

УДК 543.544.32

ПОВЫШЕНИЕ ВОСПРОИЗВОДИМОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ИНДЕКСОВ УДЕРЖИВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АДсорбЦИОННЫХ КАПИЛЛЯРНЫХ КОЛОНОК

Уколова Е.С., Зенкевич И.Г.

*Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург,
e-mail: Lenaivleva07@mail.ru*

Одним из главных факторов, определяющих межлабораторную воспроизводимость газохроматографических индексов удерживания, является редко принимаемая во внимание их зависимость от соотношения характеризуемых и реперных компонентов. Показано, что данная зависимость в разной степени проявляется не только в распределительном, но и в адсорбционном варианте хроматографического разделения. Следовательно, ее необходимо учитывать для повышения воспроизводимости измерения хроматографических индексов в газо-адсорбционной хроматографии, в том числе с использованием капиллярных колонок.

Ключевые слова: газоадсорбционная хроматография, газохроматографические индексы удерживания, воспроизводимость, соотношение реперных и характеризуемых компонентов.

INCREASING THE REPRODUCIBILITY OF GAS CHROMATOGRAPHIC RETENTION INDICES USING PLOT CAPILLARY COLUMNS

Ukolova E.S., Zenkevich I.G.

The St.-Petersburg state university, St.-Petersburg, e-mail: Lenaivleva07@mail.ru

One of the main factors determining the interlaboratory reproducibility of gas chromatographic retention indices, is rarely taken into account their dependence on the ratio of the characterized and reference components. It is shown that this relationship is observed not only in distribution, but also in the adsorption modes of chromatographic separation. Therefore, it should be considered in improving the reproducibility of chromatographic indices in gas adsorption chromatography, including the use of PLOT capillary columns.

Keywords: gas adsorption chromatography, retention indices, reproducibility, ratio of reference and characterized components

Индексы удерживания (ИУ, обозначение в формулах RI), являются наиболее воспроизводимой хроматографической характеристикой аналитов и на их основе проводят как идентификацию органических соединений, так и определение их физико-химических характеристик. Концепция индексов удерживания широко применяется в хроматографии более 50 лет. Использование таких инвариантов позволяет заменить сопоставление параметров удерживания идентифицируемых аналитов с данными для образцов сравнения операцией их сопоставления со справочными значениями ИУ.

Повышение надежности хроматографической идентификации с использованием ИУ предполагает подробную характеристику возможных ошибок такого подхода и, следовательно, всех факторов, влияющих на межлабораторную воспроизводимость этих параметров. Основными факторами, снижающими межлабораторную воспроизводимость ИУ, являются их температурная зависимость и, в значительной степени, влияние адсорбции определяемых веществ на поверхностях раздела фаз в насадочных и капиллярных колонках [2]. Была также охарактеризована зависимость индексов от количеств дозируемых в хроматографическую колонку образцов [1, 6-8].

Однако существует еще один фактор, влияющий на межлабораторную воспроизводимость ИУ [3-5]. Как ни парадоксально, но его принимают во внимание исключительно редко. Возможно, одной из причин этого оказалось отсутствие упоминания данного фактора в исторически первой работе Ковача, хотя схожие эффекты к тому времени были уже известны [6]. Он заключается не столько в зависимости ИУ от объема дозируемых в хроматографические колонки проб [5], как от гораздо более сильно выраженной зависимости ИУ от соотношения количеств целевых аналитов и реперных компонентов в пробах [3-5, 8].

Настоящая работа продолжает изучение зависимости газохроматографических ИУ от соотношения аналитов и реперных алканов [3-6] на примере газоадсорбционного варианта хроматографического разделения.

Экспериментальная часть

1. Приготовление модельных смесей.

В качестве объектов были выбраны два соединения: 1-пропанол и хлороформ. К 500 мкл смеси реперных алканов C₅-C₆ (1:1) шприцем вместимостью 250 мкл последовательно добавляли по 100 мкл 1-пропанола. В другой серии образцов к 500 мкл 1-пропанола добавляли по 100 мкл смеси реперных алканов C₅-C₆ (1:1).

Смеси *n*-алканов с хлороформом готовили аналогично.

2. Газохроматографический анализ проводили на приборе Shimadzu GC – 2014, с пламенно – ионизационным детектором; колонка HP-PLOT/Q, длиной 30 м; внутренний диаметр колонки 0,32 мм. Режим программирования температуры: 60–250 °С; скорость нагрева 20 °С/мин; температура испарителя 250 °С. Скорость потока газа-носителя (азот) 2,55 мл/мин. Дозирование жидких образцов проводили с делением потока 1:50, микрошприцем Hamilton (10 мкл). Объем пробы 0,2 мкл. Для измерения времен удерживания и площадей пиков использовали пакет программ GC-Solution. Статистическую обработку данных, вычисление линейных индексов удерживания и параметров уравнений линейной регрессии проводили с использованием простейших программ (QBasic), Microsoft Excel (пакет ПО Microsoft Office 2003) и ORIGIN 8.0.

Результаты исследования и их обсуждение

В отличие от зависимостей ИУ от температуры и количества неподвижной фазы в хроматографической колонке [2], влияние соотношения характеризующих и реперных компонентов если и рассматривали, то лишь на полуколичественном уровне [1, 8]. Впервые эту зависимость описали математическим уравнением в публикации [5], а более точное модифицированное уравнение было предложено в статье [4].

Для оценки соотношения характеризующих и реперных компонентов в реальных образцах целесообразно использовать не отношение их масс (чаще всего оно неизвестно), а отношение (γ) непосредственно измеряемых площадей хроматографических пиков характеризующих аналитов (S_x) к сумме площадей пиков соседних реперных компонентов ($S_n + S_{n+i}$ при условии $t_{R,n} < t_{R,x} < t_{R,n+i}$; $i \geq 1$) [4, 5]:

$$\gamma = S_x / (S_n + S_{n+i}). \quad (1)$$

Для описания зависимости ИУ от соотношения количеств характеризующих аналитов и реперных компонентов в работе [4] было предложено следующее уравнение:

$$RI_x = RI_{x,0} + k \ln \gamma \quad (\gamma > 0), \quad (2)$$

где значения $RI_{x,0}$ и k (для распределительного варианта газохроматографического анализа $k > 0$), вычисляют методом наименьших квадратов. Коэффициент k характеризует «чувствительность» ИУ к изменениям соотношения площадей пиков определяемых и реперных компонентов.

В табл. 1 приведены значения ИУ и параметра γ и $\ln \gamma$ для 1-пропанола на адсорбционной колонке HP-PLOT/Q в режиме программирования температуры. В настоящей работе все аналиты характеризовали линейными ИУ прежде всего потому, что вариации $RI(\gamma)$ проявляются вне зависимости от выбранной формулы расчета индексов.

Кроме того, в настоящее время линейные ИУ являются наиболее часто используемой формой индексов.

Таблица 1
Газохроматографические индексы удерживания 1-пропанола (RI) на адсорбционной колонке HP-PLOT/Q в режиме программирования температуры в зависимости от соотношения площадей пиков аналита и реперных *n*-алканов C_5 и C_6 (γ и $\ln \gamma$)

RI	$\gamma/\ln \gamma$	RI	$\gamma/\ln \gamma$
525,0	0,14/-1,20	518,5	0,69/-0,37
523,2	0,27/-1,32	518,4	0,78/-0,25
521,5	0,40/-0,91	517,7	0,81/-0,22
521,4	0,41/-0,90	517,0	1,21/0,19
521,1	0,45/-0,81	516,5	1,21/0,19
520,4	0,50/-0,69	516,4	1,48/0,39
520,2	0,54/-0,61	515,9	1,17/0,16
520,1	0,57/-0,56	516,7	1,66/0,51
519,0	0,62/-0,48	515,6	1,67/0,51
518,7	0,70/-0,36	514,0	3,31/1,20

Из данных табл. 1 видно, что γ_{\max} до γ_{\min} варьируют от 1,20 до -1,32, что соответствует вариациям ИУ в пределах 514,0-525,0 (11 ед.инд). Если не принимать во внимание зависимость $RI(\gamma)$, то стандартное отклонение значений ИУ при среднем значении индекса 518,9 составляет 2,8.

Зависимость $RI(\gamma)$ в газоадсорбционном варианте хроматографического разделения впервые была описана линейным уравнением (3) [5], принципиальным отличием которого от предлагаемого нами соотношения (2) является вид функции $RI(\gamma)$. При этом знаки коэффициентов k и k' в уравнениях (2, 3) одинаковы.

$$RI_x = RI_{x,0} + k' \gamma. \quad (3)$$

Графическая иллюстрация зависимости $RI(\gamma)$ в соответствии с уравнением (3) представлена на рис. 1б и подтверждает ее нелинейность. Если же использовать аргумент не γ , а $\ln \gamma$ (уравнение (2)), то линейность зависимости подтверждается высоким значением коэффициента корреляции $r = 0,958$ (рис. 1а). Остальные параметры уравнения линейной регрессии приведены к подписи к рис. 1.

Таким образом, зависимость $RI(\gamma)$ в газоадсорбционном варианте хроматографического разделения может быть аппроксимирована тем же уравнением, что и зависимость этих параметров в газожидкостном варианте хроматографического разделения, единственным отличием является знак коэффициента $k < 0$. Следовательно, этот факт исключает необходимость дальнейшего использования уравнения (3).

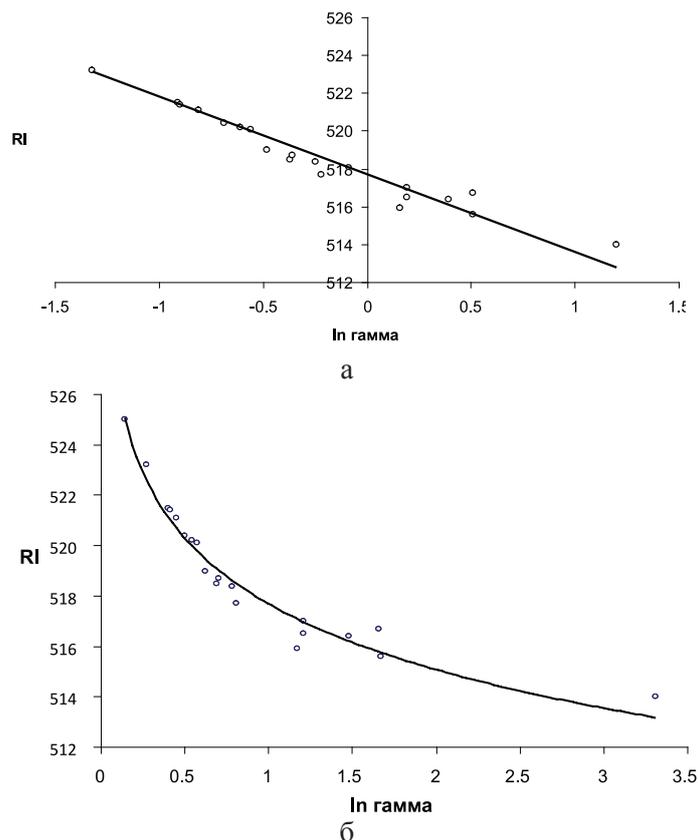


Рис. 1. Графическая иллюстрация линейности зависимости индексов удерживания *n*-пропанола от $\ln\gamma$ (а) в сравнении с нелинейностью зависимости $RI(\gamma)$ (б) на адсорбционной колонке HP-PLOT/Q в режиме программирования температуры. Параметры линейной регрессии $RI_x = RI_{x,0} + k \ln\gamma$: $RI_{x,0} = 517.7 \pm 0.2$, $k = -4.1 \pm 0.3$, $r = 0.958$, $S_0 = 0.8$

Существование столь отчетливо выраженной зависимости $RI(\gamma)$ доказывает, что при проведении газо-адсорбционного анализа для получения более воспроизводимых значений индексов необходимо учитывать зависимость ИУ от соотношения характеризуемых и реперных компонентов.

Столь важный вывод требует дополнительного подтверждения на примере соединения другой химической природы. В нашем случае мы выбрали хлороформ, так как, в отличие от 1-пропанола, в нем не содержится активных атомов водорода.

В табл. 2 приведены значения ИУ и параметра γ и $\ln\gamma$ для хлороформа.

Из данных табл. 2 видно, что значения ИУ варьируют в пределах от 560,5 до 573,3 (13 ед. инд), среднее значение индекса составляет 567,5 (справочное значение ИУ для хлороформа на Порапаке Q составляет 559).

Графическая иллюстрация зависимости $RI(\gamma)$, в соответствии с уравнением (2), представленная на рис. 2а, иллюстрирует линейный характер этой зависимости ($r = 0,992$) во всем диапазоне вариаций параметра γ . Остальные параметры уравнения линейной регрессии приведены в подписи к рис. 2. Этот факт, согласующийся с данны-

ми для 1-пропанола, показывает, что предложенное ранее в работе [5] уравнение (3) для варианта газоадсорбционного хроматографического разделения, может быть заменено уравнением (2).

Таблица 2

Газохроматографические индексы удерживания хлороформа (RI) на адсорбционной колонке HP-PLOT/Q в режиме программирования температуры в зависимости от соотношения площадей пиков аналита и реперных *n*-алканов C_5 и C_6 (γ и $\ln\gamma$)

RI	$\gamma/\ln\gamma$	RI	$\gamma/\ln\gamma$
573,3	0,02/-3,82	567,4	0,08/-2,51
571,1	0,03/-3,36	567,1	0,09/-2,41
570,9	0,04/-3,18	567,0	0,09/-2,40
570,2	0,05/-3,09	567,0	0,10/-2,33
570,0	0,04/-3,32	566,6	0,10/-2,27
570,0	0,04/-3,17	566,4	0,10/-2,34
569,8	0,05/-2,97	565,3	0,13/-2,06
568,7	0,06/-2,80	565,1	0,14/-1,97
568,7	0,06/-2,74	565,1	0,13/-2,02
568,5	0,06/-2,78	564,9	0,12/-2,11
568,2	0,07/-2,65	563,3	0,19/-1,69
568,1	0,07/-2,61	563,4	0,19/-1,69
567,6	0,08/-2,52	560,5	0,41/-0,88

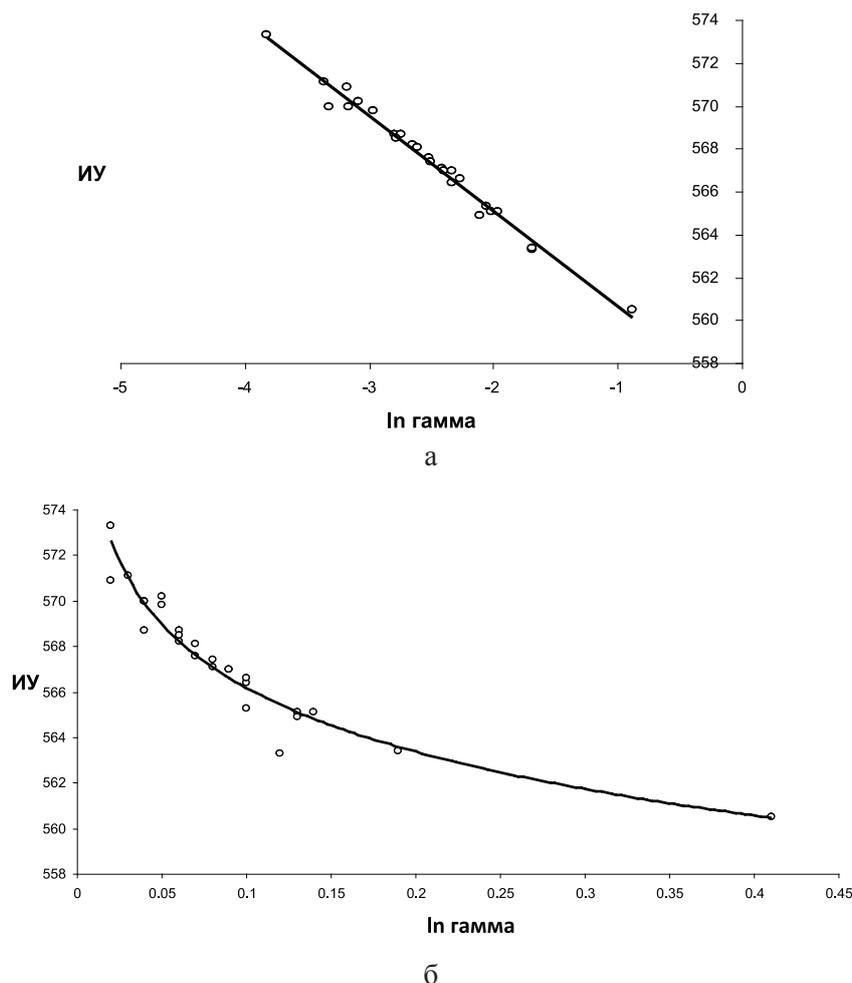


Рис. 2. Графическая иллюстрация линейности зависимости индексов удерживания хлороформа от $\ln \gamma$ (а) в сравнении с нелинейностью зависимости $RI(\gamma)$ (б) на адсорбционной колонке HP-PLLOT/Q в режиме программирования температуры. Параметры линейной регрессии $RI_x = RI_{x,0} + k \ln \gamma$: $RI_{x,0} = 556,2 \pm 0,3$, $k = -4,5 \pm 0,1$, $r = 0,992$, $S_0 = 0,4$

Выявленная зависимость $RI(\gamma)$ и вид уравнения (2) не могут дать однозначного ответа на вопрос, какие значения ИУ из полученного массива данных табл. 1 и 2 нужно принимать в качестве аналитических характеристик целевых объектов. Наиболее рационально выбирать в качестве стандартного значения ИУ величину $RI_{x,0}$, соответствующую $\ln \gamma = 0$ или $\gamma = 1$, т.е. равенству площадей пиков характеризуемых и двух соседних с ними реперных компонентов.

В работе [3] было отмечено, что из-за большого межлабораторного разброса значений ИУ одних и тех же соединений в их средних значениях и, соответственно стандартных отклонениях, нецелесообразно указывать десятые и, тем более, сотые доли. Там же было показано, что основной причиной такого разброса является отсутствие учета зависимости $RI(\gamma)$. Если же принимать такую зависимость во внимание, то в величинах $RI_{x,0}$ десятые доли единиц индексов, становятся значимыми, например,

517,7 ± 0,2 (1-пропанол) и 556,2 ± 0,3 (хлороформ).

Из предварительных экспериментов [4] следует, что в газо-адсорбционной хроматографии закономерности зависимости $RI(\gamma)$ отличаются от закономерностей зависимости (2) в распределительном варианте хроматографического разделения. Физико-химическую интерпретацию значений $k < 0$ можно связать с тем, что в областях хроматографических зон аналитов часть эффективной поверхности сорбентов закрыта за счет их сорбции, что приводит к уменьшению энергий сорбции и связанных с ними времен и индексов удерживания.

Таким образом, зависимость хроматографических индексов удерживания (ИУ) от соотношения характеризуемых и реперных компонентов представляется одним из главных факторов, определяющих межлабораторную воспроизводимость ИУ и возможности их использования для хроматографической идентификации. Зависимость

$RI(\gamma)$ в разной степени проявляется для любых колонок, в том числе для адсорбционных, и относится к наиболее общим хроматографическим закономерностям, что подтверждается результатами данной работы.

Показано, что для повышения воспроизводимости измерения хроматографических индексов (в случае газо-адсорбционной хроматографии) удерживания целесообразно учитывать зависимость их значений от соотношения площадей пиков определяемых веществ и реперных компонентов. К тому же, при необходимости учета зависимости $RI(\gamma)$ в случае газоадсорбционного варианта хроматографического разделения, следует иметь в виду, что использование предложенного ранее уравнения (3), нецелесообразно и оно должно быть заменено логарифмическим уравнением (2).

Список литературы

1. Березкин В.Г., Айвазов Б.В., Лебединская Л.Ф. Влияние адсорбции на межлабораторную воспроизводимость

величин удерживания в газожидкостной хроматографии при использовании насадочных колонок // Журн. аналит. химии. – 1983. – Т. 38, № 8. – С. 1475-1478.

2. Березкин В.Г., Никитина Н.С., Фатеева В.М. Феномен адсорбции и идентификация хроматографических зон в распределительной хроматографии // Докл. АН СССР. – 1973. – Т. 22, № 6. – С. 1179-1183.

3. Зенкевич И.Г., Ивлева Е.С. Об основных факторах, влияющих на межлабораторную воспроизводимость газохроматографических индексов удерживания // Аналитика и контроль. – 2010. – Т. 14, Вып. 4. – С. 243-250.

4. Зенкевич И.Г., Ивлева Е.С. Зависимость газохроматографических индексов удерживания от соотношения характеризуемых и реперных компонентов // Журн. аналит. химии. – 2011. – Т. 66, Вып. 1. – С. 47-55.

5. Зенкевич И.Г., Цибульская И.А. Влияние относительных количеств компонентов смесей на точность измерения газохроматографических индексов удерживания // Журн. аналит. химии. – 1989. – Т. 44, Вып. 1. – С. 90-96.

6. Кейлеманс А. Хроматография газов: пер. с англ. – М.: Изд. иностр. лит., 1959. – 320 с.

7. Vernon F., Suratman J.B. Errors in the measurement of retention index on packed columns // Chromatographia. – 1983. – Vol. 17. – P. 597-599.

8. Vernon F., Suratman J.B. The retention index system applied to alkylbenzenes and monosubstituted derivatives // Chromatographia. – 1983. – Vol. 17. – P. 600-604.