесях. В результате исключаются стадии предварительной подготовки пробы — экстракция и концентрирование, или же предварительная подготовка существенно упрощается. Среди наиболее часто применяемых селективных детекторов следует отметить электрозахватный (анализ хлорсодержащих соединений), пламенно-фотометрический (анализ серу- и фосфорсодержащих соединений) и азотно-фосфорный (анализ азот- и фосфорсодержащих соединений). Кроме того, в результате внедрения в лабораторную практику гибридных методов анализа — ГХ-МС и ГХ-ИК — спектроскопии — клиническая медицина имеет в своем распоряжении широкую гамму методов, позволяющих определить строение различных химических веществ.

Определение лекарственных препаратов, вызывающих привыкание

Обычно определение лекарственных средств, вызывающих привыкание, в биологических жидкостях проводят в несколько стадий. В случае положительного результата последствия такого определения могут быть очень серьезными. Поэтому важно, чтобы метод анализа позволял сделать окончательный вывод о содержании того или иного вещества.

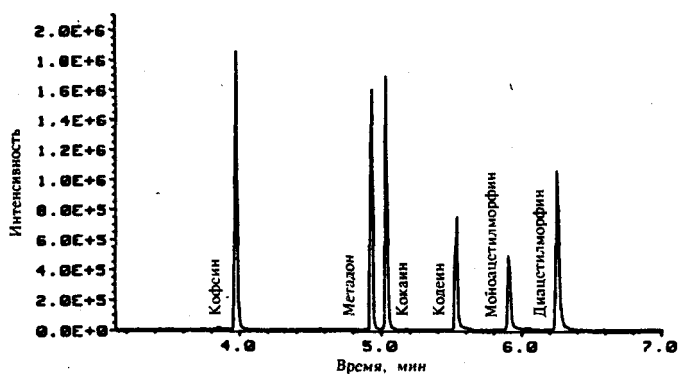


Рис. 8—18. Хроматограмма по полному ионному току для стандартной смеси лекарственных средств.

Стандартным методом определения содержания лекарственных веществ является ГХ-МС. Капиллярная ГХ широко используется для предварительной проверки. Радиоиммуноанализ позволяет провести проверку быстрее и является более экономичным, однако метод характеризуется невысокой надежностью (35%) и специфичен только для некоторых лекарственных средств. Капиллярная ГХ является более универсальным методом, характеризующимся высокой чувствительностью и воспроизводимостью. Поэтому ГХ широко используется во многих лабораториях для проведения предварительной проверки.

Если результат предварительной проверки оказывается положительным, то пробу затем анализируют методом ГХ-МС. На рис. 8-18 представлена Хроматограмма по полному ионному току для стандартной смеси лекарств. В табл. 8-9 перечислены специфические ионы, детектирование которых в определенном интервале времен удерживания указывает на наличие лекарственного препарата в пробе. Подтверждение наличия данного лекарственного вещества получают двумя путями. Если проводили сканирование, то сравнивают полученный масс-спектр с библиотечным (рис. 8-19). При более высокой чувствительности определения проводят детектирование выбранных ионов, измеряют соотношение интенсивностей и проводят сравнение с дейтерированными внутренними стандартами.

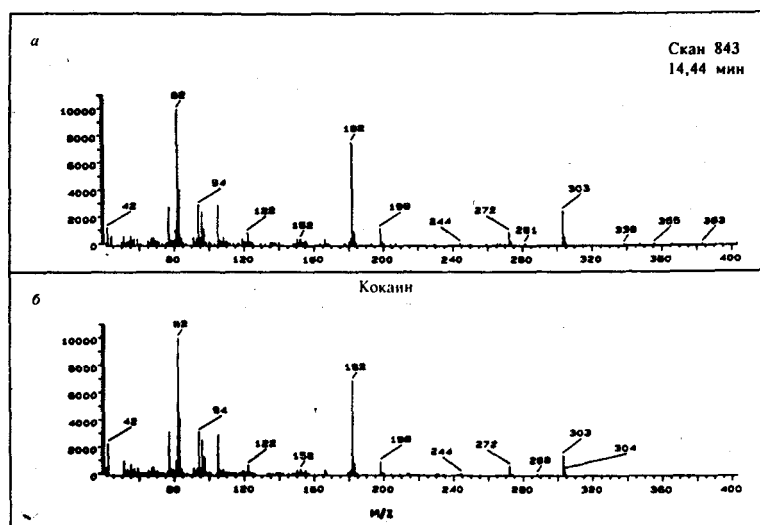


Рис. 8—19. Сравнение масс-спектра кокаина (а) с масс-спектром неизвестного вещества (б). (Из HP Application Note GCMS 87-1.)

При использовании капиллярной ГХ можно идентифицировать лекарственные средства путем определения их времен или

индексов удерживания и сравнения со значениями величин удерживания стандартных лекарств. По-видимому, для определения вызывающих привыкание лекарственных препаратов в биологических жидкостях следует применять систему из двух капиллярных колонок. Метод основан на определении характеристик удерживания химических веществ на двух колонках с различными НФ [13-14].

В работе Хайвер [15] описано использование ГХ-станции на базе миникомпьютера, подсоединенной к ГХ с двумя ПИД, и системой ввода пробы в режимах: с делением потока/без деления потока. Две капиллярные колонки подсоединены к одному отверстию ввода пробы, для чего используется прокладка с двумя отверстиями. При выборе колонок принимают во внимание их геометрию, допустимые условия работы и характеристики удерживания соединения на этих колонках. Колонки, содержащие 5- и 50%-ную фенилметилсиликоновую НФ, имеют выходы в отдельные ПИД. На рис. 8-20 представлены хроматограммы стандартной смеси алкалоидов, полученные с использованием двухканальной системы, и градуировка, проведенная для расчета индексов удерживания.

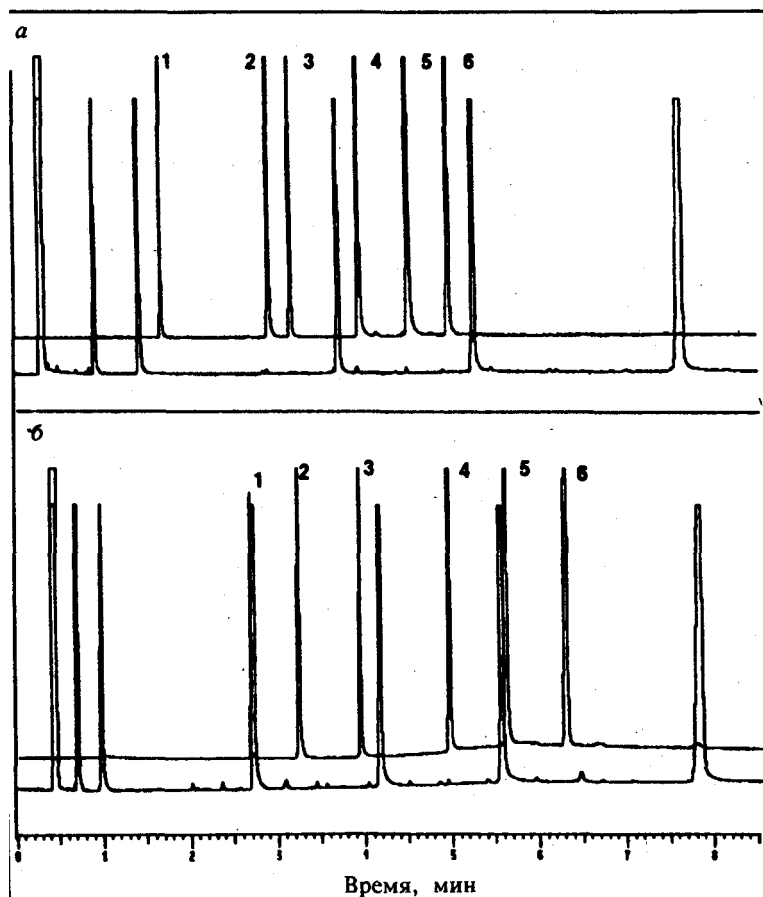


Рис. 8-20. Сравнение хроматограмм стандартной смеси алкалоидов и смеси, применяемой для градуировки, при проведении разделения с использованием колонок, содержащих 5%- (а) и 50%-ную (б) фенилметилсиликоновую НФ.

Компонент (концентрация, нг/мл): 1— кофеин (42,1); 2 — метадон (30,2); 3 — кокаин (30,3); 4 — кодеин (52,0); 5 — моноацетилморфин (76,5); 6— героин (76,1).

Таблица 8-9. Характеристики первичных и других" специфических ионов для стандартной смеси лекарственных средств (рис. 8-18)

| | t_R | M/Z | | |
|------------------------------|-------|---------------|---------------------|---------------------|
| | | первичный ион | специфический ион 1 | специфический ион 2 |
| Кофеин (внутренний стандарт) | 3,98 | 194 | 109 | 67 |
| Метадон | 4,94 | 72 | 294 | — |
| Кокаин | 5,04 | 303 | 82 | 182 |
| Кодеин | 5,54 | 299 | 162 | 229 |
| Моноацетил-морфин | 5,92 | 327 | 268 | 215 |
| Героин | 6,27 | 369 | 327 | 310 |

Определение трициклических противопсихотических лекарств с пламенно-фотометрическим детектированием

Определение трициклических противопсихотических лекарств с использованием КГХ с пламенно-фотометрическим детектором (ПФД) играет большую роль при регулировании терапевтического лечения. Противопсихотическая активность хлорпромазина

была установлена почти 40 лет назад. С тех пор были синтезированы многие производные этого фенотиазина, хорошо зарекомендовавшие себя в лечении больных. Некоторые противопсихотические средства этого ряда перечислены в табл. 8-10. Тиотиксеновое семейство трициклических соединений также показало хорошую активность в лечении психозов. Кроме противопсихотического действия; некоторые производные фенотиазина назначаются при тошноте и рвоте. Эти терапевтические средства со сложным химическим строением анализировали методом ГХ на насадочных колонках с пламенно-ионизационным детектированием. При использовании насадочных колонок трудно отделить и отличить различные производные фенотиазина и тиотиксена от их метаболитов и других веществ. Кварцевые капиллярные колонки обладают высокой инертностью, что позволяет проводить анализ психотропных препаратов без дериватизации. Кроме того, капиллярная хроматография позволяет получить лучшее разрешение за меньшее время. В работе [16] описан чувствительный и селективный метод определения серусодержащих трициклических психотропных препаратов с использованием капиллярной ГХ и ПФД. Разделение пяти веществ (трифторпромазина, прометазина, промазина, хлорпротиксена и тиоридазина) проводили на кварцевой WCOT-колонке (12м x 0,2 мм) с иммобилизованной НФ 5% метилфенилсиликона (толщина пленки НФ 0,33 мкм).

Типичная хроматограмма анализируемой смеси представлена на рис. 8-21. Использовали пламенно-фотометрический детектор. Минимальная определяемая концентрация составила 0,2 нг для каждого компонента (~ 20 пг серы). Известно, что сигнал ПФД нелинеен, поэтому для количественного определения следует проводить многоуровневую градуировку. Кривые, полученные при градуировке промазина и хлорпротиксена, представлены на рис. 8-22. В табл. 8-11 приведены результаты статистического анализа сигналов детектора.

Таблица 8-10. Трициклические антипсихотические средства

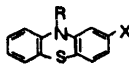
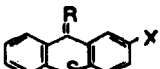
|  | |  | |
|---|-------------|--|----------|
| А: Производное фенотиазина | | В: Производное тиоксанта | |
| Название | Производное | X | Масс.% S |
| Прометазин | A | H | 11.2S |
| Промазин | A | H | 11.28 |
| Тиоридазин | A | SCH ₃ , | 17.27 |
| Трифторпромазин | A | CF ₃ , | 9.08 |
| Этопропазин | A | H | 10.02 |
| Мезоридазин | A | SOCH ₃ | 18.56 |
| Хлорпротиксен | B | Cl | 10.13 |

Таблица 8—11. Отклик ПФД на промазин и хлорпротиксен

| Содержание каждого компонента, нг | Пром «эин | | Хлорпротиксен | |
|-----------------------------------|-----------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | Содержание серы, нг | Площадь пика* | Содержание серы, нг | Площадь пика* |
| 0,2 | 0,023 | 14779 (0,072) | 0,020 | 11374 (0,252) |
| 05 | 0,056 | 57709 (0,059) | 0,051 | 52722 (0,056) |
| 1,0 | 0,113 | 128198 (0,055) | 0,101 | 112220 (0,056) |
| 5,0 | 0,563 | 2203175 (0,014) | 0,507 | 1622150 (0,017) |
| 10,0 | 1,125 | 6613380 (0,017) | 1,013 | 4720220 (0,026) |
| Данные регрессионного анализа: | | | | |
| n | 1,58 | | 1,54 | |
| c | 5,487.10 ⁶ | | 4,626.10 ⁶ | |
| Коэффициент корреляции | 0,9997 | | 0,9993 | |

'Среднее из 5 измерений; в скобках указан коэффициент вариации.

Таблицы 8-12. Терапевтический диапазон содержаний различных противоспилептических лекарственных средств (ПЭЛС) и их индексы удерживания

| Группа | ПЭЛС | Диапазон содержаний, мкг/мл | Индексы удерживания Ковача (НФ OV-1) |
|--------|----------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| 1 | Валпроиновая кислота | 50-100 | 1108 |
| | Этосукцимид | 40-100 | 1220 |
| 2 | Фенобарбитал | 20-40 | 1960 |
| | Примидон | 8-12 | 2250 |
| | Карбамазепин | 6-10 | 2290 |
| 3 | Фенитоин | 10-20 | 2330 |
| | Клоназепам | 0,003-0,06 | 2860 |

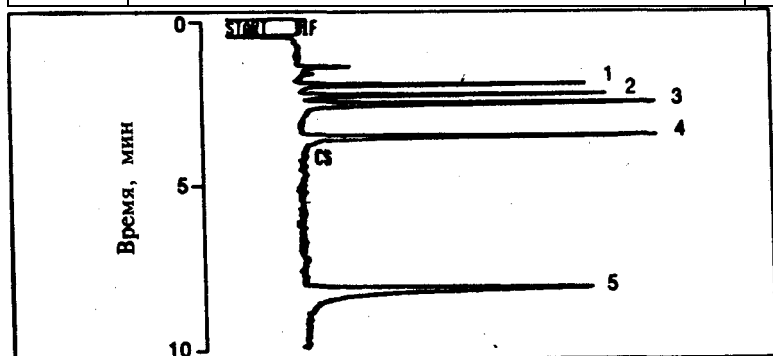


Рис. 8-21. Хроматограмма смеси противопсихотических средств. Условия анализа: ПФД, колонка HP Ultra-2 (12м X 0,2 мм), толщина пленки НФ (иммобилизованная, 5% метилсиликона) 0,33 мкм.

1 — трифторпромазин; 2 — прометазин; 3 — промазин; 4 — хлорпротиксен; 5 — тиоридазин (~ 3 нг каждого компонента).

Автоматические методы определения противоспилептических лекарственных средств при непосредственном вводе пробы в колонку

Газовая хроматография широко используется при подборе терапевтического лечения противоспилептическими лекарственными средствами (ПЭЛС). Отметим только некоторые лекарства, применяемые для лечения различных форм эпилепсии: карбамазепин, клоназепам, фенобарбитал, валпроиновая кислота, фенитоин, это-сукцимид, примидон. Контроль содержания этих препаратов в плазме при терапевтическом лечении весьма важен, поскольку необходимо установить именно такие дозы лекарств, прием которых позволил бы предотвратить возникновение эпилептических припадков, не вызывая при этом побочного токсического действия.

В настоящее время используются два способа терапевтического мониторинга ПЭЛС — хроматография и иммунологический анализ, причем хроматография принята в качестве международного стандартного метода. Удивительно то, что в литературе имеется очень мало данных по использованию капиллярных колонок для проведения такого рода анализов. Это объясняется, во-первых, сложностью оборудования для капиллярной хроматографии и, во-вторых, ограниченной емкостью капиллярных колонок. Оба этих ограничения могут быть устранены при использовании капиллярных колонок большого диаметра (> 0,53 мм). Эти колонки обла дают высокой емкостью, и их можно применять в сочетании с хроматографами, предназначенными для работы с насадочными колонками.

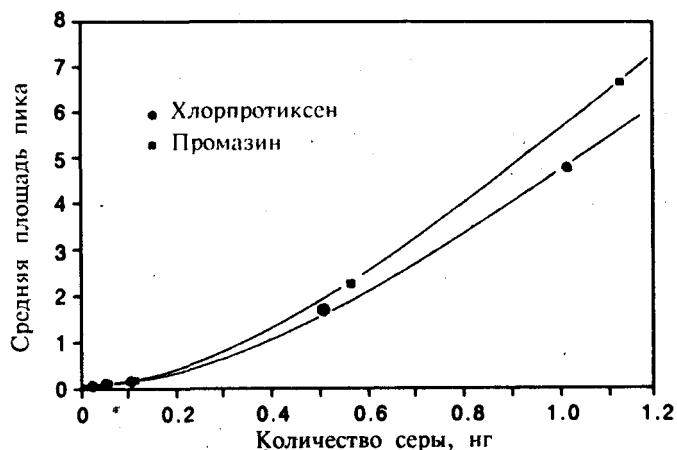


Рис. 8—22. Отклик пламенно-фотометрического детектора на серу. Зависимость площади пика от количества серы для промазина (●) и хлорпротиксена, (○).

Капиллярная ГХ имеет еще одно преимущество по сравнению с традиционным вариантом: определение всех исследуемых ПЭЛС может быть проведено на одной колонке за меньшее время. Использование полых кварцевых колонок позволяет получать более надежные качественные и количественные данные. В качестве детектора при определении ПЭЛС наиболее часто используется ПИД, однако применение селективных детекторов, например азотно-фосфорного, позволяет увеличить чувствительность обнаружения следовых количеств лекарственных препаратов, содержащих азот. Непосредственный ввод пробы в кварцевую WCOТ-колонку обеспечивает неизменность состава недериватизированных препаратов. В работе [20] описаны методика извлечения ПЭЛС из плазмы и последующий анализ методом капиллярной газовой хроматографии с непосредственным вводом пробы в колонку. Был проведен групповой анализ ПЭЛС, хотя содержание их в плазме варьировалось от 100 мкг/мл (для валпроиновой кислоты) до 0,003 мкг/мл (для клоназепама). Полученные данные приведены в табл. 8-12. Методы извлечения ПЭЛС были оптимизированы с учетом минимальных концентраций анализируемых веществ. Разделение проводили на колонке диаметром 0,53 мм и длиной 10 м (рис. 8-23). Хроматограммы разделения экстрагированных групп ПЭЛС приведены на рис. 8-24.

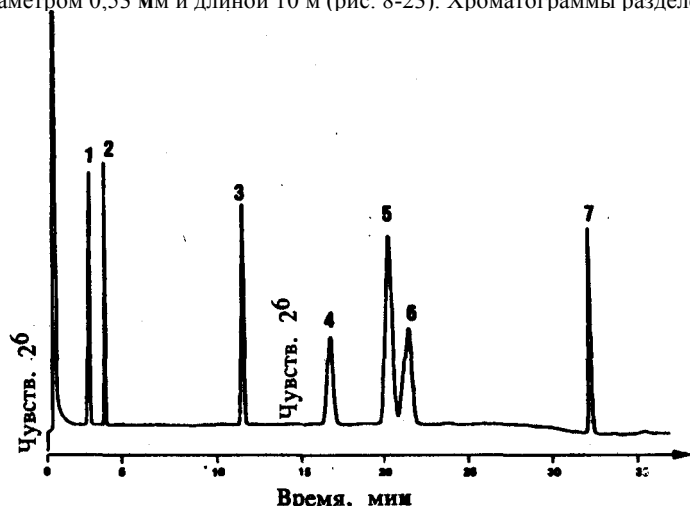


Рис. 8-23. Разделение стандартной смеси противосудорожных лекарственных средств (0,1 мг/мл хлороформа) при непосредственном вводе пробы в колонку. Условия анализа: колонка 10м x 0,53 мм, $d/2,65$ мкм; газовый хроматограф HP 5880 А, газ-носитель азот (4 мл/мин); режим программирования температуры термостата от 100 до 200°С со скоростью 10 град/мин, выдержка при конечной температуре в течение 16 мин; детектор ПИД.

1 — вадпроиновая кислота; 2 — этосукцимид; 3 — фенобарбитал; 4 — прикидок; 5 — карбамазепин; 6 — фенитоин; 7 — клоназепам.

Определение алкоголя в крови с использованием парофазного анализа

Использование парофазного анализа при определении алкоголя в крови, моче и выдыхаемом воздухе является весьма удобным для определения летучих компонентов биологических объектов. Ввод пробы в условиях равновесного пара может быть легко проведен в автоматическом режиме при использовании Бейсика для автокалибровки, статистических расчетов, определении на второй колонке и представлении результатов в специальном формате. Две колонки устанавливаются в одно отверстие ввода пробы, а детектирование осуществляется в двухканальном режиме при использовании двух ПИД. Используется ввод пробы с делением потока (10:1). Минимальная определяемая концентрация этанола составляет 0,055% масс./об. Анализ проводится в изотермическом режиме при температуре не выше 60° С. Типичные хроматограммы представлены на рис. 8-25.

Профиль метаболитов

Капиллярная ГХ может быть эффективно использована для определения цитологических жирных кислот, образующихся под действием бактерий [21]. Проводят сравнение хроматографических профилей бактериальных жирных кислот со стандартными профилями, хранящимися в памяти компьютера. Этот метод применим для всех чистых культур бактерий. По сравнению с традиционными методами микробиологической идентификации этот метод занимает меньше времени и более экономичен. На рис. 8-26 представлены хроматограммы градуировочного стандарта и образца бактерий. В принципе, описанный метод может быть применен и в других областях, где требуется получить профиль метаболитов, например при определении стероидов или органических кислот в моче.

Применение ГХ для анализа пищевых продуктов, ароматических и вкусовых добавок и других потребительских товаров

Разделение, обнаружение, охарактеризование химических веществ, а также контроль их содержания играют важную роль в пищевой промышленности. Практически во всех отраслях пищевой промышленности широко используется капиллярная газовая хроматография.

В 1986 г. управление по контролю за качеством пищевых и фармацевтических продуктов запретило использование сульфитирующих агентов в качестве консервантов свежих фруктов и овощей ввиду их токсичности. Для определения серы в пищевых продуктах в качестве стандартного использовали метод Монье — Уильямса. Этот метод является весьма трудоемким и занимает много времени. Недавно в работе [22] был предложен надежный, точный и быстрый метод определения сульфитов в пищевых продуктах. В этом методе использовали КГХ, причем анализ проводили в равновесной паровой фазе. Как видно из хроматограммы, приведенной на рис. 8-27, использование пламенно-фотометрического детектора (в режиме определения фосфора) позволяет определять сульфитирующие агенты в свежем салате и креветках на уровне $10^{-4}\%$.

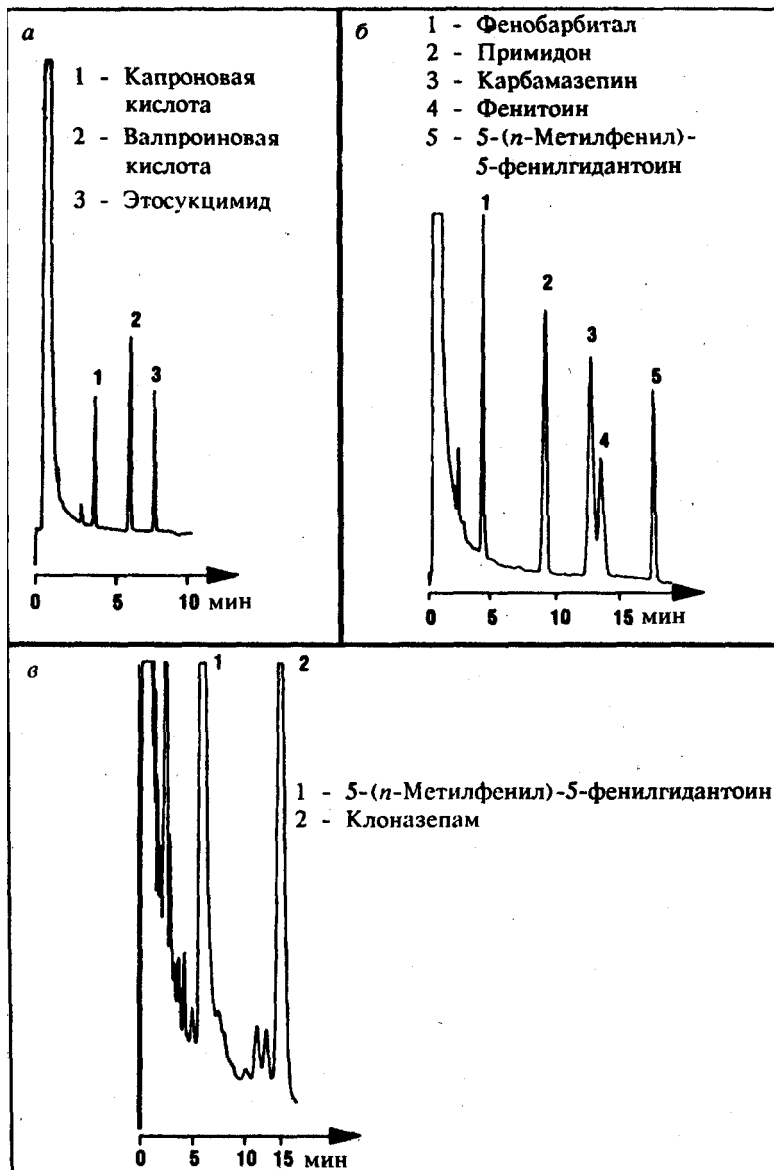


Рис. 8—24. Анализ экстрактов плазмы, содержащих ПЭЛС групп 1 (а), 2 (б) и 3 (в) (см. табл. 8-12).

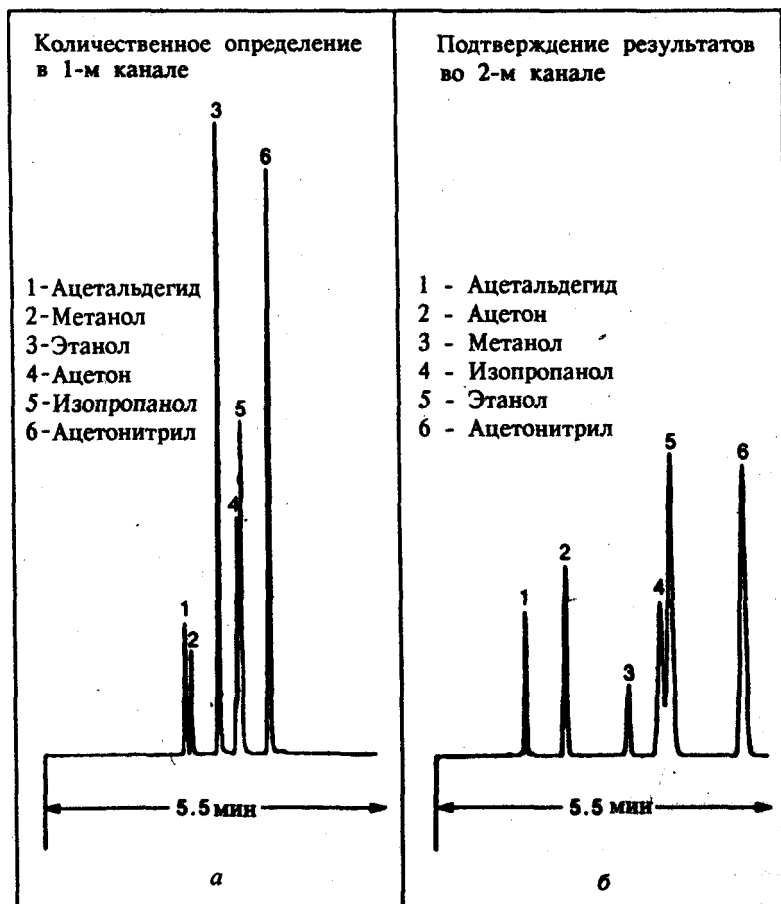


Рис. 8-25. Двухканальное определение алкоголя в крови с использованием ввода пробы в условиях равновесного пара. а — кварцевая капиллярная колонка 30 м X 0,32 мм, НФ ДВ-1701; толщина пленки НФ 1 мкм; б — кварцевая капиллярная колонка 30 м X 0,33 мм, НФ СР-57, толщина пленки 0,2 мкм.

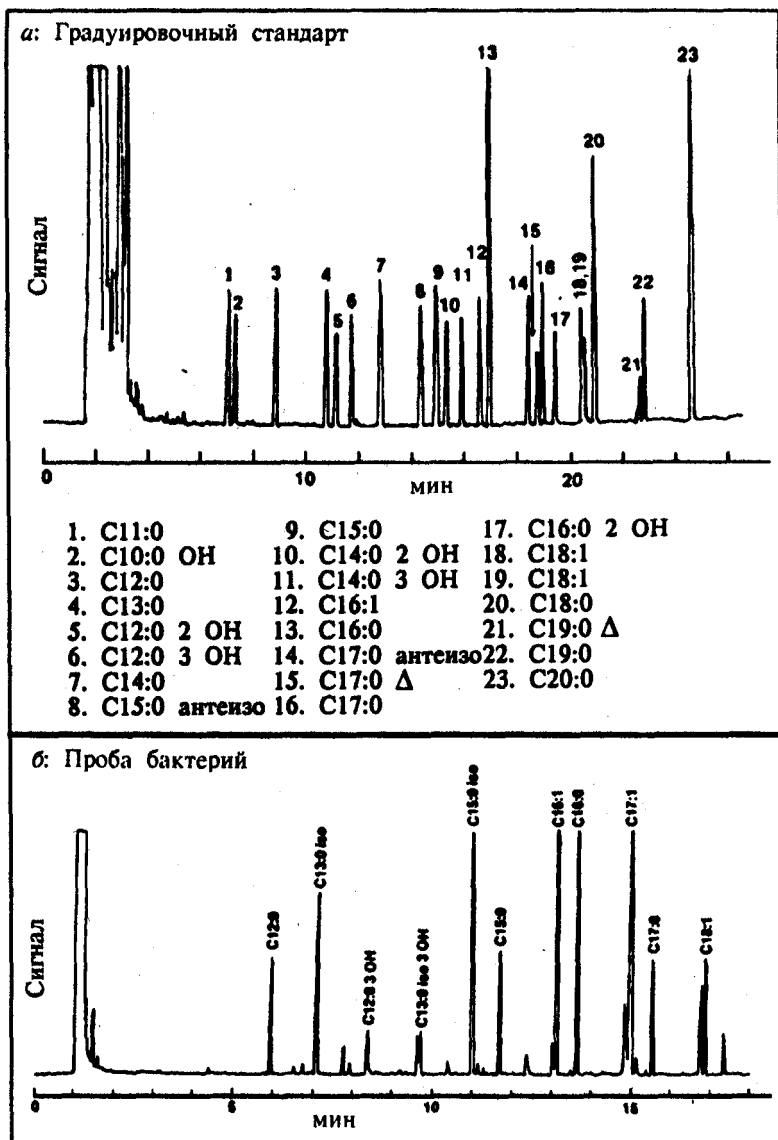


Рис. 8-26. Хроматограмма градуировочного стандарта (а) и пробы бактерий *Alteromonas putrefaciens* [б].

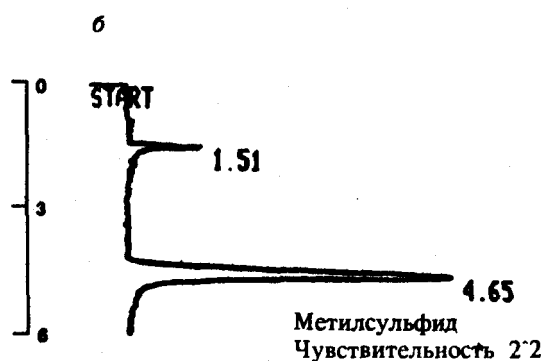
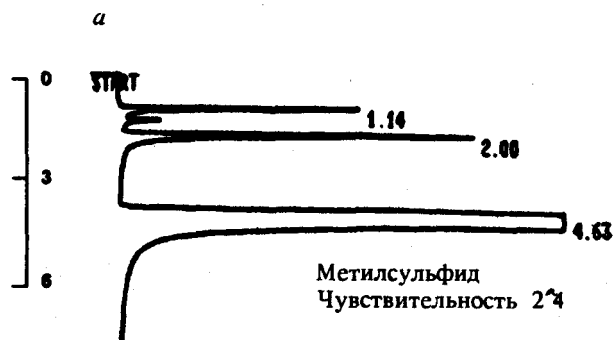


Рис. 8-27. Определение сульфитирующих агентов в свежемороженых креветках (а) и свежем салате (б) с использованием ввода пробы в условиях равновесной паровой фазы и пламенно-фотометрического детектирования.

Сообщается об использовании газовой хроматографии для определения пестицидов в пищевых продуктах. Применение ПФД (в режиме определения фосфора) позволяет проводить надежное определение фосфорорганических соединений. Экстракты свежих продуктов анализируются путем прямого ввода пробы. На рис. 8-28 приведена хроматограмма экстрактов петрушки и салата.

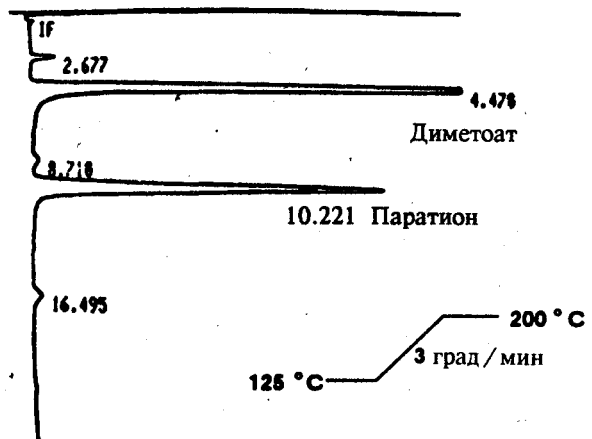
В пищевой промышленности широко используется двухканальная газовая хроматография. Для характеристики эфирных масел проводят сравнение хроматограмм и/или индексов удерживания на двух колонках с неподвижными фазами различной полярности. На рис. 8-29 приведена хроматограмма эфирных масел лайма. Схема двухканальной ГХ, используемая для проведения этого анализа, описана Филипсом [23] и показана на рис. 8-30. Благодаря тому что кварцевые капиллярные колонки обладают высокой прочностью и гибкостью, обе колонки можно устанавливать в одно отверстие для ввода пробы. Для проведения этого анализа необходимо проводить синхронизированный сбор данных и расчет индексов удерживания. В табл. 8-1,3 перечислены индексы удерживания для компонентов, наиболее часто встречающихся в эфирных маслах. Эта система индексов удерживания была использована для создания сборника хроматограмм эфирных масел [24].

Двухканальная система в сочетании с вводом пробы в условиях равновесного пара была использована для определения ароматических, и вкусовых добавок в товарах широкого потребления [25]. Использование ввода пробы в условиях равновесного пара не только сокращает до минимума стадию подготовки образца, но и позволяет расширить область применения метода для анализа таких товаров, как шампуни и зубные пасты.

Анализ объектов окружающей среды

В течение последних двух десятилетий существенно выросло загрязнение объектов окружающей среды — воды и воздуха. Вопросы охраны окружающей среды стали вызывать пристальное внимание. Во многих методах контроля состояния окружающей среды в качестве методов обнаружения химических загрязнителей используется газовая хроматография и хромато-масс-спектрометрия. При проведении анализа используются последние достижения газовой хроматографии: высокоэффективные колонки (анализ сложных смесей), WCOT-колонки большого диаметра, характеризующиеся высокой емкостью к пробе (анализ летучих компонентов), селективные и чувствительные детекторы.

a



8:01

б

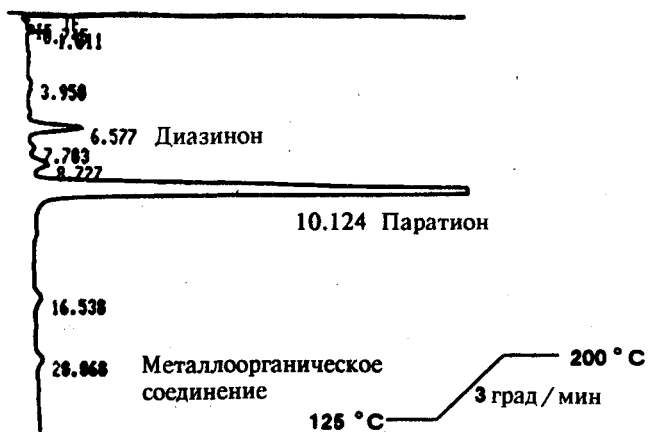


Рис. 8—28. Определение фосфорорганических пестицидов в экстрактах свежего салата (а) и петрушки (б) (с разрешения Н. Е. Brown, Ministry of Agriculture and Food, Ottawa, Canada).

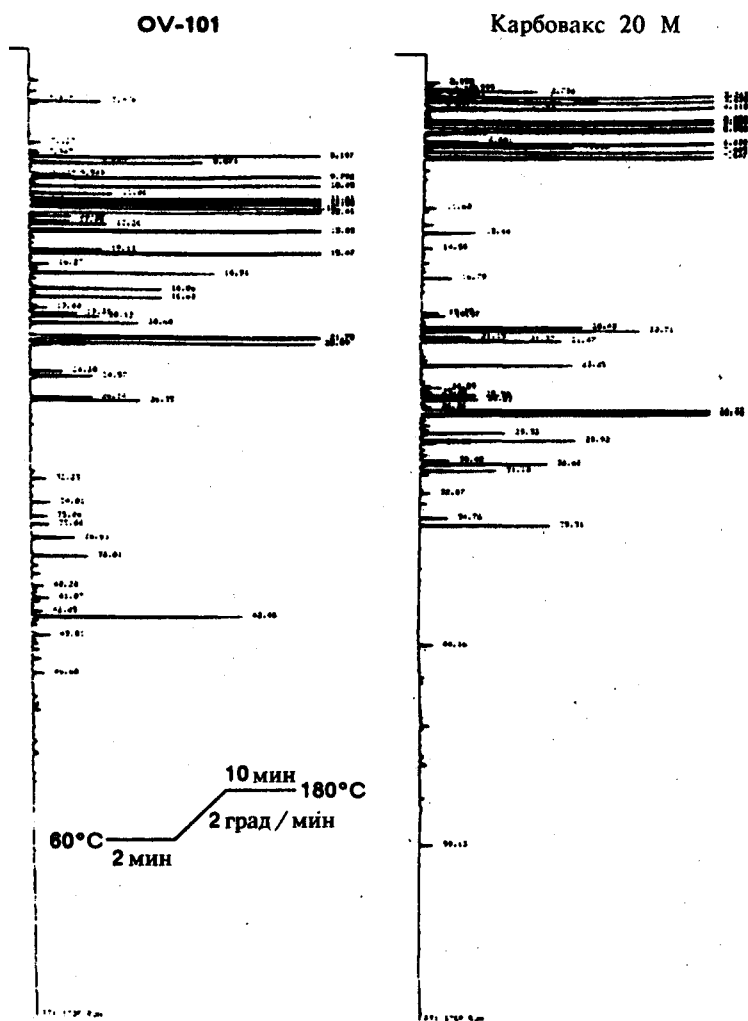


Рис. 8—29. Анализ лаймового масла (Мексика). Условия анализа: колонка 50м x 0,20 мм; газ-носитель N_2 (40 см/с); объем пробы 0,1 мкл; коэффициент деления потока 200:1.

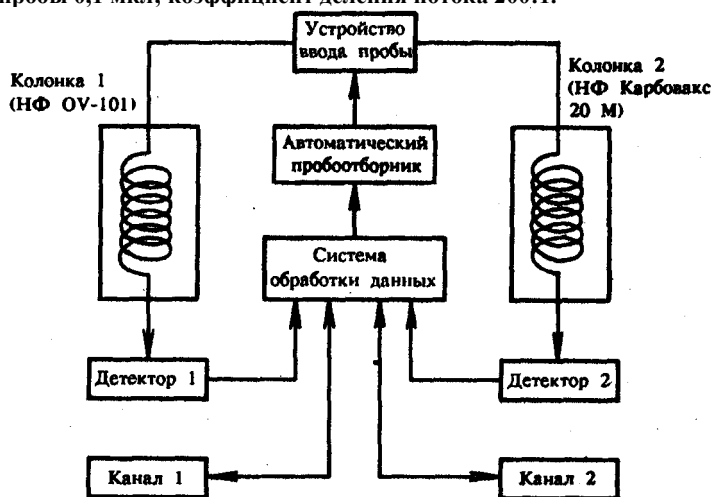


Рис. 8—30. Аппаратурное оформление при проведении двухканального анализа.

Определение основных летучих загрязнителей

Определение основных летучих загрязнителей сточных вод проводится в соответствии с методом 601/602, разработанным управлением по охране окружающей среды США. Метод 601 представляет собой газохроматографический анализ на 29 летучих хлорсодержащих углеводородов. Согласно методу 602, проводится анализ на 7 летучих ароматических углеводородов. Для концентрирования и ввода пробы в хроматограф используются продувка и улавливание;

в качестве детекторов — детектор по электропроводности (ДЭП) и фотоионизационный детектор (ФИД). Эти

детекторы обладают специфической чувствительностью к галогенсодержащим и ненасыщенным соединениям. Аналогичное аппаратное оформление используется в методах 502.1 и 503.1, предназначенных для определения качества питьевой и сырой воды.

В описанных методах анализа используется ГХ с насадочными колонками. Проведение анализа, согласно методам 601 и 602, занимает на насадочных колонках 45-50 и 20-25 мин, соответственно. Из-за недостатков насадочных колонок — высокой продолжительности анализа, плохого разрешения при разделении галогенсодержащих углеводородов, активности и существенного уноса фазы из колонок — при проведении анализа стали чаще применять капиллярные колонки. Кварцевые капиллярные колонки обладают более высокой эффективностью, инертностью и большим сроком службы, чем насадочные колонки. Однако насадочная колонка SP-1000 обеспечивает разрешение большинства летучих соединений безкриогенного охлаждения. В настоящее время промышленностью выпускаются колонки со специально синтезированными фазами. Такие колонки наиболее популярны для проведения описанного анализа.

Таблица 8-13. Индексы удерживания некоторых соединений, входящих в состав эфирных масел

| Соединение | НФ | | Δ |
|----------------|----------------|--------|-------|
| | карбовакс 20 М | OV-1 | |
| α-Туйен | 394,3 | 533,8 | +0140 |
| α-Пинен | 387,1 | 540,8 | +0153 |
| Камфен | 427,6 | 552,6 | +0125 |
| Сабинен | 438,4 | 577,8 | +0094 |
| β-Пинен | 467,2 | 581,5 | +0114 |
| Мирцен | 526,0 | 599,3 | +0073 |
| α-Фелландрен | 511,7 | 616,9 | +0105 |
| α-Терпинен | 538,7 | 621,4 | +0083 |
| n-Кумол | 625,6 | 624,9 | -0001 |
| 1,8-Цинеол | 562,4 | 630,9 | +0068 |
| β-Фелландрен | 565,7 | 631,4 | +0066 |
| Лимонен | 556,5 | 633,5 | +0077 |
| γ-Терпинен | 606,4 | 661,4 | +0055 |
| Терпинолен | 637,8 | 692,5 | +0055 |
| Нонаналь | 748,3 | 700,6 | -0048 |
| Линалоод | 904,7 | 707,5 | -0197 |
| Терпинен-4-ол | 940,2 | 776,6 | -0164 |
| α-Терпинеол | 1031,8 | 792,3 | -0240 |
| Нерал | 1011,5 | 832,8 | -0179 |
| Нерол | 1139,3 | 838,2 | -0301 |
| Линалилацетат | 919,0 | 856,9 | -0062 |
| Гераниахь | 1187,2 | 865,7 | -0322 |
| Гераниол | 1187,8 | 865,7 | -0322 |
| Сафрол | 1192,7 | 884,0 | -0309 |
| Терпинилацетат | 1033,9 | 948,7 | -0085 |
| Нерилацетат | 1074,9 | 963,7 | -0111 |
| Геранидацетат | 1105,1 | 982,1 | -0123 |
| β-Карнофиллен | 934,0 | 1023,3 | -0089 |
| α-Гумикен | 1000,2 | 1056,3 | +0056 |
| Элемицин | 1470,3 | 1068,3 | -0402 |
| Бисаболен | 1072,1 | 1114,8 | +0043 |
| Миристицин | 1560,3 | 1116,3 | -0444 |
| Эвгенилацетат | 1565,0 | 1119,8 | -0445 |

При проведении анализа с продувкой и улавливанием капиллярные колонки большего диаметра (> 0,53 мм) имеют существенное преимущество по сравнению с традиционными капиллярными колонками. Применение этих колонок позволяет реализовать высокие объемные скорости на стадии десорбции из ловушки. При использовании традиционных капиллярных колонок необходимо проведение криогенного фокусирования. Есть и другие ограничения по использованию капиллярных колонок малого диаметра. Подсоединение линий продувки и улавливания к вкладышу с насадкой узла ввода (в соответствии с методами 601 и 602) приводит к увеличению мертвого объема. В результате несколько ухудшается разрешение легких углеводородов, но становится возможным ввод шприцем известных и стандартных смесей. Непосредственное соединение линий продувки и улавливания с колонками большого диаметра приводит к улучшению хроматографических характеристик, но делает невозможным ввод пробы шприцем.

Для анализа основных загрязнений методом КГХ могут быть использованы самые различные хроматографическое оборудование и колонки. В работе [27] описано несколько схем проведения анализа и имеются ссылки на работы, где эти схемы рассмотрены более подробно. Детекторы, предназначенные для реализации методов 601 и 602, могут быть соединены последовательно, поскольку фотоионизационный детектор не является деструктивным. Поток из ФИД может быть направлен в детектор по электропроводности для последующего определения галогенсодержащих углеводородов. Для успешной работы этих детекторов необходимо использовать нестандартное соединение. На рис. 8-31 представлены типичные хроматограммы, полученные с продувкой и улавливанием и с использованием последовательно соединенных детекторов. При замене насадочной колонки на кварцевую WCOT-колонку (30 м x 0,53 мм, НФ DB-624) существенно улучшается разделение большинства компонентов и сокращается продолжительность анализа.

Ввод пробы в условиях равновесной паровой фазы позволяет увеличить точность анализа согласно методам 601 и 602, причем чувствительность сравнима с достигаемой при использовании продувки и улавливания [27, 28]. Кроме того, становится возможным анализ не только вод, но и почв и ила. Снижается также загрязнение системы пробами, образующими пену или содержащими большое количество определяемого вещества. Сравнение результатов анализов, проведенного в условиях равновесной паровой фазы (рис. 8-32) и улавливания и продувки (рис. 8-31), позволяет сделать вывод о том, что эти методы идентичны, однако

использование первого метода дает возможность получить на хро-матограмме пики четырех элюируемых ранее газов — хлорметана, винилхлорида, бромметана и хлорэтана. Эти вещества не удерживаются на ловушке с тенаксом.

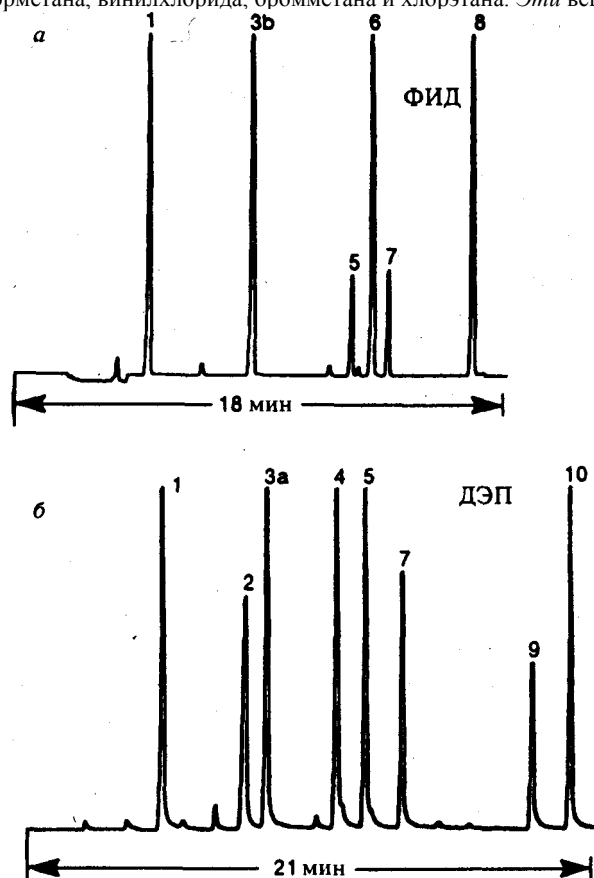


Рис. 8-31. Определение основных летучих загрязнителей воздуха методами 601 и 602 с использованием продувки и улавливания. Содержание каждого компонента 40 мкг/л, кварцевая колонка диаметром 0,53 мм (НФ ДВ-624) подсоединена непосредственно к линии продувки и улавливания. Детектор по электропроводности соединен последовательно с фотоионизационным детектором.

1— транс-1,2-дихлорэтан; 2— 1,1,1-трихлорметан; 3а— 1,2-дихлорэтан; 3б — бензол; 4 — бромдихлорметан; 5 — торанс-1,3-дихлорпропен; 6 — толуол; 7— цис-1,3-дихлорпропен; 8— этилбензол; 9— бромформ; 10— 1,1,2,2-тетрахлорэтан.

Метод 624 предусматривает использование хромато-масс-спектрометрии для определения основных летучих органических загрязнителей, содержащихся в экстрактах почвы и ила (рис. 8-33).

Идентификация некоторых загрязнителей методом МС затруднена, поскольку невозможно получить информацию об изомерах, например ди- и тризамещенных бензолах. Для детектирования с помощью спектральных методов, помимо ИК-спектрометрии с преобразованием Фурье (глава 5), стала применяться также атомно-эмиссионная спектрометрия.

Для определения пестицидов используется атомно-эмиссионный детектор с микроволновой плазмой. В принципе может быть достигнуто специфическое детектирование любого элемента периодической таблицы, который определяется методом ГХ. Пределы обнаружения для С, Н, D, N, O, Вг, Cl, F, S, Si, Р и Hg составляют порядка 0,1-75 пг/с, причем селективность составляет не менее 19 000. Рассматриваемая система может быть применена для обнаружения и охарактеризования 27 пестицидов: получают специфические для различных элементов хроматограммы (С, Н, N, O, Вг, Cl, F, Р и S). Проведя количественный анализ для каждого элемента, можно рассчитать эмпирическую формулу 20 различных гербицидов, содержащихся в двух смесях.

При определении пестицидов в соответствии с методами Управления по охране окружающей среды в настоящее время используются газохроматографические детекторы, селективные по отношению к галогенам, сере, азоту и фосфору. Однако электронозахватный детектор и детектор по электропроводности не позволяют дифференцировать Р, Cl и Вг. В пламенно-фотометрическом детекторе может наблюдаться гашение. Сигнал этого детектора нелинеен. Пестициды содержат различные гетероатомы, поэтому их было бы целесообразно анализировать методом ГХ с атомно-эмиссионным детектором и микроволновой гелиевой плазмой. Используя этот метод, можно получить полные элементные профили и/или детектировать индивидуальные элементы в молекулах. На рис. 8-34 и 8-35 представлены специфические хроматограммы элементов, входящих в состав диазины и арохлора соответственно. Одновременно с этим определяют С, S и N, применяя для продувки кислород и водород.

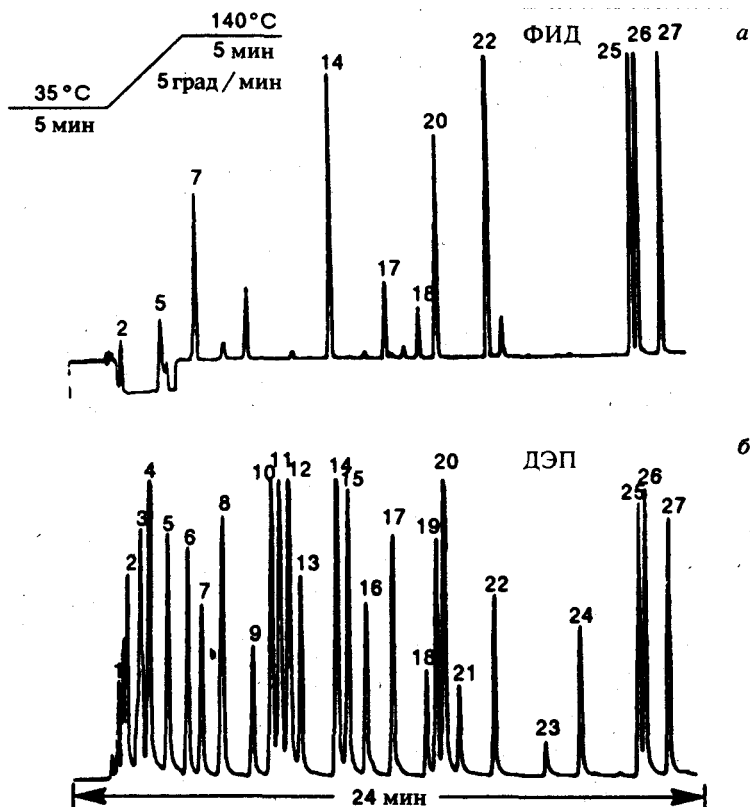


Рис. 8-32. Ввод пробы в равновесной паровой фазе. Проба в соответствии с методом 601 содержит галогенсодержащие углеводороды в количестве 20 мкг/л. Непосредственное соединение линии ввода пробы с колонкой (0,53 мм, НФ DB-624). Последовательное соединение детектора по теплопроводности и фотоионизационного детектора.

1 — хлористая; 2 — винилхлорид; 3 — бромистая; 4 — хлоратам; 5 — 1,1-дихлорэтан; 6 — метиленхлорид; 7 — транс-1,2-дихлорэтан; 8 — 1,1-дихлорэтан; 9 — бромхлорметан; 10 — хлороформ; 11 — 1,1,1-трихлорэтан; 12 — четыреххлористый углерод; 13 — 1,2-дихлорэтан; 14 — трихлорэтан; 15 — 1,2-дихлорпропан; 16 — бромдихлорметан; 17 — транс-1,3-дихлорпропен; 18 — цис-1,3-дихлорпропен; 19 — 1,1,2-трихлорэтан; 20 — тетрахлорэтен; 21 — дибромхлорметан; 22 — хлорбензол; 23 — бромформ; 24 — 1,1,2,2-тетрахлорэтан; 25 — 1,3-дихлорбензол; 26 — 1,4-дихлорбензол; 27 — 1,2-дихлорбензол.

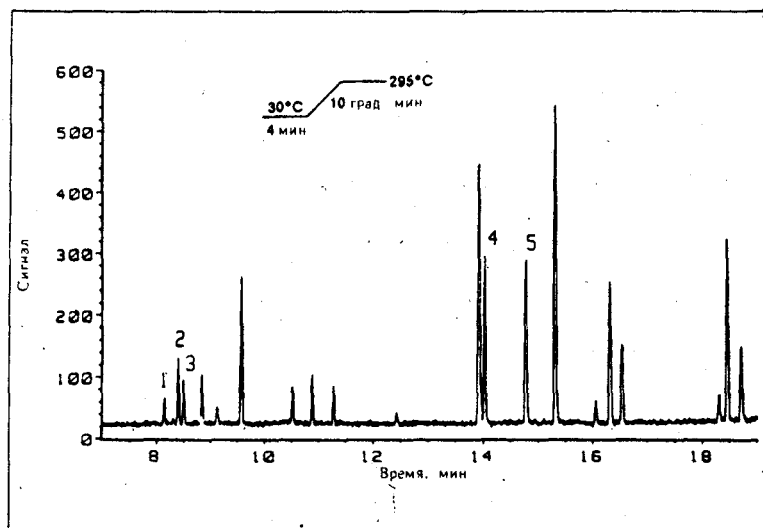


Рис. 8-33. Хромато-масс-спектрометрическое определение компонентов смеси загрязнителей воздуха. Колонка 12м x 0,32 мм, НФ поперечноситый 5% фенилметилсиликон, $d/1,0$ мкм.

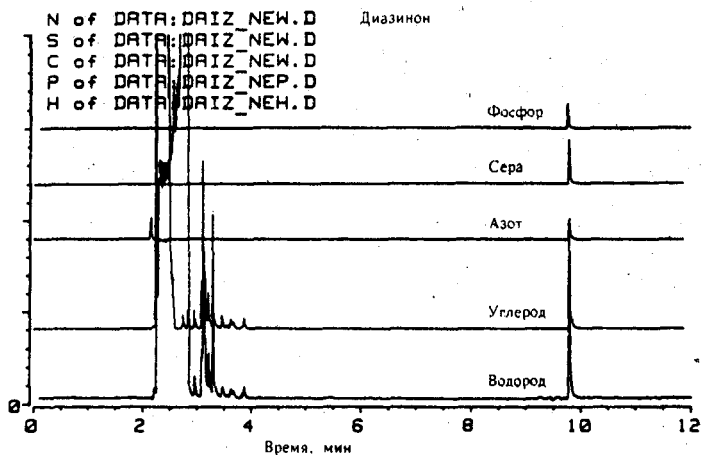


Рис. 8-34. Определение диазинона методом ГХ при атомно-эмиссионном детектировании с микроволновой гелиевой плазмой. Режим программирования температуры от 100°C (1 мин) до 250°C со скоростью 10 град/мин. Температура узла ввода и линии соединения 200°C.

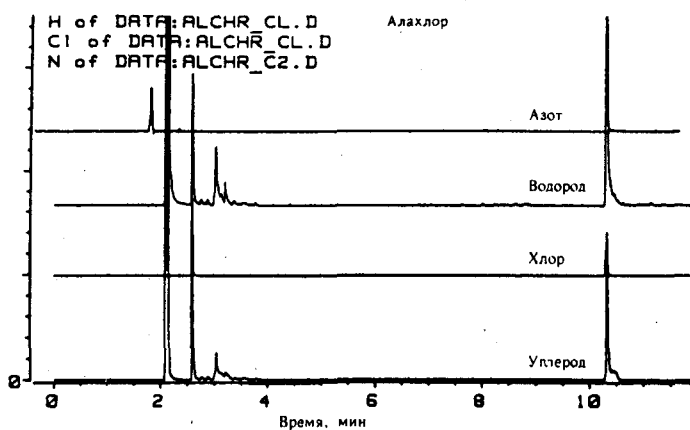


Рис. 8-35. Определение арохлора методом ГХ с атомно-эмиссионным детектированием и микроволновой гелиевой плазмой. Режим программирования температуры от 100°C (1 мин) до 250°C со скоростью 10 град/мин. Температура узла ввода и соединительной линии 200°C.

Мощные средства детектирования, успехи в области технологии колонок, разработка программного обеспечения и совершенствование хроматографического оборудования существенно расширили область применения газовой хроматографии. Внедрение в хроматографическую практику кварцевых капиллярных колонок способствовало дальнейшему распространению газохроматографических методов для проведения специфических анализов и анализов сложных смесей. Используя капиллярные колонки, можно легко разделить и анализировать многие сложные смеси, анализ которых с насадочных колонок весьма затруднен. Хромато-масс-спектрометрия стала стандартным методом определения лекарственных средств в таких областях, как криминалистика и терапия. Благодаря высокой надежности качественного и количественного определения, воспроизводимости и меньшей продолжительности анализа капиллярную газовую хроматографию стали применять для решения широкого спектра аналитических задач. Технология капиллярных колонок и хроматографического оборудования в целом находится в постоянном развитии. Ежедневно появляются новые аналитические задачи. Все это способствует более широкому применению КГХ в науке и промышленности. Непрерывный рост роли капиллярной ГХ в аналитической химии свидетельствует о том, что этот метод станет одним из основных методов анализа.

Литература

1. ASTM Standard Method. Simulated Distillation D-2887, Part 24, 1978, 777.
2. Green L. E. 1976. Hydrocarbon Processing, pp. 506.
3. Firor R. L. January 1988. Hewlett-Packard Application Note No. 228-60, Publication No. 43-5954-9198.
4. ASTM Standards, Part 23 1974, 672.
5. ASTM Standards, Part 24 1978, 724.
6. DiSamo F. P., Giarrocco V. J. 1988. Proceedings of the Ninth International Symposium on Capillary Chromatography, pp. 499-511. Heidelberg: Huethig Verlag.
7. Sadler D. A. October 1980. PONA Analysis by Gas Chromatography, Gulf Coast Instrumental Analysis Group, 69th Meeting.
8. Green L. E., Matt E. September 1982. Hewlett-Packard Technical Paper No. 100, Publication No. 43-5953-1656.
9. Naizhong Zou, Green L. E. 1985. Proceedings of the Sixth International Symposium on Capillary Chromatography, pp. 466-475. Heidelberg: Huethig Verlag.
10. Firor R. L. August 1987. Hewlett-Packard Application Note No. 228-55, Publication No. 43-5954-9171.
11. Green L. E., Naizhong Zou. May 1986. Hewlett-Packard Technical Paper No. 10, Publication No. 43-5953-1839.
12. Naizhong Zou, Green L. E. February 1986. Hewlett-Packard Technical Paper No. 116, Publication No. 43-5954-7566.
13. Watts V. W., Simonick T. F. 1986. J. Anal. Toxicol., 10, 198-204.

14. *Newton B., Foery R. F.* 1984. *J. Anal. Toxicol.*, 8, 129-134.
15. *Hyver K. J.* July 1987. Hewlett-Packard Application Note No. 228-56, Publication No. 43-5954-9172.
16. *Hyver K. J.* November 1986. Hewlett-Packard Application Note No. 228-51, Publication No. 43-5954-7614.
17. *ДотБес* B., Meijer J. W. A.* 1980. *Ther. Drug Monitor*, 2, 385-396.
18. *Burke J. T., Thenot J. P.* 1985. *J. Chromatogr.*, 340, 199-241.
19. *Meijer J. W. A., Rambeck B., Шлеманл M.* 1983. *Ther. Drug Monitor*, 5, 39-53.
20. *Hyver K. J., Gabrio Th.* December 1987. Hewlett-Packard Application Note No. 228-57, Publication No. 43-5954-9183.
21. *Miller L., Berger T.* June 1985. Hewlett-Packard Application No. 228-41, Publication No. 43-5953-1858.
22. *Merrick-Gass M. T., Hyver K. J.; DiUbaldo D.* December 1986. Hewlett-Packard Application Note No. 228-53, Publication No. 43-5954-7620.
23. *Phillips R. J., Wolfstrommer R. J., Freeman R. R.* January 1981. Hewlett-Packard Application Note No. 228-16, Publication No. 43-5953-1543.
24. *Phillipe R. J., Wolstrommer R. J.* February 1981. Hewlett-Packard Application Note No. 228-17, Publication No. 43-5953-1563.
25. *Wylie P. L.* January 1986. Hewlett-Packard Application Note No. 228-45, Publication No. 43-5954-7550.
26. *Wylie P. L.* May 1987. Hewlett-Packard Application Note No. 228-50, Publication No. 43-5954-7613.
27. *Wylie P. L.* 1987. *Proceedings of the Eighth International Symposium on Capillary Chromatography*, pp. 482-499. Heidelberg: Huethig Verlag.
28. *Wylie P. L.* 1988. *J. Amer. WaterWorks Assoc.*, 80, 65-72.

Приложение I

Обозначения

| | |
|------------|---|
| A | — коэффициент в уравнении Ван-Деемтера, отражающий вклад вихревой диффузии |
| B | — коэффициент в уравнении Ван-Деемтера, отражающий вклад продольной диффузии |
| C | — коэффициент в уравнении Ван-Деемтера, характеризующий сопротивление массопереносу |
| $C_{i,m}$ | — концентрация i -го компонента в подвижной фазе |
| $C_{i,s}$ | — концентрация i -го компонента в неподвижной фазе |
| C_m | — сопротивление массопереносу в подвижной фазе |
| C_s | — сопротивление массопереносу в неподвижной фазе |
| D_m | — коэффициент диффузии в подвижной фазе |
| D_s | — коэффициент диффузии в неподвижной фазе |
| d | — внутренний диаметр колонки |
| df | — толщина пленки неподвижной фазы |
| H | — высота, эквивалентная эффективной теоретической тарелке |
| h | — высота, эквивалентная теоретической тарелке |
| h_{\min} | — теоретическое минимальное значение |
| I_a^S | — индекс удерживания Ковача для компонента a , измеренный на неподвижной фазе |
| K_D | — коэффициент распределения |
| k | — коэффициент емкости |
| L | — длина колонки |
| N | — число эффективных теоретических тарелок |
| n | — число теоретических тарелок |
| $n_{i,m}$ | — число молей i -го компонента в подвижной фазе |
| $n_{i,s}$ | — число молей i -го компонента в неподвижной фазе |
| R | — разрешение |
| r | — внутренний радиус колонки |
| δz | — относительное стандартное отклонение |
| TZ | — число разделений |
| t_m | — время удерживания неудариваемого компонента (мертвое время колонки) |
| t_R | — время удерживания |
| t'_R | — приведенное время удерживания |
| $V-m$ | — объем колонки, занимаемый подвижной фазой |
| V_s | — объем колонки, занимаемый неподвижной фазой |
| W_b | — ширина пика у основания |
| W_h | — ширина пика на половине высоты |
| a | — относительное время удерживания |
| β | — фазовое отношение |
| μ | — средняя линейная скорость подвижной фазы |
| σ | — дисперсия хроматографического пика |

Приложение II

Применяемые сокращения

| | |
|-------|---|
| АФД | — азотно-фосфорный детектор |
| АЭД | — атомно-эмиссионный детектор |
| ВЭЖХ | — высокоэффективная жидкостная хроматография |
| ВЭТТ | — высота, эквивалентная теоретической тарелке |
| ВЭЭТТ | — высота, эквивалентная эффективной теоретической тарелке |
| ГПХ | — гель-проникающая хроматография |
| ГХ | — газовая хроматография |
| ГХ-ИК | — газовая хроматография с ИК-спектроскопическим детектированием |
| ДТП | — детектор по теплопроводности |
| ЖХ | — жидкостная хроматография |
| КГХ | — капиллярная газовая хроматография |
| МГХ | — многомерная газовая хроматография |
| МСД | — масс-селективное детектирование |
| ПИД | — пламенно-ионизационный детектор |
| ПФД | — пламенно-фотометрический детектор |
| СФХ | — сверхкритическая флюидная хроматография |
| ТСХ | — тонкослойная хроматография |
| ХМС | — хромато-масс-спектрометрия |
| ЭЗД | — электрозахватный детектор |
| FS | — плавленный кварц |

FSWCOT — полая капиллярная колонка, на внутреннюю поверхность которой нанесена НФ
HP — фирма Hewlett-Packard
MIP — микроволновая плазма
PLOT — полая капиллярная колонка, на внутреннюю поверхность которой нанесен слой адсорбента
PNA — парафиновые, нефтенные и ароматические углеводороды
RI — индекс удерживания
SCOT — полая капиллярная колонка, на внутреннюю поверхность которой нанесен пористый слой, а затем — НФ
S/N — отношение сигнал/шум
WCOT — полая капиллярная колонка, на внутреннюю поверхность которой, нанесена НФ

Приложение III

Словарь хроматографических терминов

Адсорбент — хроматографическая неподвижная фаза, применяемая в газоадсорбционной хроматографии.

Время удерживания t_R — время, необходимое для элюирования компонента из колонки и измеренное относительно максимума пика.

ВЭП h — высота, эквивалентная теоретической тарелке. Мера эффективности колонки.

Индекс удерживания (Ковача) I' — система измерения удерживания компонента a на некоторой неподвижной фазе s как некоего гипотетического та-алкана.

Кварцевое стекло — стекло, применяемое для изготовления трубок хроматографической колонки. Кварцевое стекло считается лучшим среди различных сортов стекла благодаря присущей ему прочности, эластичности и химической инертности поверхности.

Константы Мак-Рейнольдса — система для характеристики селективности неподвижных фаз по измерениям их селективности относительно сквалана.

Константа распределения KD — константа равновесия анализируемого вещества между двумя фазами (подвижной и неподвижной) в хроматографической системе.

Коэффициент распределения k — мера распределения компонента пробы между неподвижной и подвижными фазами. Называют также коэффициентом емкости.

Мертвое время t_m — время, в течение которого компоненты находятся в подвижной фазе; измеряется как время удерживания несорбируемого компонента. Называют также временем остановки («hold-up»).

Неподвижная фаза — в газовой хроматографии это фаза, определяющая селективные взаимодействия между компонентами пробы и хроматографической системой. Неподвижная фаза представляет собой полимерную жидкость или твердый адсорбент.

Перегрузка — насыщение неподвижной фазы компонентом пробы, вызывающее искажение формы пика.

Подвижная фаза — фаза в хроматографической системе, перемещающаяся относительно другой (неподвижной). В капиллярной газовой хроматографии подвижная фаза представляет собой газ-носитель.

Полиимид — материал, применяемый в качестве внешнего защитного покрытия кварцевых капиллярных колонок.

Поперечно-сшитая неподвижная фаза — полимер иммобилизованный на стенке колонки; обеспечивает увеличение длительности работы колонки и прочность фазы.

Степень разделения R — способность хроматографической системы разделять "критическую пару" (т. е. два наиболее трудно разделяемых компонента).

Унос — уровень шума нулевой линии, связанный либо с истечением из колонки продуктов разложения неподвижной фазы, либо с выделением низкомолекулярных полупродуктов синтеза, находящихся в объеме полимера.

Толщина пленки df — толщина неподвижной фазы, нанесенной на внутреннюю поверхность колонки.

Фазовое отношение ft — отношение объема колонки, занятого подвижной фазой, относительно объема, занятого неподвижной фазой.

Фактор селективности α — относительное удерживание пары компонентов, обычно используемой для определения селективности неподвижной фазы.

"Хвост" — размывание заднего фронта пика, связанного с неидеальным извлечением компонента.

Число разделения TZ (Trennzahl) — мера эффективности, выраженная как разрешение двух соседних членов гомологического ряда, отличающихся на одну группу —CH₂—.

Число теоретических тарелок n — мера хроматографической эффективности, обычно используемая в хроматографии с глубоким разделением для оценки эффективности колонки.

Эффективность — мера расширения зоны вещества при его прохождении через колонку.

Эффективность нанесения неподвижной фазы — отношение эффективности колонки относительно идеального значения для минимальной высоты теоретической тарелки h_{um} . Вычисляется также как процентное отношение к теоретической эффективности (UTE).

PLOT (ОКК-ПС — открытая капиллярная колонка с пористым слоем) — колонка для капиллярной газоадсорбционной хроматографии, изготовленная осаждением слоя адсорбирующего материала на внутренние стенки трубки.

WCOT (ОКК — открытая капиллярная колонка) — капиллярная колонка, используемая в газожидкостной хроматографии, в которой неподвижная жидкая фаза наносится в виде равномерного слоя на внутреннюю стенку трубки.