



# Современные аспекты хроматографии

## Качественный анализ в хроматографии

**Минажева Гулшарат Салауатовна – доктор педагогических наук, кандидат химических наук, профессор кафедры АКХиТРЭ**

# КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ В ХРОМАТОГРАФИИ

**1. По времени удерживания** – сравнение времен удерживания индивидуальных соединений с временами удерживания хроматографических пиков.

Основное правило: время удерживания постоянно при постоянных параметрах разделения.

**2. По индексам Ковача** – расчет индексов Ковача по временам удерживания *n*-алканов.

Пример: вещество с индексом Ковача 1750 находится на хроматограмме ровно между  $n\text{-C}_{17}$  и  $n\text{-C}_{18}$

**Индекс удерживания Ковача** – это безразмерный параметр, характеризующий удержание сорбата относительно *n*-алканов. **Индекс** удерживания определяемого вещества равен числу углеродных атомов в молекуле, умноженному на 100 ед. Например, для метана ( $\text{CH}_4$ ) – 100, этана ( $\text{C}_2\text{H}_6$ ) – 200, пропана ( $\text{C}_3\text{H}_8$ ) – 300, декана ( $\text{C}_{10}\text{H}_{22}$ ) - 1000 и т.д.

**3. По спектральной информации**, полученной со спектральных детекторов: сравнение полученных спектров со спектрами индивидуальных соединений (масс-спектрометрический детектор).

Алканы (парафины, также насыщенные или предельные углеводороды) — ациклические углеводороды линейного или разветвлённого строения, содержащие только простые (одинарные) связи и образующие гомологический ряд с общей формулой  $\text{C}_n\text{H}_{2n+2}$ . Это класс алифатических углеводородов, их углеродные атомы связаны друг с другом в прямой последовательности.

## Основные понятия

- Компоненты анализируемой смеси (**сорбаты**) вместе с подвижной фазой передвигаются вдоль стационарной фазы (**сорбента**).
- Анализируемую смесь обычно помещают в стеклянную или металлическую трубку, называемую **колонкой**.
- В зависимости от силы взаимодействия с поверхностью **сорбента** (за счет адсорбции или по какому-либо другому механизму) компоненты будут перемещаться вдоль колонки с **разной скоростью**.
- Одни компоненты останутся в **верхнем слое сорбента**, другие, в меньшей степени взаимодействующие с сорбентом, окажутся в **нижней части колонки**, а некоторые и вовсе **покинут колонку** вместе с подвижной фазой (такие компоненты называются **неудерживаемыми**, а время их удерживания определяет “**мертвое время**” колонки).

## Основные хроматографические параметры:

$t_R$  - время удерживания (*от ввода пробы до максимума пика*), зависит от природы вещества и сорбента, но не зависит от количества пробы. Также,  $t_R$  может меняться от колонки к колонке.

$t_R'$  - исправленное время удерживания,

$$t_R' = t_R - t_m$$

$t_m$  - время пребывания веществ в подвижной фазе (*фактически равно времени прохождения через хроматограф несорбированного компонента*);

$t_s$  - время пребывания в неподвижной фазе.

$V_R$  - удерживаемый объем (объем подвижной фазы):

$$V_R = F \cdot t_R$$

$k$  - фактор удерживания (емкости), эта величина д/составлять от 1,5 до 4;

$\alpha$  - фактор разделения (коэффициент селективности);

$R_s$  - разрешение и оценить эффективность хроматографической колонки.

$$k = \frac{V_R - V_m}{V_m} = \frac{t_R - t_m}{t_m} \quad \alpha = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}} = D_2/D_1$$

$R_s$  - разрешение является мерой полноты разделения двух веществ. Если  $R_s$  равно или больше 1,5 разделение считается полным.

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N_2} \left( \frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \left( \frac{k_2}{1 + k_2} \right)$$

С помощью этих параметров можно оценить эффективность хроматографической колонки.



- *время удерживания* — время от начала анализа до максимума пика;
- *площадь* — область, заключенная между пиком и ограничивающей его базовой линией;
- *высота* — расстояние между базовой линией и максимумом пика;
- *ширина пика* — на половине его высоты.

## **ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПИКОВ**

Идентификация — это отнесение пиков на хроматограмме к тому или иному компоненту из списка компонентов данного метода. При этом производится сравнение рассчитанных параметров удерживания всех обнаруженных на хроматограмме пиков с информацией, хранящейся в таблице компонентов.

Идентификация компонентов по одному или по нескольким детекторам осуществляется следующими способами:

- 1. по индексам удерживания (Ковача);**
- 2. по абсолютному времени удерживания;**
- 3. по относительному времени удерживания;**
- 4. по относительному объему удерживания;**
- 5. по времени удерживания и соотношению интенсивностей пиков на параллельно (последовательно) работающих детекторах;**
- 6. по температурам кипения.**

**Индекс удерживания** (*Retention Index* - **RI**) вещества X в колонке неподвижной фазой характеризуется при температуре T (°C) относительно двух *n*-алканов с числом углеродных атомов *n* и *n+1*, рассчитывается путем линейной интерполяции логарифмов исправленных параметров удерживания:

$$I(X) = 100((\lg t'_R(x) - \lg t'_R(n)) / (\lg t'_R(n+1) - \lg t'_R(n)) + n)$$

при соблюдении условия:  $t'_{R(n)} \leq t'_{R(x)} \leq t'_{R(n+1)}$ .

Главным достоинством системы **RI** является ее наглядность. По определению *n*-алканам приписываются значения индексов удерживания, равные числу углеродных атомов в молекуле, умноженному на 100 ед. Например, для метана – 100, пропана – 300, декана – 1000 и т.д. Водороду приписывается значение индекса равное нулю. Эти числа и образуют в шкале индексов удерживания серию фиксированных точек.

Однако, такое графическое определение индексов удерживания не обеспечивает необходимой точности результатов, и поэтому при выполнении ответственных анализов рекомендуется находить индексы RI расчетным путем.

**Индексы удерживания** (*Retention Index* - **RI**) это безразмерный параметр, характеризующий удержание сорбата относительно *n*-алканов. Широко используется **в качественном анализе** для решения сложных задач, как, например, идентификация компонентов нефти и т.д.

Поскольку численное значение индексов Ковача определяется лишь физико-химическими свойствами анализируемого вещества, природой неподвижной фазы и температурным режимом колонки, **RI** можно поставить в ряд с такими известными константами, как температура кипения (плавления), плотность или показатель преломления.

## Индексы Ковача

$$RI = X \times 100 + \frac{(RT_A - RT(n - alkane X))}{(RT(n - alkane X) - RT(n - alkane X + 1))} \times 100$$

где:

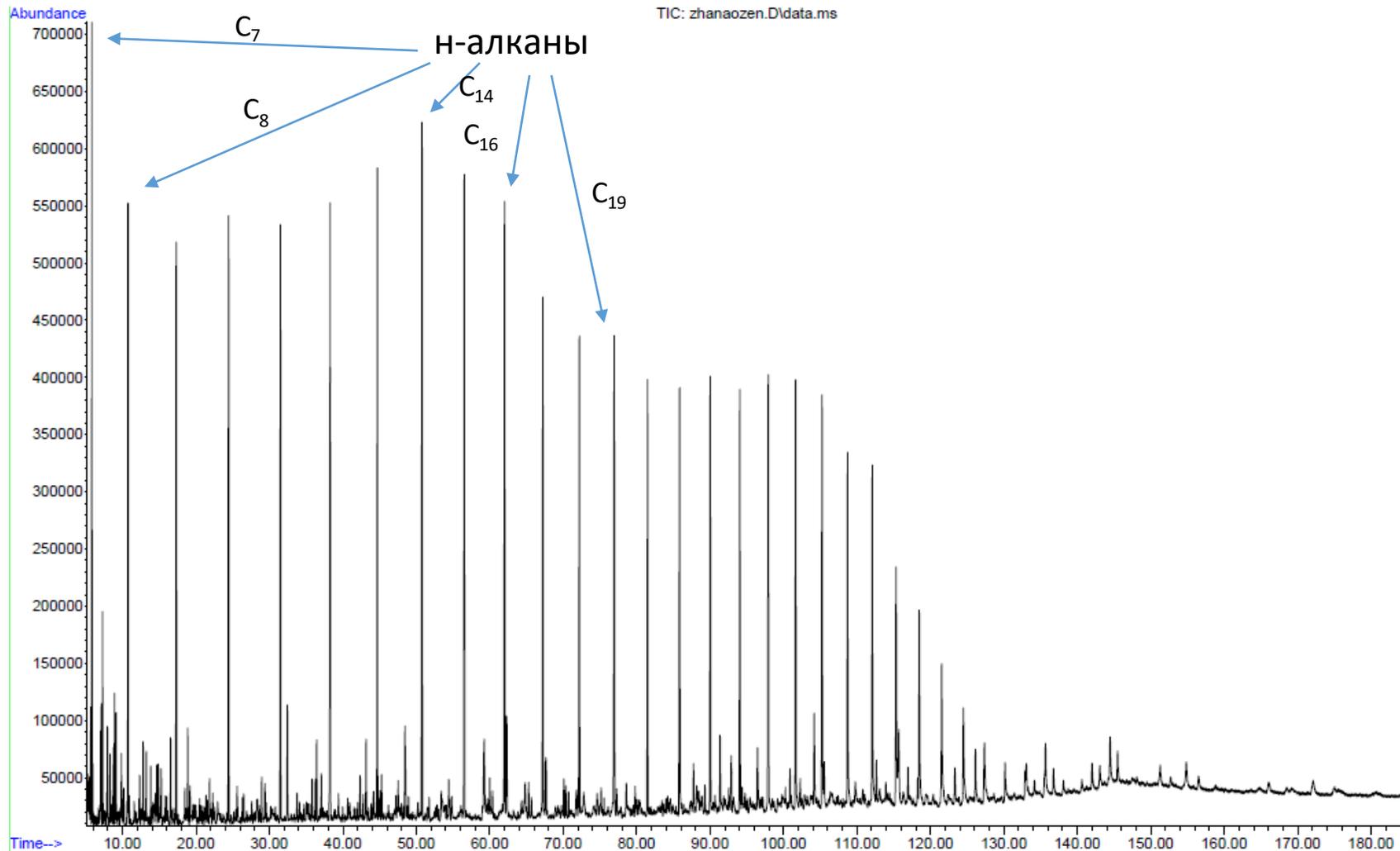
*RI - Retention Index*

*X – номер n-алкана, выходящего из колонки перед анализом;*

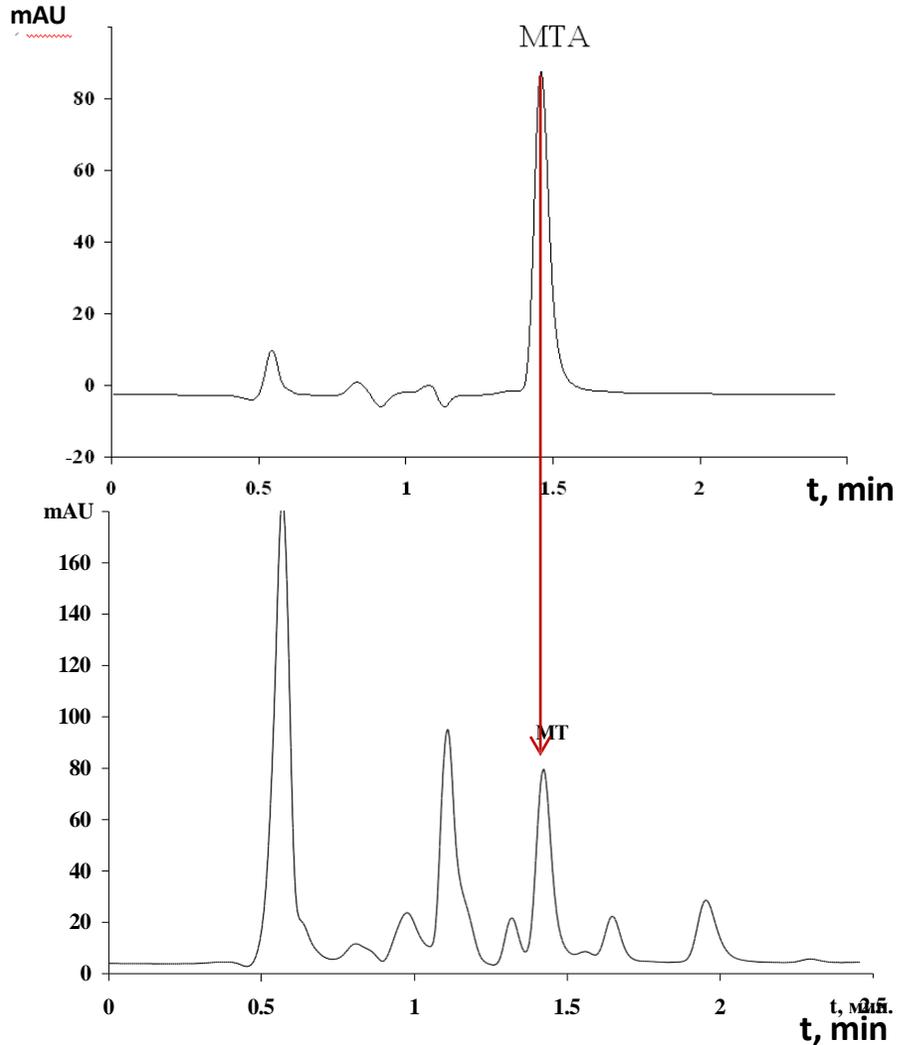
*X+1 – номер n-алкана, выходящего из колонки после анализа;*

*R<sub>T</sub> – время удерживания, мин*

# н-Алканы на хроматограмме нефти



# Идентификация по времени удерживания



Хроматограмма стандарта  
триазола;  
RT = 1.45 min

Хроматограмма образца воды:  
триазол идентифицирован по  
времени удерживания  
(1.45 min)

# Пример 1

Время удерживания неизвестного пика 14,44 мин. Данный пик на хроматограмме находится между пиками  $n\text{-C}_{10}$  и  $n\text{-C}_{11}$ , времена удерживания которых составляют 13,83 и 15,51 мин, соответственно.

Найдите индекс удерживания неизвестного пика.

$$RI = 100 \times 10 + \frac{14,44 - 13,83}{15,51 - 13,83} \times 100 = 1036$$

## Пример 2

Согласно библиотеке NIST, индекс Ковача фенола составляет 955. Проанализировав смесь n-алканов установлены времена удерживания n-C<sub>9</sub> и n-C<sub>10</sub>, которые составили 9,55 и 11,32 мин, соответственно. Определить расчетное время удерживания фенола.

**NIST** – National Institute of Standards and Technology – национальный институт стандартов и технологии США, аналог отечественного ГосСтандарта РК, также ГосСтандарта РФ и т.д..

Институт публикует с начала 1990-х годов Стандарты (FIPS) и более детальные разъяснения/рекомендации (Special Publications) в области информационной безопасности.

*FIPS (Federal Information Processing Standards) - это набор стандартов, опубликованный НИСтТ США. Эти стандарты определяют требования к различным аспектам информационной безопасности, включая алгоритмы шифрования, методы аутентификации, стандарты обработки данных и другие технические аспекты. Важно отметить, что стандарты FIPS обязательны для использования во всех федеральных агентствах США и часто применяются и в частном секторе как рекомендации по обеспечению безопасности информации.*

## Пример 2 - решение

Согласно библиотеке NIST, индекс Ковача фенола составляет 955.  
Проанализировав смесь n-алканов установлены времена удерживания n-C9 и n-C10, которые составили 9,55 и 11,32 мин, соответственно. Определить расчетное время удерживания фенола.

$$955 = 900 + \frac{X - 9,55}{11,32 - 9,55} \times 100$$

$$X = 0,55 (11,32 - 9,55) + 9,55 = 10,52 \text{ мин}$$

В хроматографии идентификация и аутентификация также могут быть применены, хотя эти термины чаще связывают с информационной безопасностью.

**1. Идентификация в хроматографии:** Определение вещества или соединения на основе его уникальных характеристик, таких как время удерживания в колонке хроматографа, спектральные характеристики (например, масс-спектр, УФ-спектр), или другие характеристики, которые сопоставляются с эталонными данными.

**2. Аутентификация в хроматографии:** Проверка подлинности или чистоты образца на основе его совпадения с эталоном или стандартом. Это может включать сравнение результатов хроматографического анализа с данными эталона, а также использование других методов, таких как сравнение спектральных данных или химических свойств. Итак, в контексте хроматографии, идентификация относится к определению вещества, а аутентификация - к проверке его подлинности или соответствия стандарту.

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПО АБСОЛЮТНОМУ ВРЕМЕНИ УДЕРЖИВАНИЯ

Наиболее простой способ идентификации — по времени удерживания, то есть сравнение времени удерживания анализируемого компонента со временем удерживания известного соединения при строго заданных условиях анализа. Для проведения идентификации пика по времени удерживания в библиотеке компонентов должна содержаться информация:

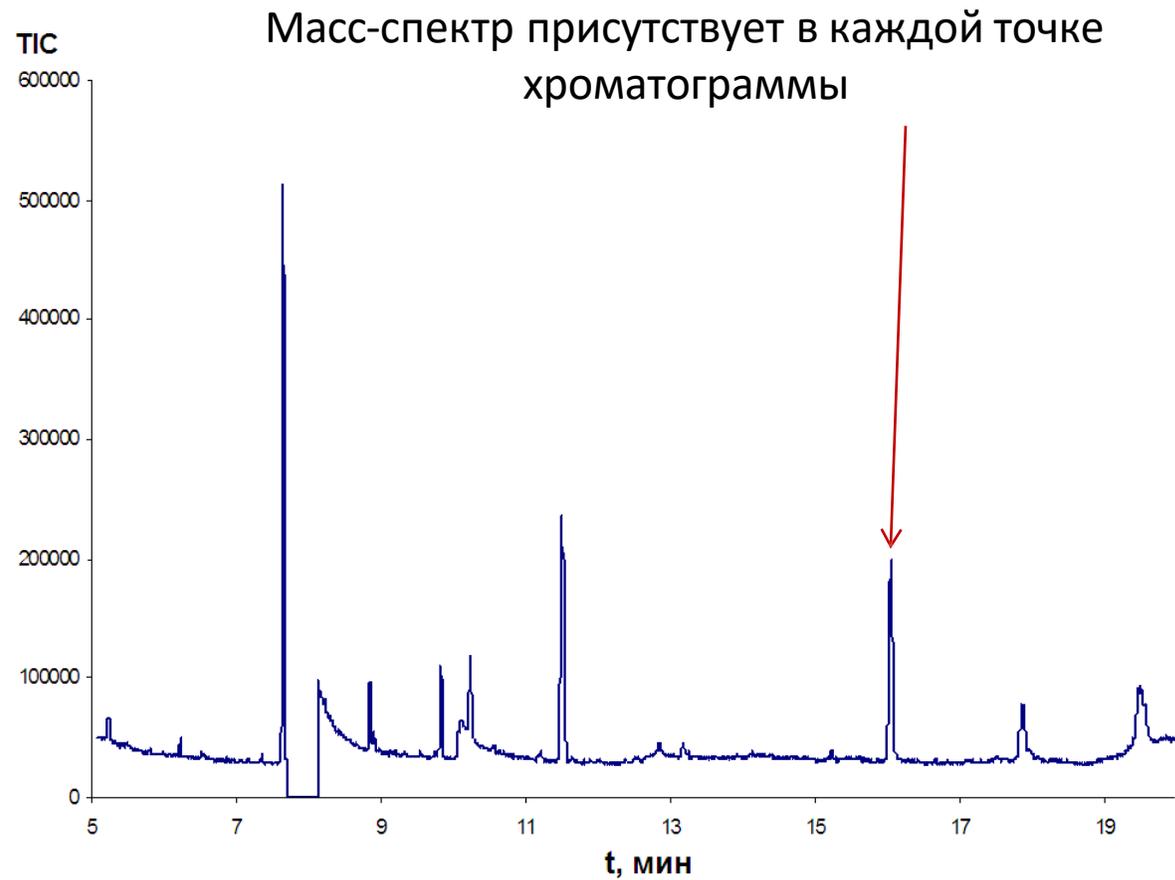
- *наименование компонента;*
- *время удерживания;*
- *окно поиска по времени (в единицах времени).*

Окно поиска — границы области, в которой будет осуществляться поиск пика как в положительную, так и в отрицательную сторону от заданного в таблице параметра удерживания.

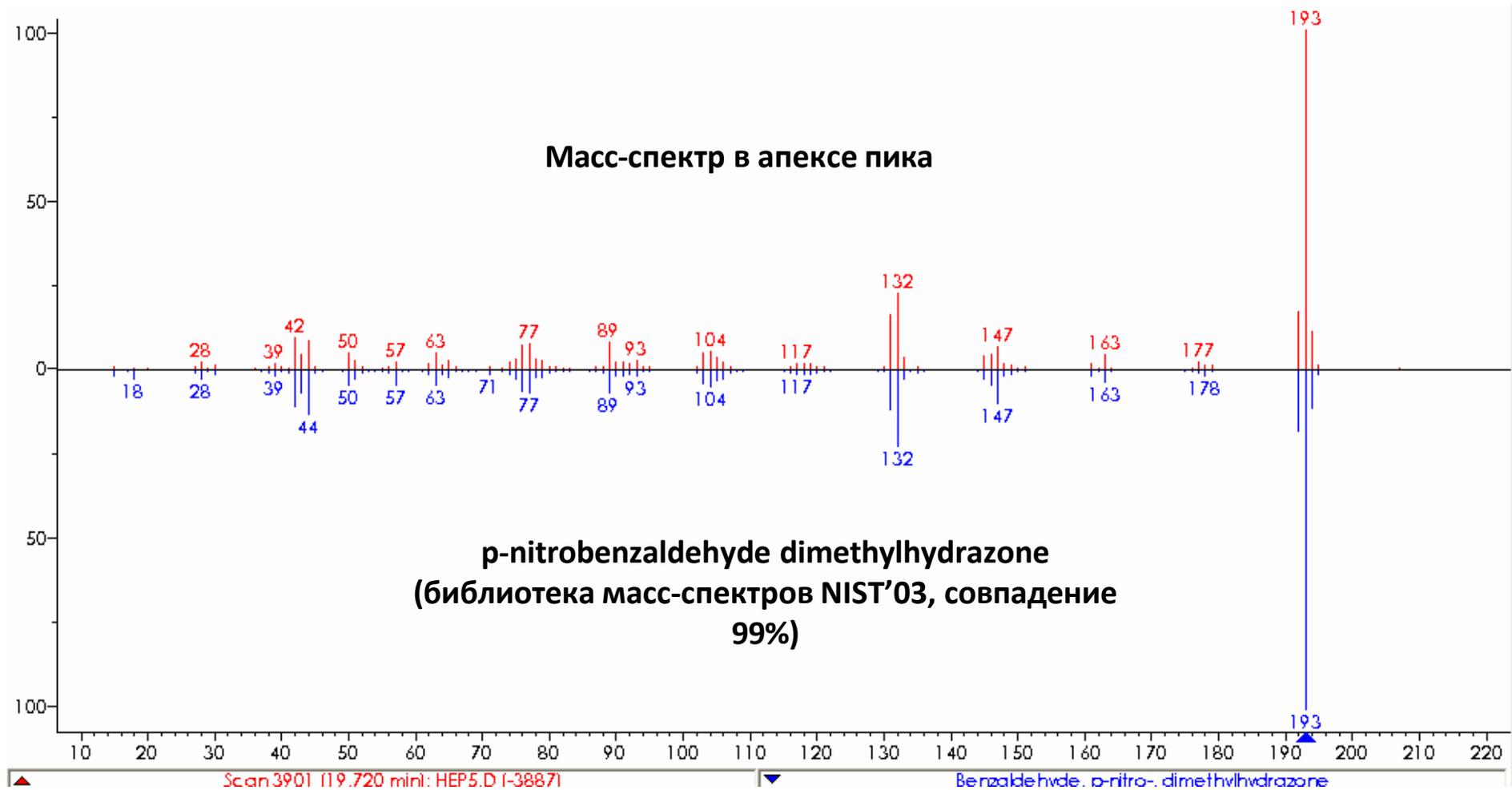
При задании окна необходимо стремиться, чтобы его ширина была достаточной для попадания пика в окно при неизбежных изменениях времени удерживания, но и не слишком большой, чтобы в него не попадали соседние пики.

В случае если в окно поиска попадают несколько пиков, то среди них выбирается пик, имеющий максимальную вероятность идентификации (*наиболее интенсивный или ближайший к библиотечному времени*).

# Идентификация по спектру



# Идентификация по спектру





**ВОПРОСЫ ???**