

На правах рукописи



Чепелянский Дмитрий Александрович

**НОВЫЕ ПОДХОДЫ К АНАЛИЗУ СМЕСЕЙ
ЛЕТУЧИХ И СРЕДНЕЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ
МЕТОДАМИ ГХ И ГХ/МС,
ОСНОВАННЫЕ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ ХРОМАДИСТИЛЛЯЦИИ**

02.00.02 - Аналитическая химия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва - 2014

Работа выполнена на кафедре аналитической химии
Химического факультета Московского государственного
университета имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Ревельский Игорь Александрович

Официальные оппоненты:

Доктор химических наук
Бродский Ефим Соломонович
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН (ИПЭЭ РАН)

Доктор химических наук
Зенкевич Игорь Георгиевич
Химический факультет Санкт-Петербургского государственного университета

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный университет», г. Самара

Защита состоится 2 апреля 2014 года в 15 ч. 00 мин. в ауд. 446 на заседании диссертационного совета Д.501.001.88 по химическим наукам при Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, МГУ, Химический факультет.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке МГУ им. М.В. Ломоносова по адресу: г.Москва, Ломоносовский проспект, д.27.

Автореферат диссертации размещен на сайте химического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова (<http://www.chem.msu.ru>) и на сайте ВАК (<http://vak.ed.gov.ru>)

Автореферат разослан 28 февраля 2014 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат химических наук



Торочешникова И.И.

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Одной из важных задач современной аналитической химии является обнаружение, идентификация и определение следовых количеств летучих и среднелетучих органических соединений в органических растворах и газовой фазе, которые могут являться как самим объектом анализа, так и результатом подготовки пробы.

Наиболее распространенным методом определения летучих и среднелетучих примесей в различных объектах является капиллярная газовая хроматография (КГХ) и хроматомасс-спектрометрия (КГХ/МС). Для снижения предела обнаружения используют методы концентрирования (экстракция, сорбционное концентрирование, упаривание и др.) и различные способы увеличения объема вводимой пробы. Существующие подходы, включающие в себя сочетание способов пробоподготовки, способов ввода пробы в газовый хроматограф и условий хроматографического разделения обладают границами применимости как по диапазону летучести аналитов, которые можно определять за один анализ, так и по содержанию следовых компонентов во вводимой пробе относительно макрокомпонентов. Это объясняет условное деление аналитов, которые можно определять методом КГХ-МС, на летучие и среднелетучие соединения, и существование специфических схем анализа для определения указанных групп соединений.

Актуальна разработка подходов, улучшающих возможности способов определения летучих и среднелетучих соединений на серийном ГХ и ГХ-МС оборудовании как за счет расширения круга определяемых соединений за один анализ (расширение диапазона летучести и удерживания регистрируемых аналитов), так и за счет снижения пределов обнаружения при увеличении объема вводимой пробы и предварительном разделении и отделении макрокомпонента. Это особенно важно при анализе объектов неизвестного состава, когда от возможности регистрации и идентификации максимального числа неизвестных компонентов зависит достоверность всего последующего определения.

Основными способами ввода пробы органического раствора в капиллярную колонку при ГХ анализе является ввод пробы с делением потока и без деления потока. В последнем случае часто проявляется «эффект растворителя», который может как сохранить удовлетворительное хроматографическое разделение, так и ухудшить его по сравнению с вводом пробы с делением потока. Таким образом, помимо самой хроматографической колонки в итоговое разделение значительный вклад вносит наличие пленки жидкости, образованной макрокомпонентом пробы, на начальном участке колонки. Теория происходящих процессов при этом предложена Жуховицким и развита Яновским и Золотарёвым в 80-х годах прошлого века, они объясняли появление дополнительного механизма разделения за счет протекания хромадистилляции (ХД), отдельного процесса и метода концентрирования и разделения. Однако это теоретическое обоснование не получило пока широкого распространения в мировой практике, и большинство исследователей продолжает пользоваться бессистемным подбором условий ввода пробы, резюмируя только положительный результат при определении заданных соединений во вводимой пробе. Это проявилось в тенденциях современного КГХ анализа: избегать появления «эффекта растворителя» или принимать в рассмотрение только те аналиты, для которых осуществляется термическое фокусирование и фокусирование неподвижной фазой в используемых условиях газохроматографического анализа. Большинство авторов в литературе только постулирует наличие «эффекта растворителя», описывая только фактического итоговое разделение или не относя полученные факты к проявлению «эффекта растворителя» или хромадистилляции. В редких работах предпринимались попытки использовать этот эффект для определения заданных соединений, близких по

летучести к основному компоненту вводимой пробы, подбирая условия экспериментально.

Ввод пробы в условиях хромадистилляции может потенциально понизить пределы обнаружения в тех случаях, когда концентрирование другими методами затруднительно, или расширить возможности существующих. Несмотря на то, что метод хромадистилляции известен более 40 лет, остается малоизученным вопрос его обоснованного применения для концентрирования и разделения микроколичеств летучих соединений и соединений с близкой летучестью с целью последующего газохроматографического и хроматомасс-спектрометрического анализа как в «off-line», так и в «on-line» вариантах.

Целью настоящей работы являлась разработка новых подходов к обнаружению следовых количеств летучих и среднелетучих примесей в различных объектах, основанных на капиллярной хромадистилляции и ее сочетании с ГХ и ГХ/МС.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Изучить выделение летучих и среднелетучих примесей из раствора в основном компоненте различной летучести с использованием хромадистилляции в сочетании с МС, ГХ и ГХ/МС и возможность снижения пределов обнаружения аналитов.
- Изучить влияние хромадистилляционного эффекта, вызванного основным компонентом вводимой пробы, на результаты хроматографического анализа в зависимости от параметров эксперимента (природы растворителя / основного компонента и примесей, температуры, скорости потока газа-носителя, наличия температурного градиента в пространстве и времени).
- Разработать способы анализа, основанные на вводе проб в капиллярную газохроматографическую систему в условиях хромадистилляции и определить критерии выбора экспериментальных условий.
- Разработать способ концентрирования примесей из органических растворов (чистых веществ), основанный на использовании ХД и последующем анализе концентрата аналитов методом КГХ и КГХ/МС.
- Показать применимость разработанных подходов на примере обнаружения летучих и среднелетучих примесей в нескольких реальных сложных матрицах.

Научная новизна работы. Изучено выделение летучих и среднелетучих примесей из органических веществ различной летучести с использованием капиллярной хромадистилляции в сочетании МС (ЭИ), КГХ и КГХ/МС (ЭИ) в зависимости от условий эксперимента. Показана возможность селективной регистрации примесей различной летучести в процессе хромадистилляционного разделения с основным компонентом анализируемой пробы и их концентрирования и снижения за счет этого их пределов обнаружения. Предложен новый вариант капиллярной хромадистилляции при отрицательном программировании температуры.

Показано влияние хромадистилляционного эффекта, вызванного основным компонентом анализируемой пробы, на результаты хроматографического анализа. Предложены критерии оптимизации условий ввода пробы в капиллярный хроматограф в условиях капиллярной хромадистилляции в зависимости от параметров эксперимента (природы растворителя / основного компонента и примесей, температуры, потока газа носителя, температурного градиента вдоль хромадистилляционной колонки).

Экспериментально определено распределение примесей относительно основного компонента вводимой пробы в условиях хромадистилляции в картридже, заполненном инертным носителем и их переноса термодесорбцией в газовый хроматограф. Предложен способ анализа органических растворов, основанный на концентрировании примесей из больших по объему проб (до 50-100 мкл) органических растворов, при нанесении пробы на инертный носитель, удалении большей части растворителя (основного компонента) в условиях изотермической хромадистилляции, осуществляемый в коротком картридже с этим носителем, и КГХ/МС определении

состава концентрата при вводе пробы в условиях капиллярной хромадистилляции. Показана возможность концентрирования и определения следовых компонентов, близких по летучести к растворителю (но менее относительно летучих).

Исследована возможность использования ряда летучих органических веществ в качестве растворителя пробы и ограничителя перед вводом пробы в капиллярный газовый хроматограф в условиях хромадистилляции для определения летучих и среднелетучих соединений различной полярности. Показано, что по совокупности параметров наиболее подходящим растворителем (ограничителем) является метил-трет-бутиловый эфир (МТБЭ). Развито направление ограничительной капиллярной хромадистилляции при сочетании с ГХ/МС при использовании этого растворителя.

Показано, что для большинства летучих органических растворителей, используемых для ввода пробы в КГХ, наблюдаются хромадистилляционные эффекты при начальной температуре термостата 1-25°C даже при вводе пробы объемом 1 мкл в режиме деления потока 1:50 – 1:5, и необходим учет влияния этих эффектов как при использовании параметров удерживания для целей идентификации, так и при разработке способов высокочувствительного газохроматографического анализа.

Предложен высокочувствительный способ обнаружения летучих примесей в твердых матрицах, основанный на их выделении парами МТБЭ в процессе динамической газовой экстракции, конденсации экстракта и анализе концентрата методом ГХ/МС при вводе пробы в условиях хромадистилляции.

На примере регистрации примесей в ряде летучих и среднелетучих чистых органических веществ при использовании КГХ/МС и стандартного ввода пробы с делением потока и при сочетании с КХД и КГХ/МС показано, что целесообразно установление состава примесей при совместном использовании обоих методов, так как результаты обнаружения примесей обоими методами взаимно дополняют друг друга.

Практическая значимость работы. Полученные закономерности распределения примесей в условиях хромадистилляции для чистых веществ (в том числе распространенных растворителей для ГХ/МС анализа) и состав примесей в них могут быть использованы для разработки и оптимизации методов концентрирования и новых схем анализа.

Результаты проведенного исследования применимы для решения различных задач обнаружения летучих и среднелетучих примесей на уровне следов в чистых органических веществах (стандартных образцах для ГХ, мономеров, растворителях применяемых в микроэлектронике, растворителях высокой степени чистоты и т.д.), в экстрактах из твердых веществ и водных растворов. В отличие от существующих подходов предложенные подходы позволяют более полно установить компонентный состав летучих примесей в летучих органических веществах, экстрактах из твердых нелетучих соединений и матриц с помощью метода ГХ/МС (ЭИ) за один анализ.

Применение предложенных подходов не только улучшает аналитические характеристики метода КГХ и его сочетания с МС, но и расширяет его возможности.

Полученные результаты открывают возможности оптимизации условий ввода пробы в КГХ с помощью испарителя с программируемой температурой (PTV) при переходе от упаривания к хромадистилляционному удалению растворителя: быстрый подбор условий, расширение круга аналитов с точки зрения летучести, возможность избежать применения сорбента при концентрировании летучих аналитов.

Полученные результаты применимы как для решения идентификационных и классификационных задач различных объектов, расширяя возможности использования результатов ГХ/МС анализа экстрактов в качестве многомерного признака объекта за счет увеличения диапазона индексов удерживания регистрируемых компонентов в одном анализе, так и для разработки методик определения большего круга заданных летучих и среднелетучих органических соединений за один анализ, чем позволяют существующие подходы.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Способы изучения элюирования летучих и среднелетучих органических соединений в условиях капиллярной и насадочной хроматодистилляции, основанные на сочетании управляемых условий хроматодистилляции, детектирования состава элюата с помощью ПИД и МС (ЭУ) при разбавлении парогазового потока, или на последующем КГХ-ПИД анализе части элюата.
2. Подходы к выбору условий хроматодистилляционно-газохроматографического анализа для обнаружения летучих и среднелетучих органических соединений в органических растворах и газообразных пробах.
3. Подходы к обнаружению летучих и среднелетучих органических соединений в различных объектах методами КГХ-ПИД и КГХ-МС, основанные на вводе пробы в условиях хроматодистилляции.

Апробация работы. Результаты работы были представлены в виде докладов на Международном симпозиуме по капиллярной хроматографии (Рива дель Гарда, Италия, 2010), на международном молодежном научном форуме «ЛОМОНОСОВ-2013 (Москва, 2013), на Всероссийских конференциях «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез» (Краснодар, 2010, 2013), «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (Екатеринбург, 2011), «Хроматография – народному хозяйству» (Дзержинск, 2010), «Экоаналитика-2011» (Архангельск, 2011), «Аналитическая химия – новые методы и возможности (п.Клязьма Московской обл., 2010)

Личный вклад автора в диссертационную работу заключается в постановке задач исследования, планировании и проведении экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций по теме диссертации, формулировке защищаемых научных положений и выводов. Совместно с Гуляевым И.В. разработана установка для КХД/МС-ПИД и получены результаты экспериментов по элюированию примесей в условиях капиллярной хроматодистилляции на этой установке.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 12 работ в виде 4 статей и 8 тезисов докладов.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, шести глав, заключения, выводов, списка сокращений и условных обозначений, списка терминов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 120 страницах, содержит 51 рисунок, 8 таблиц и список цитируемой литературы из 94 наименований.

Основное содержание работы

Во введении обоснована актуальность исследуемой проблемы, сформулирована цель исследования, определены решаемые задачи, сформулирована научная новизна работы, научно-практическая значимость и положения, выносимые на защиту.

В первой главе диссертации проведен обзор литературы и рассмотрены методы КГХ и КГХ-МС как методы определения состава сложных смесей органических соединений, рассмотрены существующие способы концентрирования и ввода пробы в КГХ и КГХ/МС, систематизированы литературные данные по методу хроматодистилляции, рассмотрены виды хроматодистилляции и перспективы применения хроматодистилляции для разделения, определения и концентрирования различных органических соединений. Обсуждена проблематика обнаружения примесей в чистых летучих и среднелетучих веществах. Обобщено, что потенциально использование метода хроматодистилляции для анализа органических растворов может улучшить существующие на данный момент способы анализа с использованием газовой хроматографии, а именно повысить эффективность разделения и понизить пределы обнаружения примесей, расширить диапазон анализируемых органических соединений (растворителей, субстанций).

На основании анализа литературных данных сформулированы цель и задачи исследования, а также выявлена актуальность работы.

Во второй главе описаны используемое оборудование, исходные вещества, объекты и материалы, общая методика эксперимента

В качестве модельных объектов использовали чистые вещества для хроматографии и их смеси/растворы, стандартные растворы летучих (p/n 32001 Absolute Standards, США) и среднелетучих (p/n 91759 Absolute Standarts, США) органических соединений.

Для изучения процесса КХД с помощью масс-спектрометрии разработана установка I на базе хроматографа фирмы CarloErba модели "5160" с пламенно-ионизационным детектором и масс-спектрометра фирмы Finnigan модели "MAT 4500" с квадрупольным масс-анализатором. В качестве хроматодистилляционной колонки использовали никелевый капилляр ($d_{\text{вн}} = 0,25$ мм, $l = 4$ м). На выходе из хроматодистилляционной колонки поток газа-носителя через тройник разделялся на два (МС/ПИД: 1/4 – 1/50). Для создания отрицательного градиента температуры хроматодистилляционную колонку помещали в гофрированную трубку ($d_{\text{вн}} = 2$ см) из алюминиевой фольги, через которую продували горячий воздух из воздуходувки «Bosch GHG 650 LCE». Установка позволяла плавно регулировать начальную и конечную точку температурного градиента (60 – 200°C) вдоль КХД колонки. Сигнал регистрировали одновременно с ПИД и масс-спектрометром в режиме электронной ионизации (70 эВ). Проводили селективную регистрацию ионов (значения m/z выбирали в каждом случае исходя из состава исходной смеси). Скорость потока через колонку в разных опытах составляла 2 – 7 мл/мин.

Для изучения ХД процессов, происходящих во внешнем устройстве для концентрирования, иглу устройства вводили в испаритель хроматографа установки I при условиях, исключающих проявления ХД эффектов в самой установке.

Для изучения возможности сопряжения ХД концентрирования во внешнем устройстве (картридже с инертным носителем) с ГХ-ПИД использовали хроматограф CarloErba модели 4860 Fractovar, снабженный двухпозиционным делением потока в испарителе. Для мониторинга хроматодистогаммы внешнего концентрирования использовали ПИД хроматографа CarloErba Vega series 2, в который заводили выход линии сброса с наибольшим делением потока от хроматографа 4860 Fractovar. (Установка II)

Для изучения сочетания КХД и ГХ-ПИД использовали хроматограф CarloErba модели 5160, в термостате которых сочленяли последовательно пустую капиллярную предколонку и капиллярную аналитическую колонку через прессфит. (Установка III).

Для изучения сочетания КХД и ГХ/МС использовали ГХ-МС Agilent 6890N/5973inert и ГХ/МС Leco Pegasus HT, в термостате которого перед аналитической колонкой устанавливали пустую ХД предколонку. (Установка IV). Пробу вводили как с помощью автоматического дозатора, так и вручную шприцем. Для изучения хроматодистилляции в лайнере испарителя использовали модернизированный лайнер с инертным носителем внутри (стеклянные шарики и кварцевая вата).

Для сопряжения внешнего ХД концентрирования растворов с ГХ-МС установка IV была модернизирована до установки V с помощью специально разработанного устройства, снабженного линией мониторинга сброса основного компонента пробы с помощью ПИД хроматографа GC 6000 VEGA SERIES 2.

В третьей главе приведены результаты исследование концентрирования и разделения летучих и среднелетучих органических соединений в условиях капиллярной и насадочной хроматодистилляции методами МС и КГХ.

Согласно теории ХД, описанной подробно в работах Жуховицкого, Яновского и Золотарева, в изотермическом варианте бинарная смесь должна разделяться в процессе ХД на две зоны. Первая зона при этом содержит смесь компонентов, а вторая чистый менее летучий компонент. При этом необходимо отметить, что речь идет об относительной летучести, определенной именно для этой смеси.

Если распространить теорию на случай примеси в основном компоненте, то возможны два случая: примесь относительно более летуча или относительно менее летуча, чем основной компонент – растворитель.

Согласно теории ХД профиль элюирования в изотермических условиях из ХД колонки менее летучей примеси должен иметь вытянутый горизонтальный передний участок, заканчивающийся относительно узким пиком. Доля примеси, выделяемой в виде пика, определяется летучестью примеси относительно основного компонента, высота горизонтального участка пропорциональна исходной концентрации примеси в растворе. Профиль элюирования более летучей примеси в этих условиях должен иметь вид прямоугольного импульса, ширина которого определяется летучестью примеси относительно основного компонента, а высота – концентрацией.

Согласно теории можно отнести процессы, протекающие в пустой капиллярной предколонке или в начале разделительной капиллярной колонки в условиях возникновения протяженного слоя жидкости, образованной основным компонентом вводимой пробы, по сути своей являются хромадистилляционными.

Однако в условиях современной капиллярной газовой хроматографии условия изотермической ХД выполняются только в случае ввода пробы cold on-column непосредственно в пустую предколонку, в иных случаях возможно возникновение градиента концентрации примесей по слою основного компонента. Кроме того, теория позволяет предполагать ХД поведение разделяемой смеси исходя из литературных данных по давлению насыщенных паров только для растворов, близким к идеальным.

Можно предположить, что дополнительные процессы, обусловленные устройством и условиями ввода пробы, могут влиять на итоговое КГХ разделение при наличии ХД эффектов, что согласуется с данными из литературы при описании проявления так называемого «эффекта растворителя».

Для изучения процессов, происходящих в пустой капиллярной предколонке нами разработана установка I для КГХ/МС-ПИД (Рис. 1). Установка позволила варьировать условия ввода пробы, условия капиллярной хромадистилляции, одновременно непрерывно регистрировать селективные сигналы примесей и основного компонента по характеристичным ионам с помощью масс-спектрометра и регистрировать общий профиль элюирования с помощью ПИД.

На основании литературных данных по давлению насыщенных паров и результатов предварительных экспериментов в качестве модельного раствора для регистрации профиля элюирования близких по летучести к основному компоненту примесей выбран раствор мезитилена и *n*-ксилола в *n*-нонана (0,05%). Сигнал каждого компонента регистрировали селективно по соответствующему иону в масс-спектре ($m/z = 128, 91, 120$ для *n*-нонана, *n*-ксилола и мезитилена соответственно).

Показано (рис. 1), что мезитилен, как менее летучий компонент, концентрируется в конце ступени *n*-нонана. Часть мезитилена элюируется равномерно вместе с основным компонентом вдоль его ступени (порядка 70% по площади), другая часть (30% по площади) регистрируется в виде острого пика. При этом концентрация мезитилена в газовой фазе в момент выхода пика оказывается в 500 раз выше, чем во время элюирования вдоль ступени *n*-нонана. Ксилол, как более летучий компонент, концентрируется в начале ступени *n*-нонана (пик в конце ступени обусловлен мешающим сигналом мезитилена). В случае более летучей, чем растворитель, примеси согласно теории ХД полоса примеси должна иметь прямоугольную форму на ХДГ. В эксперименте (рис. 1) интенсивность сигнала *n*-ксилола действительно остается постоянной в средней части зоны элюирования примеси, но в начале и в конце форма сигнала отличается от прямоугольной, что можно отнести в возможному существованию температурного градиента в начале ХД колонки из-за нагретого испарителя и отличии экспериментальных условий от изотермических.

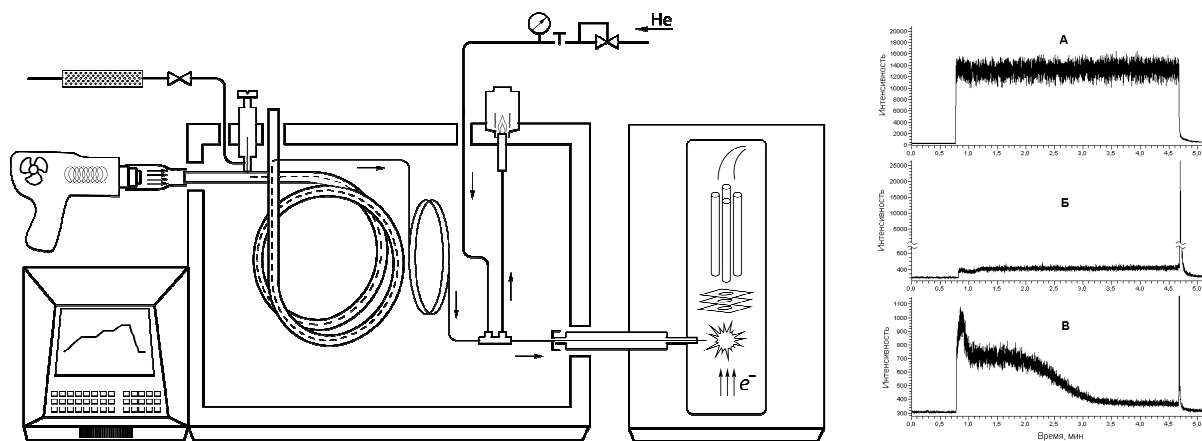


Рис. 1. Схематичное изображение Установки I для исследования КХД с помощью МС и ПИД (слева) и масс-хроматодистогаммы 1 мкл раствора *n*-ксилола и мезитилена (0,05%) в *n*-нонане (справа). $T_{\text{терм}}=50^{\circ}\text{C}$. Сигналы: А) *n*-нонан; Б) мезитилен; В) *n*-ксилол.

Проведение аналогичного опыта с 0,1% растворами *n*-декана, *n*-додекана и *n*-тетрадекана в *n*-нонане (рис. 2) показали, что с увеличением разницы в $T_{\text{кип}}$ менее летучей примеси и основного компонента значительно увеличивается доля выделения в виде пика (что соответствует теории КХД), но в тоже время ширина пика резко увеличивается и происходит отделение пика примесного компонента от заднего фронта ступени основного компонента (что не описывает и не предсказывает существующая теория изотермической ХД). Мы предположили, что основное отклонение от теории в данном случае обуславливается размытием заднего фронта ступени основного компонента и существованием пленки жидкости переменной толщины, которая играет роль своеобразной неподвижной хроматографической фазы переменной емкости для примесей, что и приводит к их отделению от крутого заднего фронта ступени.

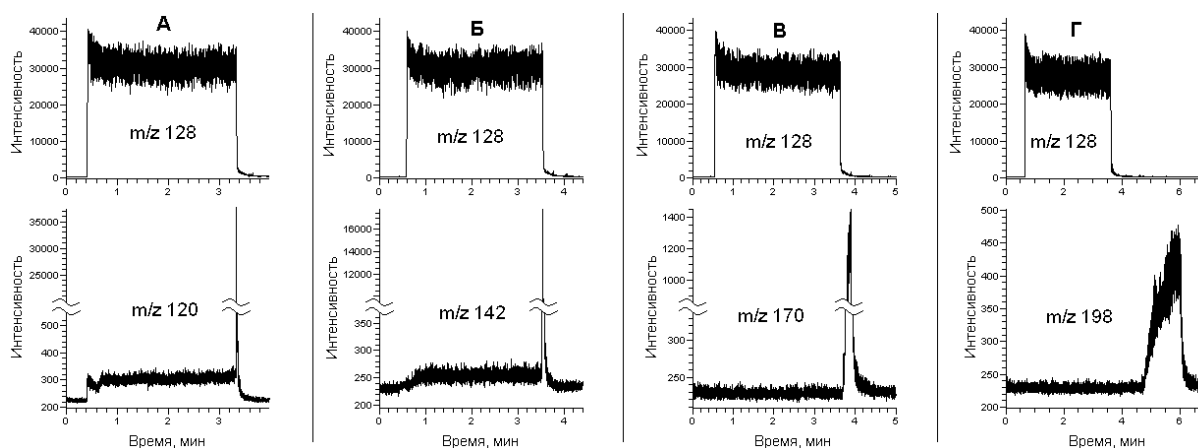


Рис. 2. Масс-хроматодистогаммы проб, содержащих разные примеси в нонане. $T_{\text{терм}}= 60^{\circ}\text{C}$. Объем вводимой пробы – 1мкл. Тиспарителя=250 $^{\circ}\text{C}$ А) *n*-нонан, мезитилен; Б) *n*-нонан, *n*-декан; В) *n*-нонан, *n*-додекан; Г) *n*-нонан, *n*-тетрадекан.

Для создания отрицательного градиента температуры в трубку из фольги, в которую были помещены первые 2 метра капилляра, подавали поток горячего воздуха из воздуходувки с регулируемой температурой и скоростью потока.

Для исследования влияния температуры, скорости потока, наличия/отсутствия градиента температуры, а также величины градиента температуры на профиль распределения и степень отделения примесей использовали модельные растворы компонентов в нонане ($T_{\text{кип}} = 150^{\circ}\text{C}$) с температурами кипения от 105 до 253 $^{\circ}\text{C}$.

В случае изотермической ХД варьировали температуру проведения КХД в пределах 40 – 70 $^{\circ}\text{C}$. Показано, что для легких примесей эффективность отделения выше при низких температурах, а для тяжелых при высоких. Степень отделения (доля вещества,

отделенного в виде пика) с увеличением температуры монотонно возрастает для мезитилена от 26% до 37%, для *n*-декана от 54% до 71%. Это влияние не объясняется теорией изотермической ХД, но может быть объяснено наличием некоторого температурного градиента после испарителя хроматографа, который очевидно зависит от разницы температур испарителя и термостата.

В случае термической ХД варьировали градиент температуры вдоль колонки от 61-50°C (61°C на входе к колонке и 50°C на выходе) до 150-50°C. Для всех примесей степень отделения монотонно увеличивалась с увеличением значения градиента. Для мезитилена степень выделения в форме пика увеличивалась от 29% до 49%, а для декана – от 76% до 88%. Качественный вид зависимости согласуется с описанием процессов термической ХД в литературе.

Если сравнивать изотермическую и термическую КХД, то использование градиента позволило увеличить выделение в виде концентрированной зоны в профиле элюирования всех исследуемых примесей. Для мезитилена степень выделения возрастает в 2 раза, а высота пика в 5 раз; для *n*-декана степень выделения возрастает в 1,5 раза, а высота пика в 2 раза. Можно предположить, что наличие температурного градиента после испарителя хроматографа при условиях протекания хроматодистилляционных процессов в начале капиллярной колонки или предколонки может влиять на итоговое хроматографическое разделение в ряде случаев.

При варьировании скорости потока газа-носителя в диапазоне от 2,6 до 7,3 мл/мин заметного ее влияния на степень отделения выявлено не было.

На примере ХД разделения растворов *n*-декана в *n*-нонано в диапазоне содержания *n*-декана 0,1 - 50% показано, что доля выделения менее летучего компонента в виде пика практически не меняется с изменением концентрации компонента в диапазоне в три порядка. Это целиком подтверждает теорию КХД, согласно которой доля выделения не должна зависеть от концентрации примеси. Следствием этого факта в случае сочетания КХД с КГХ будет являться независимость относительной формы изначальной хроматографической полосы компонента, попадающей на капиллярную колонку с неподвижной фазой, от концентрации во вводимой пробе (меняется только интенсивность полосы с изменением концентрации).

Чтобы доказать, что разделение веществ во внешнем устройстве (картридже с инертным носителем) для концентрирования возможно на основе именно хроматодистилляции, разработали способ сочетания насадочной хроматодистилляции с масс-спектрометрией. Для этого картридж с носителем и картридж без носителя подсоединяли последовательно к испарителю установки I в условиях, исключающих появления хроматодистилляционных эффектов в самой установке I (рис. 3). Проведено сравнение профилей элюирования (испарения) модельной смеси гексан : гептан (50:1) при комнатной температуре в пустом картридже и в таком же картридже, но заполненном кварцеватой в качестве инертного (по отношению к модельным соединениям) носителя. Для обеспечения одинаковых внешних условий элюирования пустой и заполненный картридж меняли местами при нанесении пробы.

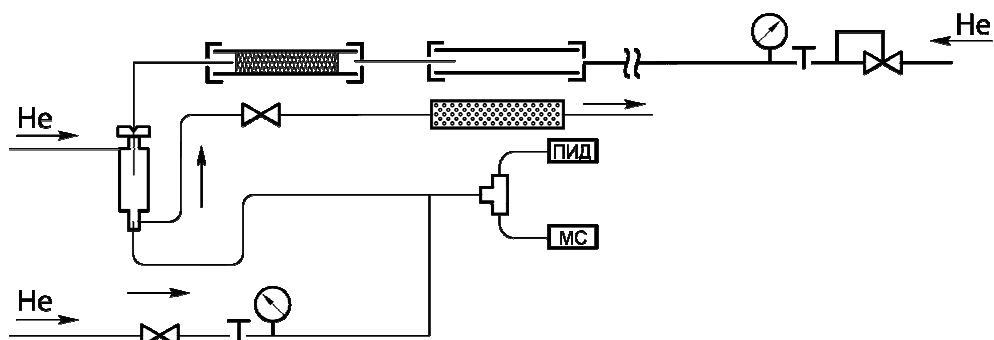


Рис.3. Схематическое изображение установки II для изучения процесса концентрирования летучих органических веществ из растворов в летучем растворителе во внешнем устройстве

Качественный вид профиля элюирования зависит от присутствия в устройстве инертного носителя и объема наносимой пробы (при нанесении малой пробы слой жидкости не распределяется вдоль устройства по ходу потока газа и превалирует упаривание, а не хромадистилляция). Полученные профили концентрирования (рис. 4) наглядно демонстрируют качественный переход от упаривания к хромадистилляционному концентрированию.

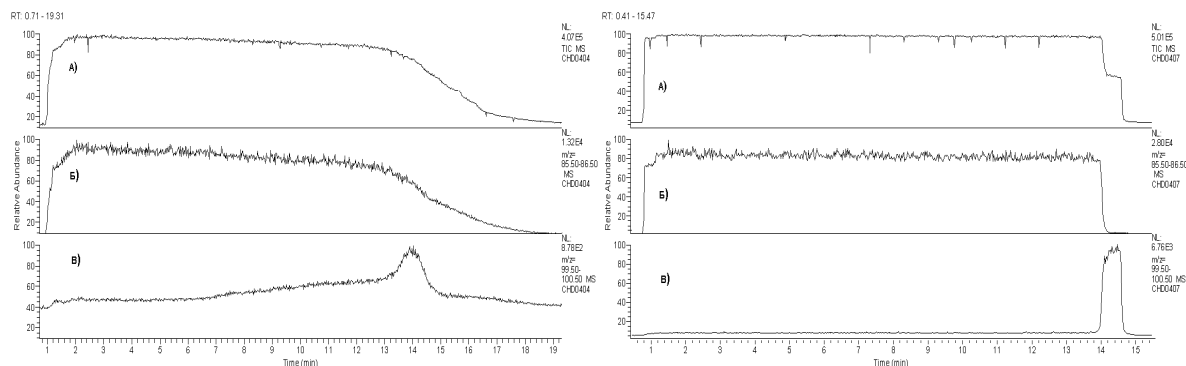


Рис. 4. Профили концентрирования в пустом картридже (слева) и в картридже, заполненном кварцеватой (справа). Объем наносимой пробы модельной смеси *n*-гексан : *n*-гептан (50:1) 30 мкл. Внутренний диаметр картриджа – 2,5 мм, длина – 80 мм. Поток He – около 4 мл/мин. А) суммарный сигнал по общему ионному току, Б) сигнал *n*-гексана, В) сигнал *n*-гептана.

Для дополнительного исследования аналитических возможностей ХД концентрирования разработана экспериментальная установка (рис. 5) на базе серийного ГХ оборудования и методика ее использования, позволяющая контролировать процесс концентрирования во внешнем устройстве и осуществлять ГХ-ПИД анализ концентрата.

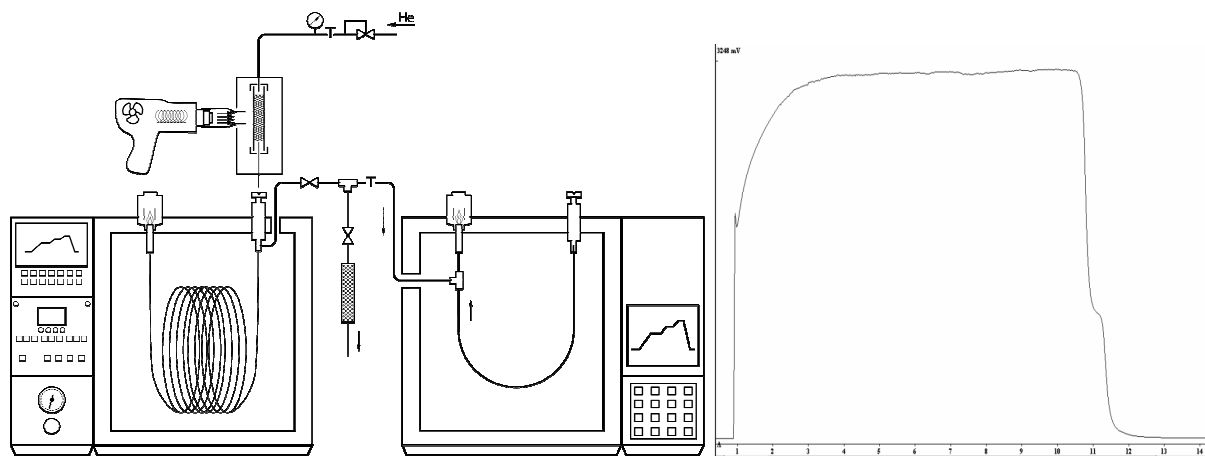


Рис. 5. Схематичное изображение экспериментальной установки III для изучения аналитических возможностей сочетания ХД концентрирования во внешнем устройстве, термодесорбции для перевода концентрата на капиллярную ГХ колонку и ГХ-ПИД анализе концентрата. Справа приведен вид хромадистограммы, полученной при проведении ХД концентрирования гексана в картридже, заполненном кварцеватой, при регистрации профиля элюирования через линию сброса потока газового хроматографа с помощью ПИД.

При выходе ступени основного компонента открыта линия деления потока (деление 1:50) и большая часть растворителя выводится из хроматографа через пламенно-ионизационный детектор, что позволяет следить за профилем элюирования из внешнего устройства. Для предотвращения нагрева картриджа от испарителя во время хромадистилляции и улучшения разделения веществ картридж обдували холодным воздухом. На рис. 5 справа представлена хромадистограмма 40 мкл гексана, полученная на данной установке при ХД концентрировании.

После «падения» фронта растворителя кран перекрывался, и делитель потока изменялся на соотношение 1:5. В этом режиме остаток растворителя вместе со сконцентрированными примесями переносился в аналитическую колонку термодесорбцией при 250°C в течение 5 мин., после чего начиналось программирование температуры термостата колонки. Такое устройство прибора позволило проводить хромадистиляционное концентрирование из объема раствора анализируемой смеси до 40 мкл с on-line хроматографическим анализом состава переносимого в колонку концентрата.

Проводили концентрирование примесей в модельных смесях *n*-алканов C5-C15 из 40 мкл их раствора в гексане с концентрацией 10⁻⁶ г/мкл, разбавленных в 40 раз гексаном и пентаном. В случае раствора в гексане ступень примесей, отделяемых переключением потока, формировалась примесью гептана и изо-гептанов, присутствующих в гексане; в случае пентанового раствора сигналом для переключения было появление ступени гексана (который присутствовал в пентане в концентрации около 2,5%, т.к. раствор в пентане был получен разбавлением в 40 раз изначального раствора в гексане). Степени извлечения, определенные из сравнения с анализом 1 мкл исходного раствора, приведены в таблице.

Таблица. Степени извлечения для *n*-углеводородов при концентрировании *n*-алканов растворов в пентане и гексане методом хромадистиляции (*n*=5).

Вещество	Раствор в гексане		Раствор в пентане	
	Степень извлечения	S _r , %	Степень извлечения	S _r , %
октан	0,77	4,1	0,86	5,6
нонан	0,92	3,0	0,91	5,2
декан	0,94	3,1	0,93	6,3
ундекан	0,95	1,3	0,94	3,1
додекан	0,89	4,8	0,87	2,9
тридекан	0,88	2,6	0,83	5,4
тетрадекан	0,84	2,7	0,85	4,4
пентадекан	0,86	6,9	0,82	5,0
гексадекан	0,81	6,3	0,84	7,1

Степень извлечения октана из пентановых растворов выше, поскольку у пентана при комнатной температуре выше давление собственных паров, чем у гексана, что приводит к лучшему отделению примесей. Степень извлечения гептана оценить не представлялось возможным ввиду его высокого исходного содержания в гексане и пентане.

Таким образом, впервые показана возможность и предложен способ сочетания внешнего ХД концентрирования аналитов широкого диапазона летучести из органических растворов с последующим КГХ определением при контролируемых условиях и предложен теоретически обоснованный и практически подтвержденный сигнал для начала переноса фракции примесей в газовый хроматограф, основанный на внесении дополнительного чистого макрокомпонента (1 – 5%), близкого по летучести к растворителю, в концентрируемый раствор, обеспечивая при этом концентрирование примесей ниже по относительной летучести, чем дополнительный макрокомпонент.

Дальнейшая экспериментальная проверка показала, что предложенный способ в данном аппаратном оформлении, несмотря на внешнюю простоту пока больше пригоден для изучения процесса концентрирования, чем для реального аналитического применения в следовом анализе на типовых ГХ и ГХ-МС системах ввиду необходимости использования достаточно толстой пленки неподвижной фазы в ГХ

колонке (от 0,5 мкм) для отделения близких по летучести компонентов от остатков растворителя, и ввиду трудности сочетания с цифровыми контроллерами потока современных ГХ-МС систем со стандартным испарителем при вводе с делением/без деления потока. Необходимо использование удаления растворителя вне ГХ системы или использование испарителя с программированием температуры (PTV) в сочетании с дополнительным сигнальным детектором на линии деления потока. Но самым главным препятствием сочетания внешнего ХД концентрирования с КГХ является необходимость перефокусирования при переносе концентрата, роль которого потенциально может выполнить хромадистилляция в капиллярной предколонке за счет реконденсации оставшейся части основного компонента (растворителя).

Изотермическая хромадистилляция предполагает равномерную концентрацию примесных компонентов по слою жидкой фазы основного компонента, внесенного в ХД колонку, при этом в процессе хромадистилляционного упаривания передняя граница слоя жидкой фазы остается неподвижной. При термической хромадистилляции происходит испарение с заднего фронта и конденсация на переднем. В случае короткого градиента температуры вдоль колонки или краткого времени его существования возникает промежуточная ситуация – возможно образование слоя (пленки) жидкой фазы с равномерным нарастанием/убыванием примесных компонентов от начальной границы слоя основного компонента в ХД колонке к конечной границе, затем уже происходит испарение образованного слоя в условиях хромадистилляции.

Выдвинув гипотезу о возможности создания концентрационного профиля конденсации для примесных компонентов с помощью отрицательного программирования температуры термостата колонок за время прохождения паров по ХД предколонке, разработали установку и схему эксперимента для экспериментальной проверки. Сравнивали различные способы ввода пробы с делением и без деления потока. Пример хроматограммы, полученной при отрицательном программировании по времени, представлен на рис. 6. Результаты показывают возможность применения такого варианта хромадистилляции для улучшения формы пиков при КХД-КГХ анализе, особенно если не существует возможности создания температурного градиента между испарителем и предколонкой. Ранее подобный вариант осуществления хромадистилляции не описывался.

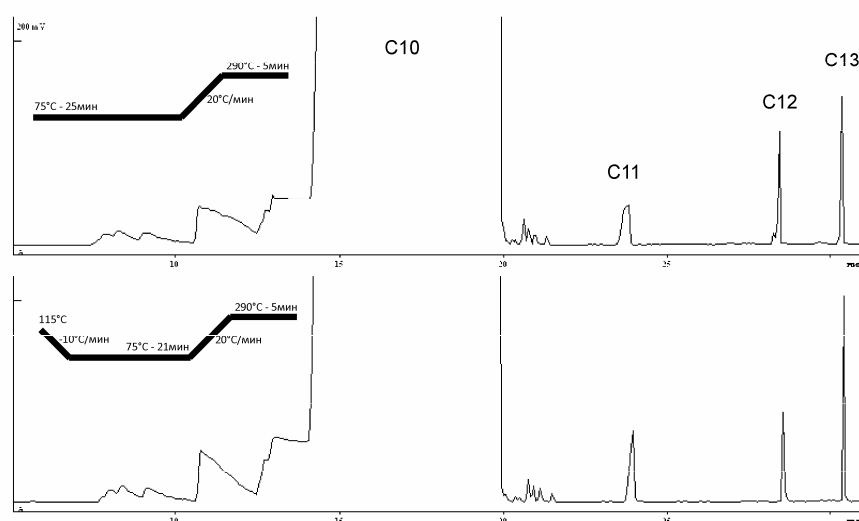


Рис. 6. Сравнение КХД-КГХ-ПИД анализа модельного раствора *n*-алканов в декане с применением отрицательного температурного программирования за время КХД концентрирования (нижняя Хроматограмма) и без (верхняя Хроматограмма). ХД предколонка: 50м × 0.32мм. ГХ колонка: DB-1MS 30м × 0.32мм × 0.25мкм. Ввод пробы в испаритель хроматографа (T=290°C) без деления потока.

В четвертой главе приведены результаты изучения влияния хромадистилляционного эффекта, вызванного основным компонентом вводимой пробы, на результаты газохроматографического анализа.

Уточняя определение хромадистилляции как процесса разделения веществ в результате многократных актов перераспределения разделяемых компонентов между насыщенным паром и протяженным пленкой конденсированной жидкости при испарении этой жидкости в колонке потоком газа-носителя, можно выдвинуть основное условие появления ХД эффектов в ГХ системе - появление достаточно протяженного по длине слоя (пленки) жидкой фазы основного компонента вводимой пробы. Однако, в практике ГХ анализа экспериментально зафиксировать сам факт появления жидкой пленки (слоя) чаще всего не представляется возможным, исследователи либо предполагают из расчетов наличие условий для заведомой конденсации основного компонента и проявления «эффекта растворителя», либо фиксируют экспериментально искажение формы пиков и указывают на отрицательное влияние «эффекта растворителя». Однако появление «эффекта растворителя» в общем случае не означает именно хромадистилляционной природы протекающих процессов, особенно в случае определяемых соединений значительно ниже по летучести, чем основной компонент вводимой пробы.

Исходя из теории ХД и проведенных нами исследований наличие хромадистилляционного эффекта может быть доказано, если будет установлено, что время удерживания компонентов и/или форма их пиков, изменится при изменении условий, влияющих на ХД разделение и не влияющих на ГХ разделение. При этом необходимо учесть, что на изменение времени удерживания помимо ХД влияет также температурное программирование, поэтому основным критерием является изменение времени удерживания компонентов, выходящих в изотермических условиях. Нами введены два основных критерия экспериментального доказательства наличия ХД эффекта в КГХ системе: (1) сравнение времени удерживания аналитов со временем удерживания при вводе пробы в растворителе, для которого заведомо невозможно образование жидкой фазы в условиях анализа и (2) изменение времен удерживания при варьировании величины вводимой пробы (количества основного компонента).

Для контролируемого применения ХД эффектов в КГХ необходимо разделить ХД и ГХ разделение в пространстве. Мы использовали для этого пустую капиллярную предколонку (где происходило предварительное ХД разделение вводимой пробы) между испарителем хроматографа и капиллярной колонкой с неподвижной фазой. Для изучения ХД эффектов и возможности увеличения аналитических возможностей сочетания КХД и КГХ при относительно низких температурах использована изготовленная нами дополнительная установка охлаждения термостата хроматографа хроматомасс-спектрометра, позволяющая поддерживать начальную температуру от 1°С вместо обычно достижимых 25-30°С. Использовали два варианта ГХ-ПИД и два варианта ГХ-МС.

Теория хромадистилляции, имеющиеся в литературе факты и результаты проведенных нами предварительных исследований позволили выделить следующие факторы, которые могут влияют на результирующий вид газохроматографического разделения в КГХ при проявлении ХД эффектов: (1) природа основного компонента (относительный порядок элюирования компонентов в КХД и КГХ, предварительный ввод «ограничителя»), (2) начальная температура термостата, (3) величина вводимой пробы основного компонента.

Для исследования влияния природы основного компонента вводимой пробы анализировали модельные растворы летучих органических соединений в различных растворителях с помощью КХД-КГХ-МС. Предварительно оценивали сигналы собственных примесей, проявляемые на хроматограммах. Для каждого растворителя

доказывалось наличие ХД эффекта в выбранных условиях путем варьирования размера вводимой пробы и сравнения времен удерживания реперных компонентов.

Результирующее влияние складывается из двух процессов:

1. Относительный порядок элюирования в КХД и КГХ приводит к искажению формы сигналов относительно более летучих примесей чем основной компонент.

2. Время удерживания относительно менее летучих примесей, чем основной компонент смещается на время существования слоя жидкой фазы основного компонента в ХД предколонке.

Хроматограммы, наглядно иллюстрирующие влияние природы основного компонента вводимой пробы приведены на рис.7. Видно, что применение различных по природе растворителей влияет как на время удерживания определяемых компонентов вводимой смеси, так и на форму пиков, снижая в ряде случаев эффективность хроматографического разделения.

Из внесенных 54 летучих компонентов на хроматограмме, полученной при вводе 1 мкл раствора в МТБЭ, от полосы растворителя отделены 51 компонент в виде узких (шириной 3 – 5 секунд) пиков. Три компонента смеси (дихлорметан, 1,1-дихлорэтилен, транс-1,2-дихлорэтилен) более относительно летучи, чем основной компонент МТБЭ и выходят на хроматограмме размытыми полосами до падения заднего фронта полосы МТБЭ.

Проведенные эксперименты позволили сформулировать несколько следствий:

Следствие 1: Время удерживания компонентов вводимой пробы может зависеть от природы растворителя (основного компонента) при реализации условий хромадистилляции.

Следствие 2: Форма пиков компонентов вводимой пробы и пределы обнаружения в вводимой пробе могут значительно меняться с изменением природы растворителя (основного) при реализации или переходе к условиям хромадистилляции.

Следствие 3: Компоненты (в том числе и неизвестные), не мешающие определению искомым соединений в самом КГХ разделении, могут мешать определению (обнаружению) искомым соединений в случае искажения формы их пиков при вводе пробы в «неподходящем» растворителе. Особенное значение это следствие принимает в случае неселективного детектирования.

Следствие 4: Применение ввода пробы с небольшим делением потока (от 1:3 до 1:10) может в ряде случаев обеспечивать более низкие пределы обнаружения, чем в случае ввода пробы без деления потока. Поэтому при поиске (обнаружении) неизвестных компонентов вводимого раствора стоит выполнять анализ с вводом пробы как без деления потока, так и с делением потока.

Следствие 5: Проверку идентификации обнаруженных неизвестных компонентов на хроматограмме (при проявлении ХД эффектов за счет основного компонента вводимой пробы) наиболее правильно вести методом добавок.

Влияние температуры и объема вводимой пробы с точки зрения хромадистилляционных процессов - это создание условий для существования жидкой фазы основного компонента в КГХ системе.

Влияние температуры на само ХД разделение/концентрирование определяются функциональной зависимостью относительная летучести от температуры, однако в большей степени на результирующий вид КХД-КГХ разделения влияет зависимость удерживающей способности неподвижной фазы КГХ разделительной колонки от температуры. Чем она ниже, тем лучше отделяются пики относительно менее летучих примесей от заднего фронта полосы основного компонента и более проявляется перефокусировка размытых полос неподвижной фазой после предколонки.

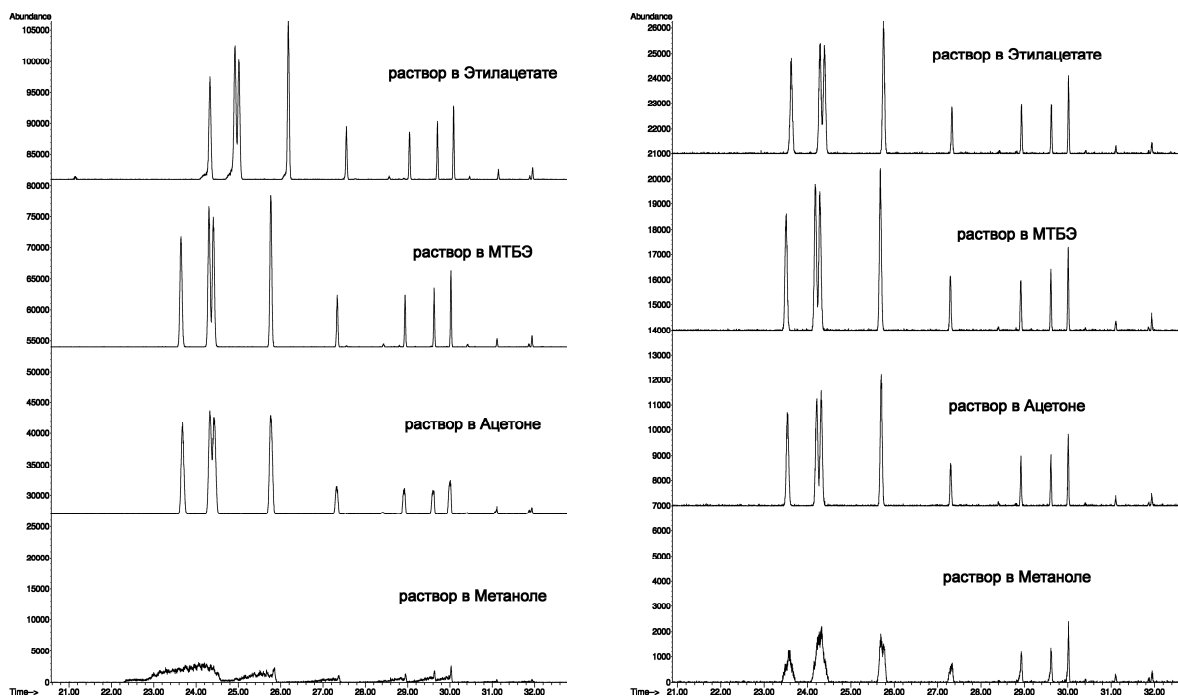


Рис. 7. Фрагмент масс-хроматограмм по m/z 106, полученных при вводе 1 мкл раствора 54 летучих соединений в 4х различных растворителях без деления потока (слева) и с делением потока 5:1 (справа). Концентрация каждого компонента – 4×10^{-9} г/мкл. КХД предколонка: 2,5 м×0,25 мм. КГХ колонка: VF-5MS 30 м×0,22 мм×0,25 мкм. $T_{\text{терм}}$: 10°C(12мин)→3°C/мин→50°C(0мин)→10°C/мин→240°C(1мин). Хроматограммы приведены в одинаковом увеличении со сдвигом по оси интенсивности для наглядности отображения.

Разница температур испарителя и термостата колонок также влияет на вероятный профиль конденсации. Этот вопрос требует отдельного изучения. В общем случае необходимо исследовать особенности конкретного типа (модели) газового хроматографа/испарителя с помощью подхода, предложенного в нашей работе ранее (реализация метода КГХ-МС/ПВД). Однако, выдвигая гипотезу о наличии профиля конденсации (обеспечивающего слой жидкой фазы вдоль предколонки с градиентным распределением концентрации близких по летучести примесных компонентов по его длине), ее можно подтвердить созданием условий, при которых этот профиль будет механически разрушен перемешиванием, увеличивая объем вводимой пробы. Можно предположить, что на возникновение профиля конденсации могут влиять конструкционные особенности конкретного испарителя и разница температур испарителя и термостата колонок. Влияние этих двух параметров подтвердили экспериментально (рис. 8).

В реальной КХД-КГХ-МС системе выделить отдельный вклад различных механизмов протекающих процессов чаще всего не представляется возможным, мы можем судить о некотором влиянии параметров эксперимента только по итоговому виду разделения.

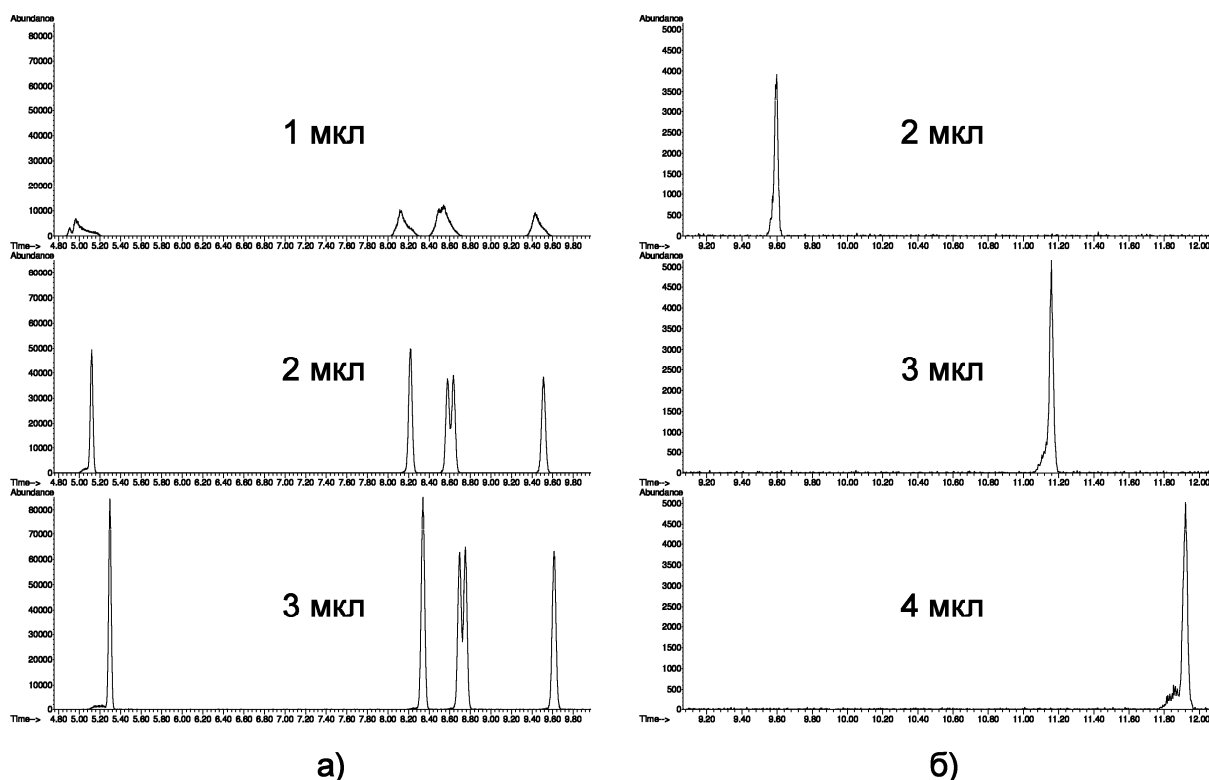


Рис.8. Влияние объема вводимой пробы на появления ХД эффекта (слева) и на нарушение профиля конденсации (справа).

Отдельным моментом влияния температуры на вид итогового КХД-КГХ разделения является ограничение по интенсивности (высоте) сигнала основного компонента вводимой пробы на хроматограмме.

Это приводит к двум важным следствиям:

Следствие 1. В случае использования масс-спектрометра в качестве детектора появляется возможность регистрировать всю хроматограмму без выключения катода, так как концентрация вещества в источнике ионов не превышает типичных концентраций (давлений) газов-реагентов при применении химической ионизации

Следствие 2. Выход основного компонента в виде ступени, которая ограничена по высоте, а не пика закладывает основы для использования площади сигнала основного компонента для относительного расчета содержания примесных компонентов на следовом уровне ввиду различия отношения высот сигналов от отношения площадей сигналов, что позволяет использовать более узкий диапазон линейности детектора.

Для обоснованного применения ХД эффектов в КГХ и для исключения непредсказуемость результатов, необходимо разделить в пространстве ХД и ГХ разделение таким образом, чтобы на разделительную колонку попадали только пары. Подобный вывод был получен многими исследователями ранее («solvent effect», «retention gap», «recondensation») путем многочисленных и трудоемких эмпирических экспериментов, а применение теории хроматодистилляции для объяснения этих эффектов дает возможность быстрее подбирать оптимальные условия и обладает предсказательной силой.

Основные следствия проявления хроматодистилляционных эффектов в КГХ системе:

1. искажение формы пиков определяемых соединений
2. концентрирование аналитов относительно основного компонента
3. изменение времени удерживания пиков определяемых соединений
4. ограничение сигнала основного компонента по высоте отклика.

Таким образом, при разработке методик количественного и качественного анализа методами КГХ и КГХ-МС необходимо учитывать возможность проявления хромадистилляционных эффектов, обусловленных образованием жидкой фазы основным компонентом вводимой пробы. Это позволяет в ряде случаев сократить объем (время) оптимизационного эксперимента при разработке методик обнаружения и определения летучих и среднелетучих аналитов в различных матрицах, сохранить эффективность хроматографического разделения при увеличении объема вводимой пробы, а в ряде случаев и открыть новые возможности хроматографического анализа и предложить новые схемы анализа с применением КГХ и КГХ-МС.

Среди изученных растворителей для ввода пробы следовых количеств летучих и среднелетучих органических соединений без деления потока в условиях КХД на пустой предколонке наиболее перспективным растворителем для одновременного определения летучих и среднелетучих аналитов по совокупности факторов (как показало проведенное нами исследование) является МТБЭ. Для ряда случаев удовлетворительным является этилацетат. Малопригодны следующие растворители: пентан, гексан, метанол, ацетон, ацетонитрил.

Показано, что ввод пробы 1-3 мкл раствора в МТБЭ в ГХ-МС в условиях хромадистилляционного предразделения на предколонке при температуре термостата 1-10°C с последующим программированием температуры позволяет регистрировать компоненты в диапазоне индексов удерживания 600-4000 с пределами обнаружения от 10^{-12} до 10^{-11} г во вводимой пробе за один анализ.

Предложено ввести понятие капиллярного хромадистилляционно-газохроматографического разделения и ввести понятие соответствующей КХД-КГХ чистоты растворителей. Как следствие, для дальнейшего развития хромадистилляционно-газохроматографического метода анализа необходимы:

- Возрождение и развитие хромадистилляционных способов очистки растворителей для газовой хроматографии.
- Накопление и публикация баз данных не только индексов удерживания определяемых веществ на колонках с различной неподвижной фазой, но и ХД-ГХ поведения относительно растворителя, в котором вводится проба. Это позволит избежать повторных исследований одних и тех же объектов/систем и сократить временные издержки для многих исследователей-аналитиков.

Проведенные исследования, обобщение теории хромадистилляционных и газохроматографических процессов и сформулированные следствия позволили предложить методологию использования хромадистилляционных эффектов в капиллярной ГХ при вводе жидкой пробы раствора в летучем органическом растворителе в испаритель хроматографа с целью реализации максимальной чувствительности и минимальных пределов обнаружения при определении максимально широкого круга заданных соединений (узкие разделенные пики аналитов при максимальном объеме вводимой пробы). Данную методологию можно изобразить в виде упрощенной алгоритмической схемы (рис. 9)

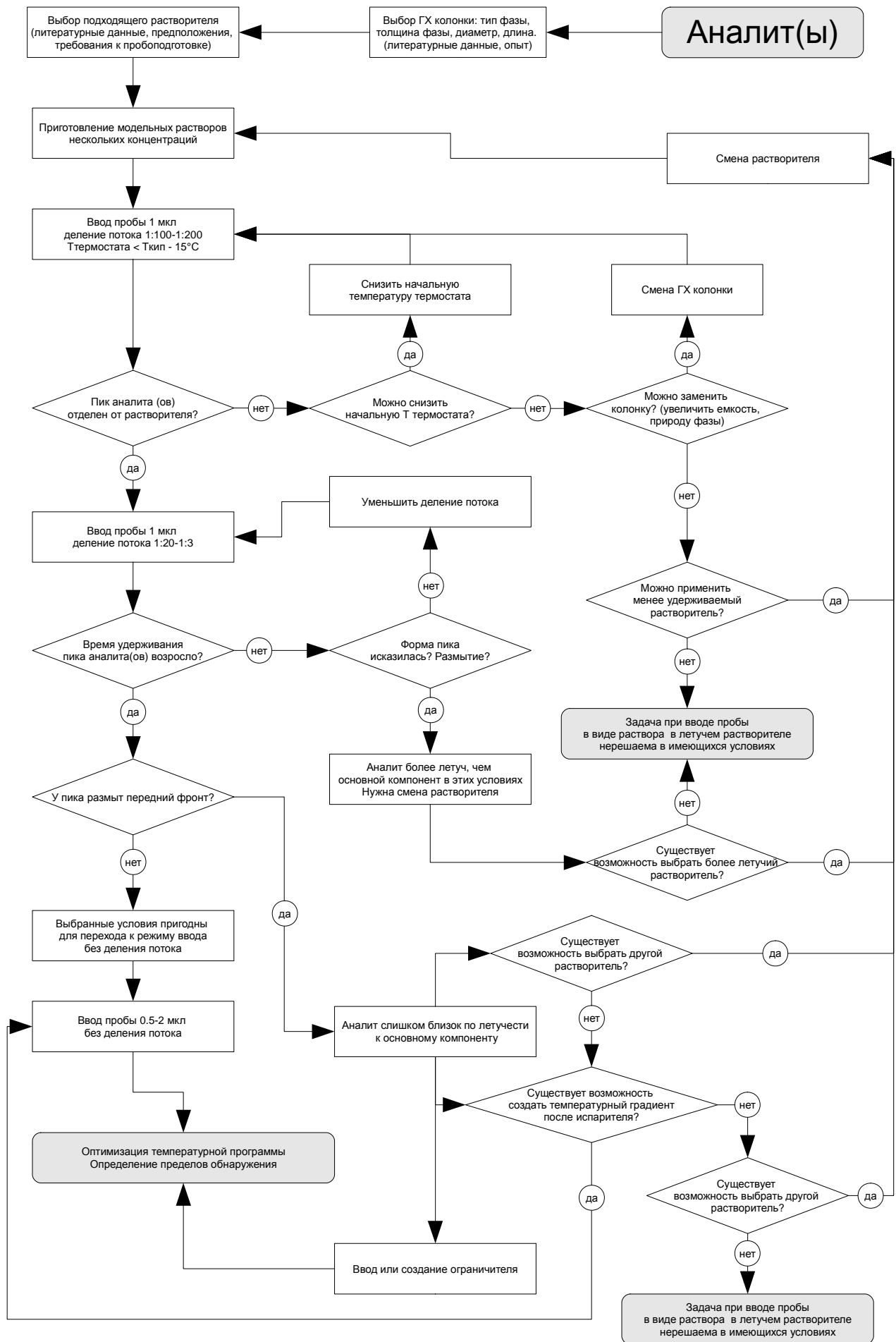


Рис. 9. Схема методологии применения ХД эффектов при вводе жидкой пробы в КГХ.

В пятой главе описаны способы анализа, основанные на применении хроматодистилляции в сочетании с КГХ и КГХ/МС

Результаты проведенных исследований позволили предложить семь новых схем (способов) анализа, основанных на применении хроматодистилляции в сочетании с КГХ-ПВД или КГХ-МС (в том числе соответствующее аппаратное обеспечение).

Способ 1. Способ анализа органических растворов (экстрактов), основанный на вводе жидкой пробы 1–3 мкл в испаритель хроматографа без деления потока, хроматодистилляционном предразделении на капиллярной предколонке с последующим ГХ-МС определением, позволяющий регистрировать широкий круг аналитов с индексами удерживания 600-4000 с низкими пределами обнаружения в одном анализе.

Оптимальные условия предложенного способа анализа, полученные варьированием параметров согласно полученному в работе представлению о протекающих процессах: растворитель пробы - МТБЭ, начальная температура термостата колонок от 1 до 15°C, объем вводимой пробы 1-5 мкл, ввод без деления потока, предколонка 2,5м × 0,25мм, ГХ колонки с 10 – 30 м × 0,1 – 0,32 мм × 0,1 – 0,25мкм (DB-1ms, DB-5MS). Способ позволяет получить узкие начальные зоны летучих аналитов, реализуя максимальную эффективность КГХ колонки для всех регистрируемых аналитов на хроматограмме и обеспечивать пределы обнаружения 10^{-12} - 10^{-11} г в вводимой пробе для большинства регистрируемых летучих и среднелетучих компонентов (примесей). Данный подход превосходит известные подходы по широте круга определяемых летучих и среднелетучих соединений с низкими пределами обнаружения в одном анализе. Впервые показана возможность применения ввода жидкой пробы 1 мкл без деления потока в ультратонкие КГХ колонки с ультратонкой фазой с реализацией возможности высокочувствительного определения летучих и среднелетучих соединений с индексами удерживания Ковача от 650 (Рис.10) в органическом растворе.

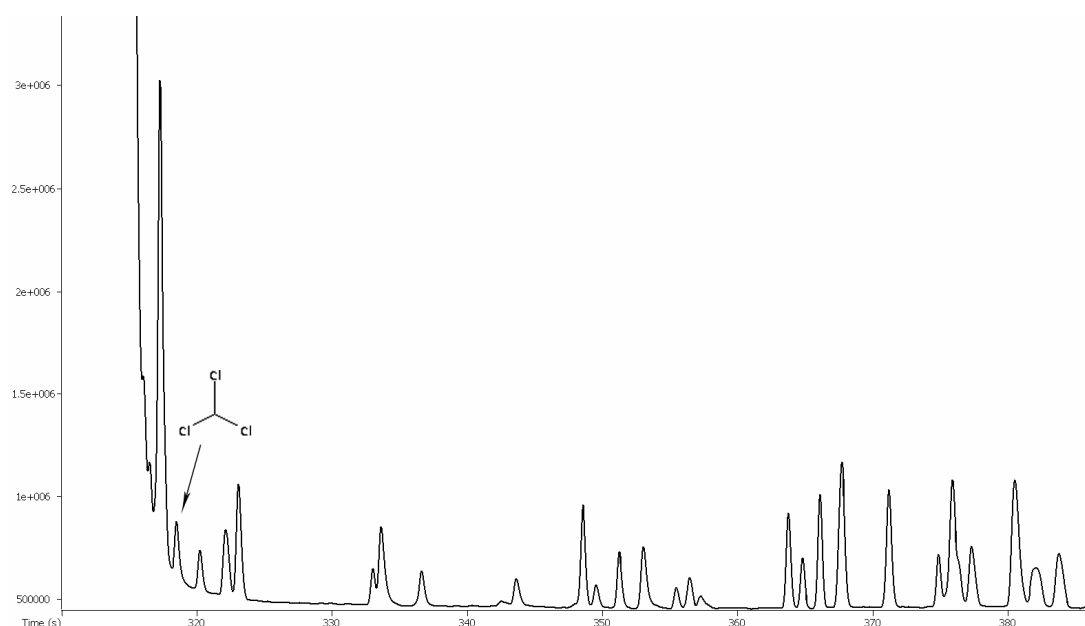


Рис. 10. Фрагмент хроматограммы по реконструированному общему ионному току, полученной при анализе 1 мкл модельного раствора 54 летучих органических соединений в МТБЭ с концентрацией 1×10^{-9} г/мкл при вводе без деления потока. ХД предколонка 2,5м × 0,25мм, КГХ колонка Rxi-5Sil MS 10м × 0.1мм × 0.1мкм. Температурная программа: 5°C (5мин) → 100°C/мин → 100°C → 50°C/мин → 250°C (4мин).

Способ 2. Способ обнаружения летучих и среднелетучих примесей в органических растворах (экстрактах) в летучих растворителях на уровне 10^{-9} - 10^{-8} %, основанный на концентрировании примесей из раствора в основном компоненте с помощью ХД во внешнем устройстве при удалении основного компонента и КГХ анализе концентрата.

При осуществлении этого способа жидкая проба (10 – 100мкл) наносится на картридж с инертным носителем, основной компонент удаляется потоком газ-носителя в хромадистилляционных условиях при одновременном контроле состава элюата с помощью ПИД. В момент окончания ступени основного компонента концентрат переносится в испаритель хроматографа термодесорбцией, аналиты фокусируются благодаря вторичному ХД концентрированию на предколонке с последующим ГХ-МС анализом. Предложено два варианта аппаратного оформления способа (рис. 5 и 11). Экспериментальные условия оптимизировали для модельных растворов в гексане и МТБЭ. Показана возможность применения добавки этилацетата как дополнительного ограничителя в концентрируемый раствор в МТБЭ для формирования сигнала момента переключения потоков. Показана возможность снижения пределов обнаружения летучих и среднелетучих примесей.

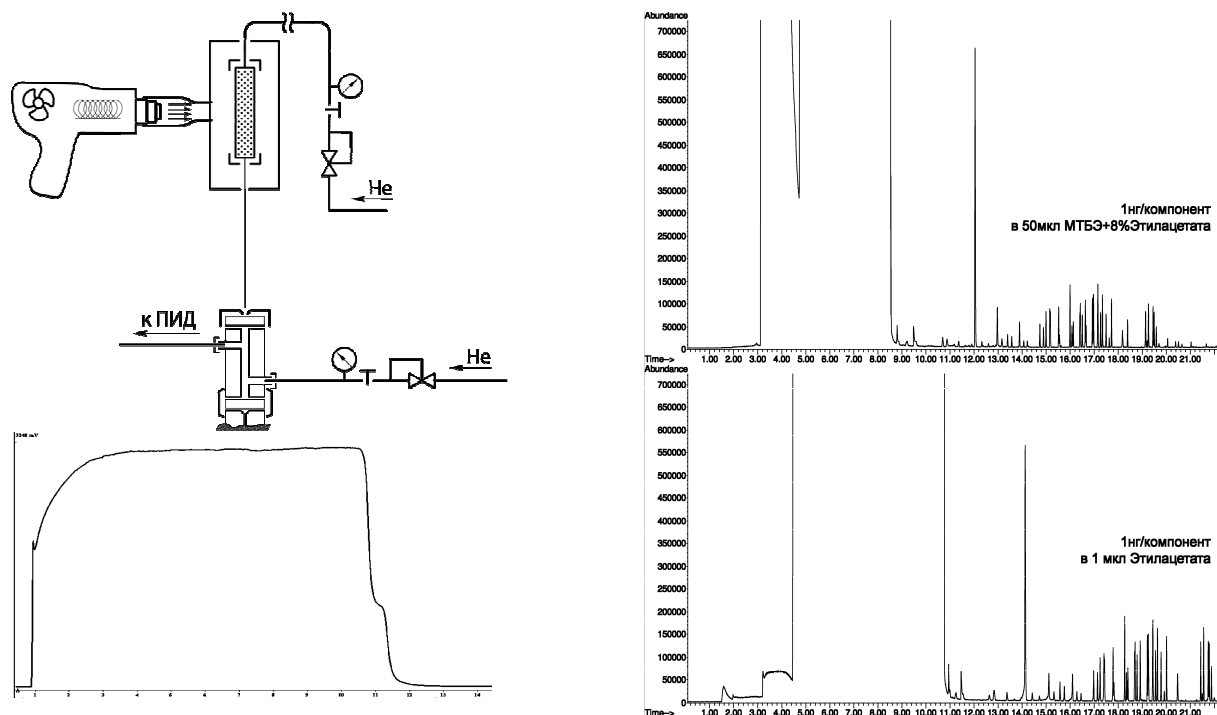


Рис. 11. Схематичное изображение присоединяемого к испарителю хроматографа устройства для внешнего контролируемого удаления основного компонента в процессе ХД во внешнем устройстве и переноса концентрата в испаритель хроматографа термодесорбцией (слева) и сравнение хроматограмм, полученных при применении внешнего НХД концентрирования из 50 мкл раствора (верхняя) и непосредственном вводе 1 мкл раствора в испаритель и КХД-КГХ-МС анализе (справа).

Способ 3. Способ количественной оценки содержания следовых примесей методом внутренней нормализации относительно основного компонента при вводе пробы в ХД условиях для основного компонента вводимой пробы с последующим ГХ-ПИД определением.

Применение отрицательного температурного программирования во время ХД концентрирования на предколонке и последующее КГХ разделение с универсальным пламенно-ионизационным детектированием позволили в оптимальных условиях получить результирующие хроматограммы, на которой основной компонент вводимой пробы представлен в виде искаженной ступени, ограниченной по высоте, а примеси, менее летучие, чем основной компонент разделены в виде узких пиков. Причем высоты сигналов основного компонента и примесей различаются в примерно 1000 раз меньше, чем различаются площади соответствующих сигналов (рис. 12). Это позволило предложить способ оценки содержания примесей методом внутренней нормализации для оценки малых содержаний примесей. Правильность подхода проверили на примере анализа *n*-декана и внесенных в него примесей нормальных углеводородов C5-C16.

Погрешность оценки содержания внесенных примесей составила не более 15% при $S_r < 3\%$ для примесей, менее летучих чем *n*-декан. Минимальное содержание примеси основного компонента, которую удалось обнаружить в образце чистого *n*-декана, составило $3 \times 10^{-4}\%$ при использовании предложенного подхода на имеющемся оборудовании. Предложенный подход имеет явные перспективы при анализе реальных образцов, особенно при использовании одновременного детектирования ПИД/МС или АЭД/МС.

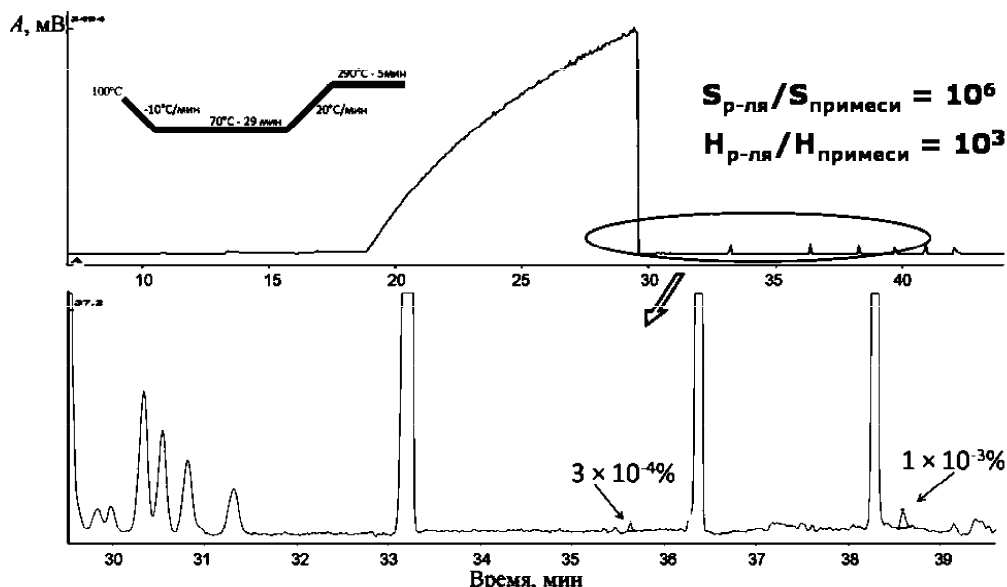


Рис. 12. Хроматограмма, полученная с помощью КХД-КГХ-ПИД анализа модельного раствора *n*-алканов в *n*-декане.

Способ 4. Способ обнаружения летучих и среднелетучих примесей в газообразной пробе, основанный на вводе до 500 мкл паровой фазы без деления потока в испаритель хроматографа в условиях ограничительной КХД с последующим ГХ-МС анализом.

Способ позволяет снизить пределы обнаружения для широкого круга аналитов за счет увеличения объема вводимой пробы и сочетания со сверхтонкими высокоэффективными КГХ колонками. Способ пригоден для анализа газообразных проб, содержащих значительные количества паров (вплоть до насыщенных) летучих и среднелетучих жидкостей, пример подобного применения приведен на рис.13.

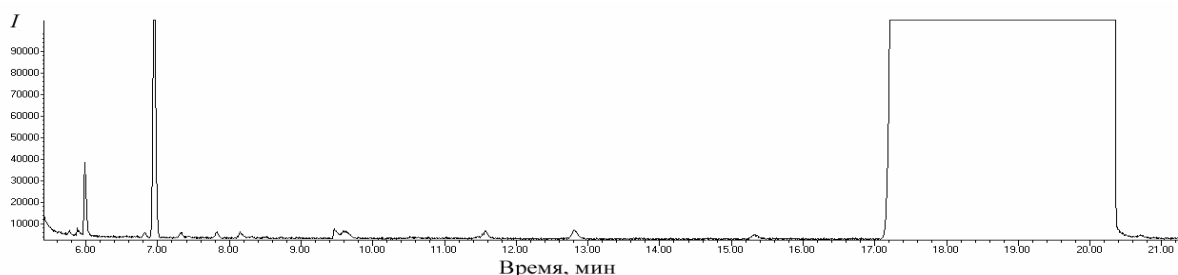


Рис. 13. Хроматограмма 500 мкл равновесной паровой фазы над чистым толуолом при 50°C с предварительным вводом 1 мкл МТБЭ; условия анализа: начальная температура термостата 10°C, 25 мин, нагрев со скоростью 10°C/мин до 130°C, нагрев со скоростью 30°C/мин до 280°C, конечная температура термостата — 280°C, 5 мин, ввод пробы без деления потока. КХД предколонка: 2,5м×0,25мм. КГХ колонка: VF-5MS 30м×0,22мм×0,25мкм

Способ 5. Способ анализа летучих и среднелетучих чистых жидких веществ, позволяющий проводить одновременное обнаружение в них летучих и среднелетучих примесей как более летучих, так и менее летучих, чем основной компонент.

Способ основан на применении ограничительной КХД в сочетании с КГХ-МС. Он позволяет вводить и анализировать большие (0,2 – 1 мкл) пробы и снижать предел

обнаружения летучих и среднелетучих примесей на несколько порядков. Впервые показана возможность одновременного обнаружения более и менее летучих чем основной компонент примесей на столь низком (до 10^{-6} - 10^{-4} %) уровне содержаний (рис. 14). Подход позволяет увеличить число регистрируемых примесей в сверхчистых летучих и среднелетучих органических веществах.

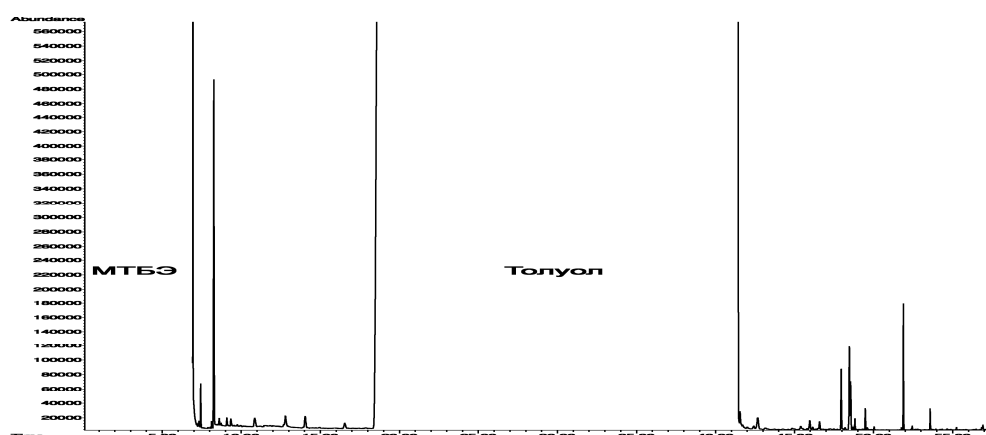


Рис. 14. Хроматограмма 1 мкл толуола с предварительным вводом 5 мкл МТБЭ; условия анализа: начальная температура термостата 10°C, 44 мин, нагрев со скоростью 10°C/мин до 130°C, нагрев со скоростью 30°C/мин до 280°C, конечная температура термостата 280°C, 5 мин, ввод пробы без деления потока.

Способ 6. Способ обнаружения менее летучих, чем основной компонент примесей в чистых жидких органических веществах.

Способ основан на вводе 1 – 5 мкл жидкой пробы в условиях насадочной ХД в лайнере испарителя хроматографа с последующим КХД разделением на пустой предколонке с последующим КГХ-МС анализом. Способ позволяет снизить пределы обнаружения по сравнению с существующими подходами и увеличить число регистрируемых примесей. Показана возможность ввода 5 мкл на примере *n*-декана в КГХ-МС при сохранении эффективности отделения близких по удерживанию примесей и возможности их регистрации.

Способ 7. Способ обнаружения летучих и среднелетучих примесей в твердых матрицах сложного состава.

Метод динамической газовой экстракции обычно предполагает использование сорбентов для улавливания извлеченных из твердой матрицы соединений. Использование поглощения в растворитель может иметь перспективы в случае необходимости повторного или дополнительного анализа, сохранении образца длительное время.

Однако в процессе улавливания в растворитель происходит его упаривание, концентрирование его примесей и примесей из газа носителя.

Предложенный способ основан на извлечении аналитов из твердой матрицы с помощью динамической газовой экстракции парами органического растворителя, конденсации газообразного экстрагента и анализе концентрата (органического раствора) описанными выше способами. Показана принципиальная возможность применения данного способа для обнаружения летучих и среднелетучих примесей в модельных системах и реальных образцах (рис. 15).

Способ требует дальнейшего изучения в области определения степени извлечения и подборе экспериментальных параметров. Однако даже в таком варианте он может быть применен для быстрого поиска примесей в сложных матрицах с использованием широко распространенного оборудования и материалов. Необходимо отметить, что конденсат получается чище по многим собственным примесям, чем исходный МТБЭ за счет очистки дистилляцией.

В шестой главе приведены результаты обнаружение летучих и среднелетучих примесей в реальных объектах способами, основанными на применении хромадистилляции в сочетании с КГХ/МС.

С помощью разработанных подходов было проведено обнаружение примесей в нескольких объектах. Условия оптимизировали по числу обнаруживаемых примесей.

При обнаружение летучих и среднелетучих примесей в образцах чистых веществ для хроматографии (бензол, толуол, *n*-ксилол, этилбензол, *n*-нонан, декан, гексадекан) и в образце фармвещества этиловый эфир бромизовалериановой кислоты использовали подход, основанный на вводе пробы с делением потока (до 1:200), как общепринятый в литературе и сравнивали с результатом обнаружения примесей с помощью предложенных подходов с использованием изотермической и ограничительной КХД в сочетании с ГХ-МС анализом. Показано, что наибольшее число примесей удается обнаружить при совместном использовании подходов. Причем при применении разработанных подходов число обнаруженных примесей в чистых веществах значительно увеличивается.

Молотый кофе выбрали как модельный объект, содержащий по литературным данным широкий круг летучих и среднелетучих соединений, значительно различающихся по полярности и летучести. Фармпрепарат на основе азитромицина выбрали как сложный объект, основной компонент которого не пригоден для прямого анализа в условиях КГХ.

Использовали подход, основанный на вводе пробы равновесной паровой фазы с делением потока, как общепринятый в литературе. Результаты общепринятого подхода сравнивали с результатами, полученными с помощью способов 4 и 7. Пример обнаружения примесей в одном из образцов фармпрепарата на основе азитромицина приведен на рис. 15.

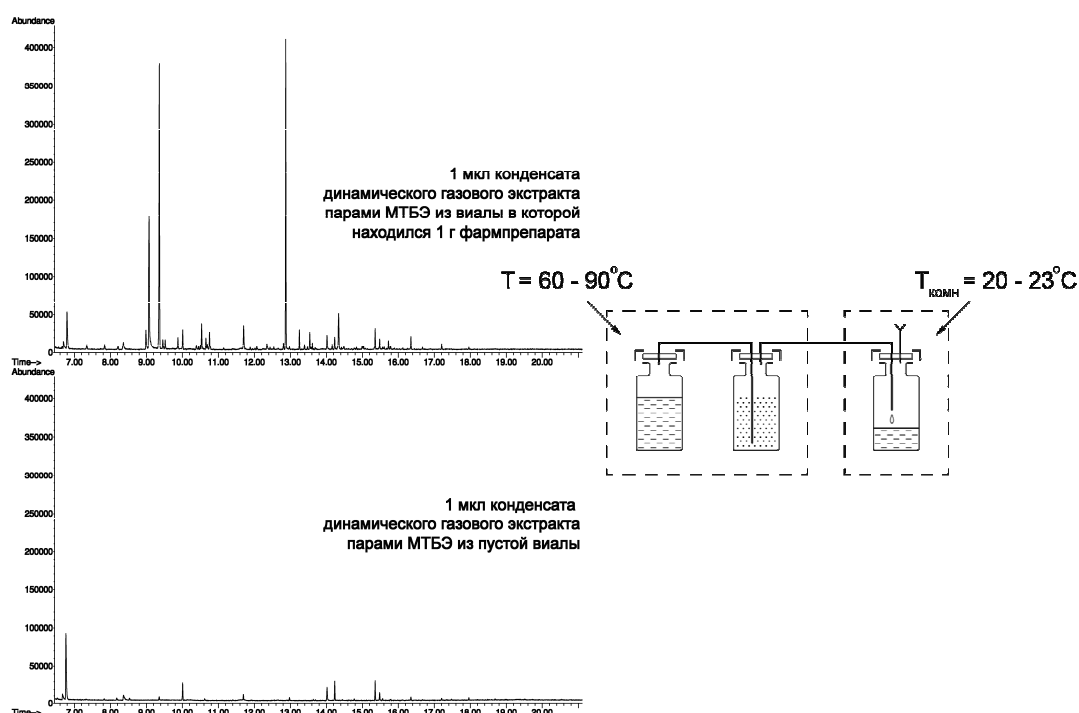


Рис. 15. Вид хроматограммы полученной при анализе конденсата динамической газовой экстракции параами МТБЭ из фармпрепарата на основе азитромицина. Температура газовой экстракции: 90°C .

Полученные в работе и существующие предпосылки (автоматизированный ввод В КГХ-МС 1 мкл МТБЭ в КХД условиях (при 5°C); возможность регистрация компонентов с индексами удерживания 600-3000, диапазон пределов идентификации ($S/N_{\text{ТГС}} > 10$) в диапазоне 5×10^{-10} - 5×10^{-9} г; ПДК в воздухе рабочей зоны для

большинства контролируемых летучих орг. соединений и части среднелетучих в диапазоне: 0,1-150 мг/м³) позволили предложить подход к оценке качественного состава летучих органических загрязнителей воздуха рабочей зоны на уровне ПДК. Подход заключается в отборе пробы воздуха (1 л) барботированием через 1 мл МТБЭ с термоизолированием сосуда отбора (рис. 16) с последующим КХД-КГХ-МС анализом концентрата, регистрацией компонентов в диапазоне индексов удерживания 600-3000 и оценочной идентификации по библиотеке масс-спектров NIST. Конечный объем концентрата в МТБЭ составил около 400 мкл при отборе 1 л воздуха за 20 мин через 1 мл МТБЭ.

На примере анализа воздуха ряда рабочих помещений химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова показана достаточно высокая воспроизводимость сигналов обнаруженных примесей ($S_r < 25\%$, три отбора пробы воздуха в одном помещении с последующим анализом).

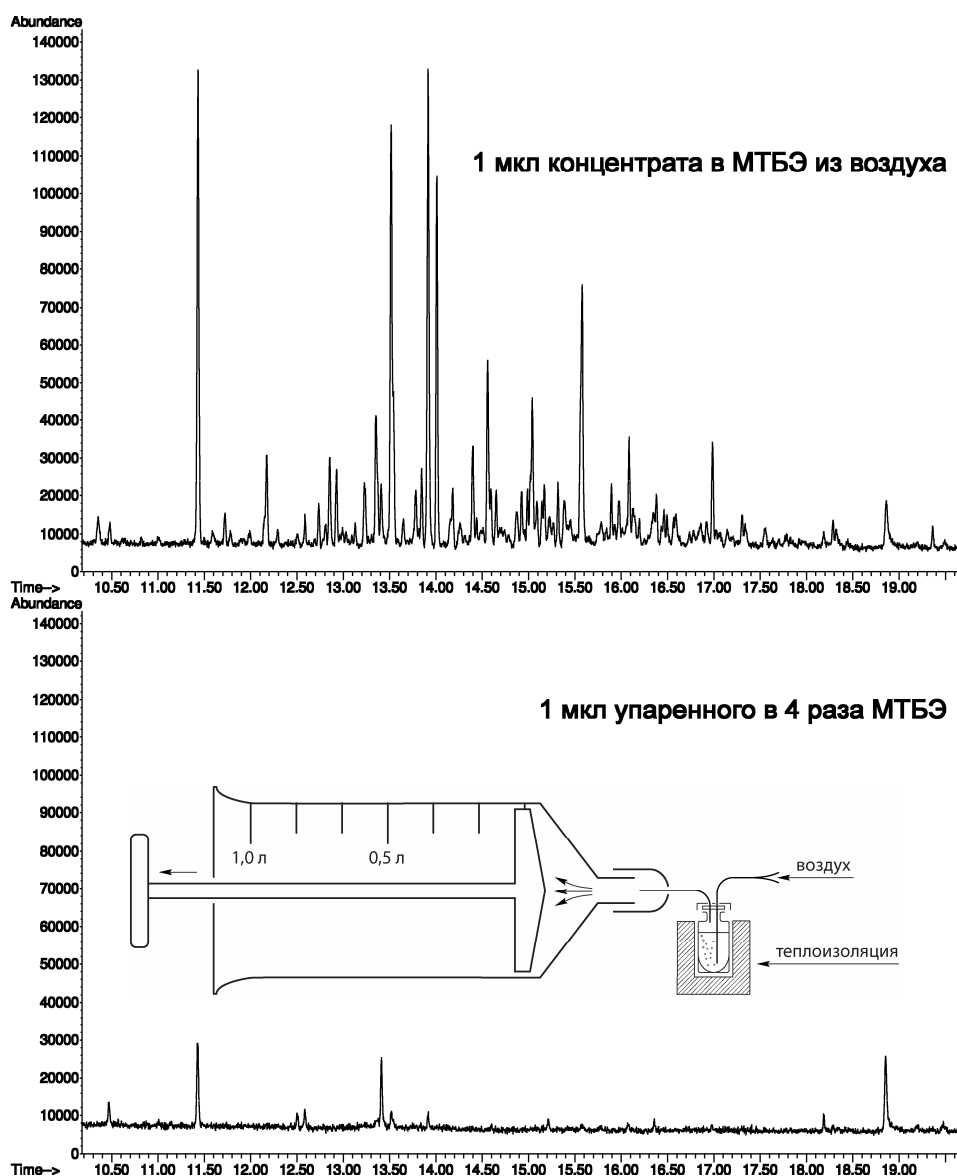


Рис. 16. Пример обнаружения летучих соединений в воздухе рабочего помещения и схематичное изображение процедуры отбора проб воздуха барботированием через МТБЭ. Пропускание 1 л воздуха через 1 мл МТБЭ, анализ 1 мкл концентрата с помощью КХД-КГХ-МС.

Выводы

1. В результате изучения выделения летучих и среднелетучих примесей из органических веществ различной летучести с использованием капиллярной и насадочной хроматидистилляции в сочетании с МС (ЭИ), КГХ и КГХ/МС (ЭИ) в зависимости от условий эксперимента показана возможность селективной регистрации и концентрирования примесей различной летучести в процессе хроматидистилляционного разделения.
2. Предложен способ анализа органических растворов, основанный на концентрировании примесей из больших по объему проб при нанесении пробы на инертный носитель, удалении большей части растворителя (основного компонента) в условиях хроматидистилляции, осуществляемый в коротком картридже с этим носителем, и КГХ/МС определении состава концентрата при вводе пробы в условиях капиллярной хроматидистилляции.
3. В результате изучения возможности использования ряда органических растворителей в качестве основного компонента смеси и ограничителя при вводе пробы в капиллярный газовый хроматограф в условиях хроматидистилляции для обнаружения летучих и среднелетучих соединений различной летучести и полярности показано, что по совокупности параметров наиболее подходящим растворителем (ограничителем) является метил-*трет*-бутиловый эфир. Развито направление ограничительной капиллярной хроматидистилляции при сочетании с ГХ/МС при использовании этого растворителя.
4. Предложен способ высокочувствительного обнаружения летучих примесей в твердых матрицах, основанный на их выделении парами метил-*трет*-бутилового эфира в процессе динамической газовой экстракции, конденсации экстракта и анализе концентрата методом ГХ/МС при вводе пробы в условиях хроматидистилляции.
5. На примере обнаружения примесей в ряде летучих чистых органических веществ при использовании КГХ/МС и стандартного ввода пробы с делением потока и при сочетании КХД и КГХ/МС показано, что в последнем случае возрастает число обнаруженных примесей, и что целесообразно установление состава примесей при совместном использовании обоих методов, так как результаты обнаружения примесей обоими методами взаимно дополняют друга друга.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. *Ревельский А.И., Глазков И.Н., Яшин Ю.С., Чепелянский Д.А., Самохин А.С., Бурмыкин Д.А., Ревельский И.А.* Новый подход к сопоставлению оригинальных фармпрепаратов и дженериков, основанный на сравнении многомерных профилей примесей с использованием СФЭ, ЖЭ и хромато-масс-спектрометрии // *Сверхкритические флюиды: Теория и практика.* 2011. Т.6. № 4. С.51–59.
2. *Гуляев И.В., Чепелянский Д.А., Ревельский А.И., Ревельский И.А.* Капиллярная хромадистилляция – масс-спектрометрия для концентрирования и определения примесей // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2012. Т.12. №1. С.66–73.
3. *Гуляев И.В., Чепелянский Д.А., Ревельский И.А., Ревельский А.И.* Капиллярная хромадистилляция в сочетании с масс-спектрометрией и определение примесей в органических растворах // *Масс-спектрометрия.* 2012. Т.9. № 2. С.117–120.
4. *Золотарёв П.П., Ревельский А.И., Чепелянский Д.А., Ревельский И.А.* К вопросу о размывании замыкающей границы зоны в хромадистилляции // *Сорбционные и хроматографические процессы.* 2013. Т. 13. № 2. С. 150–155.
5. *Чепелянский Д.А., Бескорвайная Д.А., Разважная О.В., Ревельский И.А.* Применение сочетания хромадистилляции и капиллярной газовой хроматографии для определения содержания примесей в чистых летучих органических веществах / *Материалы 2-ой Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез».* Краснодар, 2013. С.14.
6. *Бескорвайная Д.А., Чепелянский Д.А.* Хромадистилляция как метод для ввода проб органических растворов в газовый хроматограф / *Материалы Международного молодежного научного форума «ЛОМОНОСОВ-2013» [Электронный ресурс] — М.: МАКС Пресс, 2013. — 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).*
7. *Гуляев И.В., Чепелянский Д.А., Яшин Ю.С., Ревельский А.И., Ревельский И.А.* Новый подход к определению состава примесей в высокочистых органических веществах-стандартах для хроматографии. / *Тез. докл. III Всероссийской научно-технической конференции с международным участием «Стандартные образцы в измерениях и технологиях».* Екатеринбург, 2011. С.89.
8. *Гуляев И.В., Чепелянский Д.А., Ревельский А.И., Ревельский И.А.* Распределение примесей в процессе капиллярной хромадистилляции / *Тез. докл. VIII Всероссийской конференции по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика – 2011».* Архангельск, 2011. С.106.
9. *Revelsky I.A., Zhukhovitsky A.A., Chepelyansky D.A., Gulyaev I.V., Revelsky A.I.* New opportunities for reliable components number determination in pure organic compounds due to combine use of chromadistillation, GC and GC/MS. / *34th International Symposium on Capillary Chromatography and 7th GC×GC Symposium.* Riva del Garda, 2010. P.210.
10. *Жуховицкий А.А., Ревельский И.А., Чепелянский Д.А., Гуляев И.В., Ревельский А.И.* Обогащение примесей в высокочистых органических веществах методом капиллярной термической хромадистилляции / *Материалы Всероссийской конференции «Аналитическая хроматография и капиллярный электрофорез».* Краснодар, 2010. С.74.
11. *Жуховицкий А.А., Ревельский И.А., Чепелянский Д.А., Гуляев И.В., Ревельский А.И.* Определение примесей в высокочистых органических веществах – новый подход, основанный на сочетании капиллярной хромадистилляции и хроматографии / *Тез. докл. Всероссийской научно-практической конференции «Хроматография – народному хозяйству».* Дзержинск, 2010. С.95
12. *Жуховицкий А.А., Ревельский И.А., Чепелянский Д.А., Гуляев И.В., Ревельский А.И.* Увеличение достоверности обнаружения числа примесей в высокочистых органических веществах при сочетании газовой хроматографии и капиллярной хромадистилляции / *Тез. докл. Съезда аналитиков России и Школы молодых ученых «Аналитическая химия – новые методы и возможности».* Москва, 2010. С.110–111.