



## **Современные аспекты хроматографии**

### **Метод добавок в хроматографии**

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

# Метод добавок

Позволяет устранить эффект матрицы

*Эффект матрицы – изменение аналитического сигнала, вызванное любой характеристикой образца, кроме самого аналита.*

Из-за эффекта матрицы для каждого образца необходима своя калибровка.

Эффект матрицы в хроматографии относится к влиянию компонентов образца, которые могут присутствовать в анализируемой матрице, на процесс анализа. Этот эффект может оказывать негативное воздействие на качество и точность анализа, особенно при использовании чувствительных методов анализа, таких как хроматография.

Влияние матрицы может проявляться следующим образом:

Подавление сигнала: Некоторые компоненты матрицы могут подавлять сигналы анализируемых соединений, что приводит к недооценке их концентрации.

Ухудшение разделения: Наличие матрицы может усложнять процесс разделения анализируемых соединений, особенно если матрица содержит аналитические компоненты с близкими свойствами.

Изменение фона: Матрица может вносить изменения в фоновый сигнал, что затрудняет определение аналитов и повышает уровень шума.

Проблемы при извлечении: Извлечение и концентрирование аналитов из матрицы может быть затруднено из-за наличия большого количества компонентов, мешающих анализу.

Для управления эффектом матрицы используются различные методы предобработки образцов, такие как предварительная очистка, разведение образца, экстракция и другие техники, направленные на уменьшение влияния матрицы на результаты анализа. Также часто применяют стандартизацию и калибровку методов анализа с учетом влияния матрицы для обеспечения точности и воспроизводимости результатов.

# Эффект матрицы

Различная эффективность экстракции аналита из различных образцов

Увеличение площади пика аналита за счет элюирования на времени его удерживания компонента матрицы

Химическая трансформация аналита компонентом матрицы в ходе пробоподготовки или анализа

*При использовании хроматографических методов анализа эффект матрицы на стадии анализа минимален*

Элюирование - это процесс перемещения или вымывания анализируемых соединений (аналитов) из неподвижной фазы (например, стационарной фазы в колонке хроматографа) с использованием подвижной фазы (например, жидкости или газа), которая протекает через систему хроматографии.

Основная идея элюирования заключается в том, что различные компоненты смеси, проходя через неподвижную фазу, имеют разную скорость движения или взаимодействуют с ней по-разному. Это приводит к разделению аналитов по времени их выхода из хроматографической системы.

Элюирование может осуществляться в различных типах хроматографии, таких как жидкостная хроматография (ЖХ), газовая хроматография (ГХ) и другие. Кроме того, в зависимости от конкретного вида хроматографии и целей анализа, используются различные типы элюентов (подвижных фаз), различные условия температуры, давления и скорости потока, чтобы добиться оптимального разделения аналитов.

# Анализ одного образца методом добавок

Тщательно усреднить образец и отобрать из него 5-6 параллельных образцов

Приготовить 4-5 калибровочных растворов с разной концентрацией аналита

В каждый из параллельных образцов внести одинаковый объем соответствующего стандарта

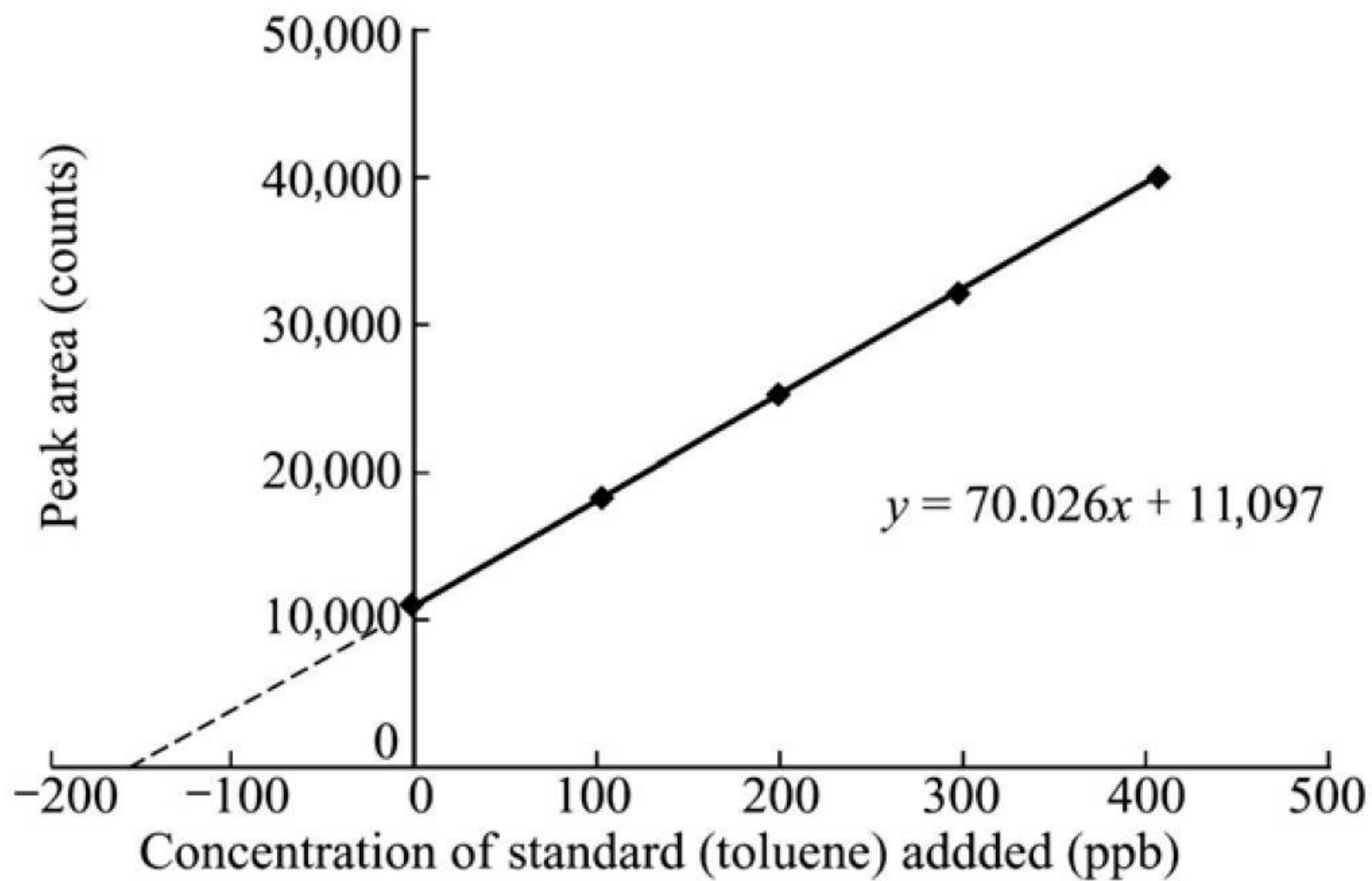
Проанализировать образцы с различными добавками аналита

Найти сигналы аналита ( $S_a$ ) в каждом образце

# Анализ одного образца методом добавок

По результатам анализа образцов с различными добавками построить зависимость  $S_a = f(C_{\text{доб.}})$

По полученной зависимости рассчитать концентрацию аналита в анализируемом образце



## Пример

Образец сточной воды проанализировали на содержание стирола с использованием твердофазной микроэкстракции, газовой хромато-масс-спектрометрии и метода добавок. Для этого в 6 виал внесли по 1,00 мл анализируемого образца и 10,0 мкл растворов стирола в дистиллированной воде концентрациями 50; 100; 200; 500; 1000 and 2000 мкг/л.

Все образцы проанализировали.

Площади пиков стирола составили 6,23; 7,44; 9,46; 15,5; 25,5 и 45,3 у.е.  
Рассчитайте концентрацию стирола в проанализированном образце.

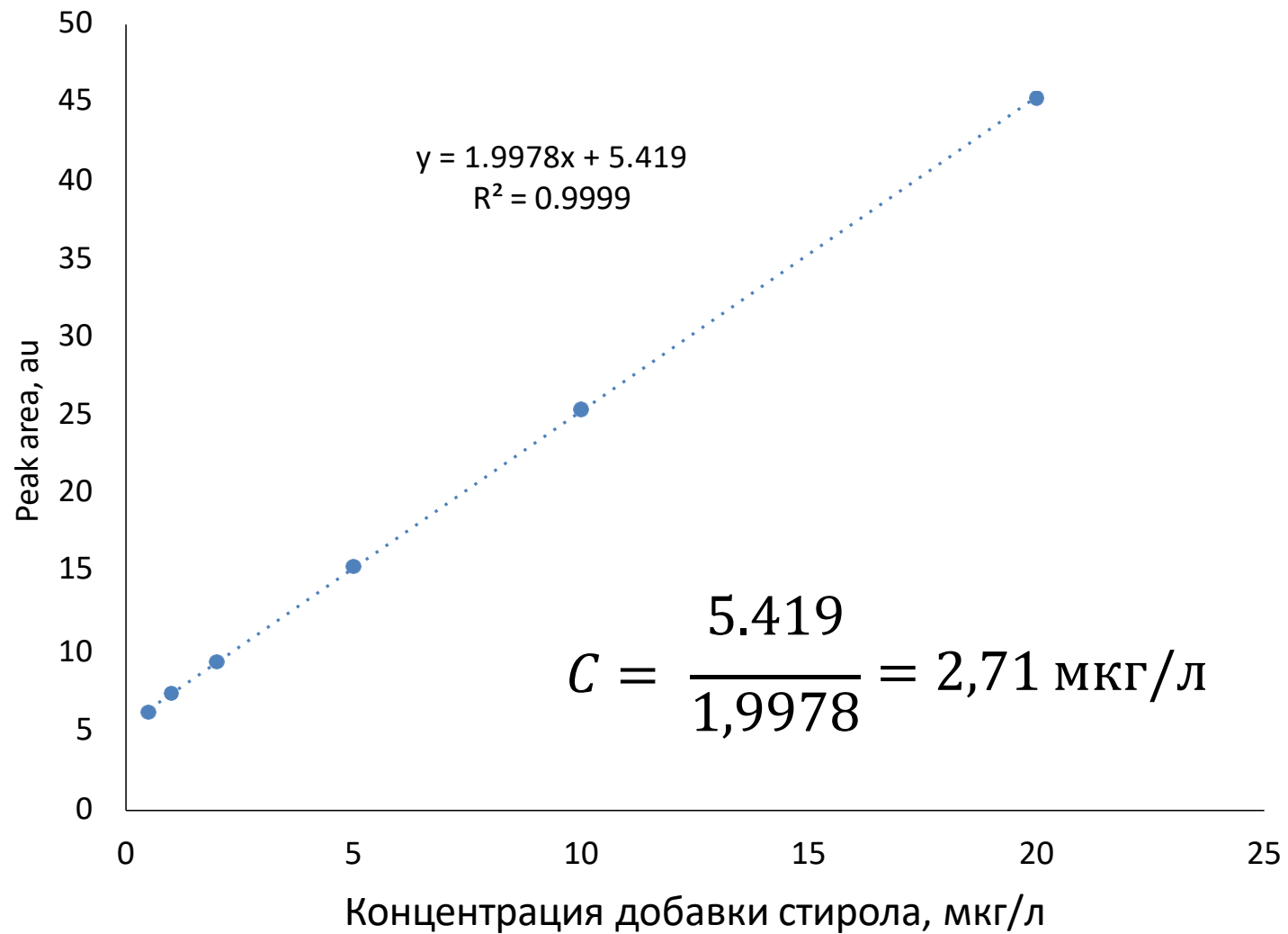
# Расчеты концентраций

| № образца | Объем образца, мл | Объем добавки, мкл | Концентрация аналита в добавке, мкг/л | Концентрация добавки аналита в образце, мкг/л |
|-----------|-------------------|--------------------|---------------------------------------|---|
| 1         | 1,00              | 10,0               | 50                                    | 0,50  |
| 2         | 1,00              | 10,0               | 100                                   | 1,00  |
| 3         | 1,00              | 10,0               | 200                                   | 2,00  |
| 4         | 1,00              | 10,0               | 500                                   | 5,00  |
| 5         | 1,00              | 10,0               | 1000                                  | 10,0  |
| 6         | 1,00              | 10,0               | 2000                                  | 20,0  |

$$C_1V_1=C_2V_2$$



# Калибровка



| C ad, mg/L | S, au |  |        | Slope  | Intercept |      |  |
|------------|-------|--|--------|--------|-----------|------|--|
| 0.50       | 6.23  |  | Value  | 1.998  | 5.419     |      |  |
| 1.00       | 7.44  |  | SD     | 0.0    | 0.1       |      |  |
| 2.00       | 9.46  |  | R2     | 0.9999 | 0.1       | Sy   |  |
| 5.00       | 15.5  |  | RSD %  | 0.4    | 1.3       |      |  |
| 10.00      | 25.5  |  | C mg/L | 2.71   | 1.3       | 0.04 |  |
| 20.00      | 45.3  |  |        |        |           |      |  |

# Сравнение методов анализа

| Метод анализа         | Преимущества   | Недостатки   |
|-----------------------|--|--|
| Внешний стандарт      | <ul style="list-style-type: none"><li>• Простой</li><li>• Недорогой</li><li>• Быстрый</li></ul>  | <ul style="list-style-type: none"><li>• Низкая точность</li><li>• Низкая прецизионность</li><li>• Низкая надежность</li></ul>          |
| Внутренний стандарт   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Контроль всех погрешностей в ходе анализа и пробоподготовки, включая эффект матрицы</li></ul>    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Сложность подбора внутреннего стандарта</li></ul>  |
| Изотопное разбавление | <ul style="list-style-type: none"><li>• Наибольшая точность и прецизионность</li><li>• Аналогично методу внутреннего стандарта</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>• Высокая стоимость изотопно-меченых стандартов</li></ul>  |
| Метод добавок         | <ul style="list-style-type: none"><li>• Контроль эффекта матрицы</li></ul>   | <ul style="list-style-type: none"><li>• Трудо- и времязатратный</li><li>• Анализ каждого образца требует не менее 5 анализов</li></ul> |

# Рекомендации для повышения точности

Использовать хроматографические методы анализа.

Использовать селективные детекторы (МС).

Использовать метод внутреннего стандарта.

Минимизировать и упростить пробоподготовку.

Использовать метод добавок для анализа очень важных образцов и выявления матричного эффекта.

# Важные навыки

Выбор наиболее эффективной методики анализа.

Оценка неопределенностей каждого этапа.

Выявление основных источников неопределенностей.

Выбор эффективного способа их устранения.

**Приготовление растворов с точными концентрациями**

# Задачи для самостоятельного решения:

## Задача 1

Образец вина анализировали на содержание сорбиновой кислоты методом жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием с использованием калибровки по внутреннему стандарту. В качестве внутреннего стандарта использовали раствор кофеина, который вводили в каждый образец концентрацией 100 мг/л. Анализ калибровочных образцов с концентрациями кофеина сорбиновой кислоты концентрации 1, 3, 5, 10, 30, 50 мг/л показал следующие площади пиков сорбиновой кислоты: 238, 672, 1064, 2046, 6255, 12674 у.е. Площади пиков кофеина для этих образцов составили 4968, 4670, 4447, 4223, 4372, 5266 у.е. Определите концентрацию сорбиновой кислоты в анализируемом образце, если по результатам его анализа площади пиков аналита и внутреннего стандарта составили 4704 и 4652 у.е., соответственно.

## Задача 2

В газовый хроматограф ввели 1,0 мкл раствора пестицида ДДТ концентрацией 15 пг/мкл в режиме «без деления потока». Согласно калибровке, площадь пика анализа соответствует концентрации ДДТ 13,3 пг/мкл. Чем может быть вызвано получение заниженных результатов?

ДДТ (дихлордифенилтрихлорэтан) - это органическое соединение из группы хлорированных углеводородов. Оно широко использовалось в прошлом в качестве инсектицида для борьбы с насекомыми, такими как комары и клещи, а также как агент для контроля вредителей сельскохозяйственных культур.

ДДТ был синтезирован в 1874 году, и его эффективность в уничтожении насекомых привела к широкому использованию после Второй мировой войны. Однако со временем стали известны его негативные воздействия на окружающую среду и здоровье человека.

ДДТ накапливается в жировой ткани животных и человека, что может привести к серьезным последствиям для здоровья, таким как нарушения развития, онкологические заболевания и даже смерть. Кроме того, ДДТ может длительное время сохраняться в почве и воде, нанося вред экосистемам.

Во многих странах использование ДДТ в сельском хозяйстве и бытовых целях запрещено или ограничено в целях охраны окружающей среды и общественного здоровья.

Табл 1

| Углеводоро<br>д            | Бензол | Толуол | Нафталин | Циклогексан | Циклогептан |
|----------------------------|--------|--------|----------|-------------|-------------|
| Индекс<br>Ковача, <i>I</i> | 650    | 740    | 1090     | 620         | 725         |

Кесте 2

| Компонент                 | н-С <sub>x</sub> H <sub>2x+2</sub> | С <sub>y</sub> H <sub>z</sub> |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
|                           | А                                  | В                             |
| <i>t</i> <sub>R</sub> , с | 418                                | 91                            |
| <i>t</i> <sub>R</sub> '   | 398                                | 71                            |
| <i>lgt</i> <sub>R</sub> ' | 2,600                              | 1,851                         |

**Задача 3.** Определите углеводороды А и в, используя данные из таблицы 1 и справочные данные по индексам Ковач (Таблица 2).

**Решение:** используя данные из таблицы 2, необходимо вычислить индекс Ковача для соединения А и В.



**Задача 4.** Объем улавливания гептана, Октана и бутилацетата составляет 118, 204 и 173 мл соответственно. Рассчитайте индекс Ковача для бутилацетата.

| № | Алканы      | V <sub>R</sub> , ml | lg V <sub>R</sub> |
|---|-------------|---------------------|-------------------|
| 1 | Гептан      | 118                 | 2,072             |
| 2 | Октан       | 204                 | 2,310             |
| 3 | Бутилацетат | 173                 | 2,238             |

Ковач индексін анықтау формуласы:

$$I_x = \frac{\lg V_R^x - \lg V_R^n}{\lg V_R^{n+1} - \lg V_R^n} \cdot 100 + 100 \cdot n$$

**Задача 5.** Объем удержания Бутана, пентана и этанола составляет 57, 152 и 78 мл соответственно. Рассчитайте индекс Ковача для этанола. Задача 4. время удержания пентана, изобутанола и гексана составляет 54, 67 и 89 с соответственно. рассчитайте индекс Ковакса для изобутанола.



**ВОПРОСЫ ???**